

REF 617007 NeuMoDx™ HPV Test Strip
R only

ETTEVAATUST. Ainult USA ekspordiks

IVD Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas koos seadmetega NeuMoDx 288 ja NeuMoDx 96 Molecular System

 Elektroniine versioon on saadaval aadressil www.qiagen.com/neumodx-ifu

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadme NeuMoDx 288 Molecular System käsiraamatut; tootekood 40600108

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadme NeuMoDx 96 Molecular System käsiraamatut; tootekood 40600317

SIHTOTSTARVE

Analüüs NeuMoDx HPV Assay, mida viiakse läbi seadmetega NeuMoDx 96 Molecular System ja NeuMoDx 288 Molecular System (NeuMoDx System(s)), on kiire, automatiseeritud *in vitro* diagnostiline, reaalaaja PCR-i põhine nukleiinhappe amplifikatsiooni analüüs inimese papillomaviiruse (Human Papillomavirus, HPV) kõrge riskiga tüüpide DNA kvalitatiivseks tuvastamiseks emakakaela proovidest. Test tuvastab spetsiifiliselt HPV16 ja HPV18, tuvastades samal ajal kliiniliselt olulistel infektsioonitasemetel ka teised kõrge riskiga tüübid (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 ja 68). Emakakaela proovid, mida saab analüüsida analüüsiga NeuMoDx HPV Assay, hõlmavad kliiniku kogutud emakakaela proove, kasutades vedelas tsütoloogialahuses PreservCyt® (HOLOGIC) ja SurePath™ (BD) säilitatavat harjatüüpi kogumisseadet. Analüüs on ette nähtud kasutamiseks esmase testina 21-aastastel ja vanematel naistel emakakaelavähi (-eelse seisundi) riski sõeluuringul, et määrata kindlaks vajadus suunata patsient kolposkoopiale või muule järelkontrolli protseduurile, ning järelkontrolli testina naistel, kelle Pap-testi tulemus on määratlemata tähendusega atüüpilised lameepiteelirakud (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) või madala riskiastme lamerakuline intraepiteliaalne lesioon (Low-Grade Squamous Intra-Epithelial Neoplasia, LSIL), et määrata kindlaks vajadus suunata patsient kolposkoopiale või muule järelkontrolli protseduurile. Seda teavet koos arstipoolse tsütoloogilise anamneesi hindamise, muude riskitegurite ja erialaste juhenditega saab kasutada patsiendi ravi juhtimisel.

Toode on mõeldud kasutamiseks erialaste kasutajate poolt nagu tehnikud ja laborandid, keda on koolitatud *in vitro* diagnostiliste protseduuride ja molekulaarbioloogiliste tehnikate teostamisel.

KOKKUVÕTE JA SELGITUSED

Emakakaelavähk ja selle esmaskahjustused (emakakaela intraepiteliaalne neoplaasia, Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN) on põhjustatud inimese papillomaviiruse (Human Papillomavirus, HPV) kõrge riskiga tüübi püsivast infektsioonist.¹⁻³ HPV kuulub perekonda Papillomaviridae ja see on väike kaheahelaline DNA-viirus. Tsirkulaarse genoomi suurus on ligikaudu 7,9 tuhat alust. Kindlaks on tehtud üle 100 HPV tüübi, millest kindlaid HPV tüüpe, mida nimetatakse kõrge riskiga HPV-ks (High-Risk HPV, hrHPV), nagu HPV 16 ja 18, seostatakse limaskestast kahjustuste induktsiooniga, mis võib progresseeruda maligne protsessini. Viiruse genoom sisaldab varaseid (Early, E) ja hiliseid (Late, L) geene, mis kodeerivad vastavalt HPV elutsükli varase ja hilise etapi valke. hrHPV tüüpide geeniproductidel E6 ja E7 on kantserogeensed omadused ja need on vajalikud peremeesraku maligne muutumiseks.⁴ Maligne protsessi teostatakse sageli viiruse integreerimisega peremeesraku genoomi.⁵ Integreerimine põhjustab viiruse genoomi katkemist piirkonnas, mis võib ulatuda E1-st kuni L1 avatud lugemisraamini.⁶ See võib mõjutada viirusliku DNA PCR-vahendatud amplifikatsiooni nendes piirkondades. Kuna lisaks muundunud fenotüübi tekkimisele sõltub ka selle säilitamine viiruslike onkogeeni pidevast ekspressioonist, jääb viiruse E6/E7 piirkond alati emakakaelavähi integreeritud viiruse genoomidesse.^{6,7,8}

Emakakaelavähk on HPV-nakkuse harva esinev tüsistus. hrHPV-nakkuse eluaegne risk on hinnanguliselt 80% ning suurem osa nakkustest kõrvaldatakse peremeesorganismi immuunsüsteemi poolt, mistõttu kahjustusi ei teki.⁹ Pärast HPV-nakkuse kõrvaldamist CIN-kahjustused tavaliselt taanduvad.¹⁰

HPV DNA suhtes testimine tagab parema kaitse emakakaelavähi ja selle esmaskahjustuse CIN eest võrreldes emakakaela proovide tsütomorfoloogilise analüüsiga (s.t Pap-test) 30-aastaste ja vanemate naiste esmasel sõeluuringul ja ASC-US või LSIL emakakaela tsütoloogiga (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) 21-aastaste ja vanemate naiste triaazhis.¹¹⁻¹⁵ Esmast HPV-põhist emakakaela sõeluuringut rakendatakse maailmas paljudes riikides ning avaldatud on emakakaelavähi esmase sõeluuringu HPV DNA testi nõuete rahvusvahelised juhised.¹⁶ Analüüsi NeuMoDx HPV Assay sihtmärk on HPV genoomi E7 geeni kaitstud piirkond, mis kõrvaldab võimalikud valenegatiivsed tulemused pärast viiruse integreerimist peremeesorganismi genoomi.

PROTSEDUURI PÕHIMÕTTED

Analüüs NeuMoDx HPV Assay ühendab automatiseeritud DNA ekstraheerimise ja amplifitseerimise/tuvastamise reaalaaja PCR-i abil. Emakakaela proovid kogutakse vedelasse tsütoloogialahusesse ja viiakse seejärel ühilduvasse sekundaarsesse proovikatsutisse, märgistatakse vöötкодiga ja viiakse seadmesse NeuMoDx System. Töötlemise alustamiseks aspireerib seade NeuMoDx System automaatselt proovi alikvoodi, et segada see lüüsimispuhvriga NeuMoDx Lysis Buffer 2 ja ekstraheerimisplaadil NeuMoDx Extraction Plate sisalduvate ainetega. Seade NeuMoDx System automatiseerib ja integreerib DNA ekstraheerimise ja kontsentreerimise, reaktiivi ettevalmistamise ja nukleiinhappe sihtmärk-järjestuse amplifitseerimise/tuvastamise reaalaaja PCR-i abil. Igas nõuetekohaselt kogutud proovis sisalduv β-globiini (βG) DNA toimib endogeense proovi protsessi kontrollina ja aitab jälgida inhibeervate ainete esinemise ja süsteemi, protsessi või reaktiivi tõrgete osas. Kui proov ja vajalikud kulukaubad on laaditud seadmesse NeuMoDx System, pole kasutaja sekkumine vajalik.

NeuMoDx System teostab automaatselt lüüsimise, DNA ekstraheerimise ja inhibiitorite kõrvaldamise. Vabanenud nukleiinhapped püütakse kinni paramagnetiliste osakeste abil. Need osakesed, mis on seondunud nukleiinhapetega, laaditakse kassetti NeuMoDx Cartridge, kus mitteseondunud elemendid pestakse minema pesemisreaktiiviga NeuMoDx Wash Reagent. Seejärel elueeritakse seotud DNA reaktiiviga NeuMoDx Release Reagent. Seade NeuMoDx System kasutab elueeritud DNA-d patenditud NeuDry™ amplifikatsioonireaktiivide rehüdreerimiseks, mis sisaldavad 15 HPV sihtmärki (kui need on olemas) 40 amplifikatsioonitsükli jaoks vajalikke komponente, samuti β-globiini sihtmärki. See võimaldab sihtmärki ja kontroll-DNA sekveneerimise samaaegset amplifikatsiooni ja tuvastamist. Pärast kuivatatud PCR-reaktiivide taastamist jaotab seade NeuMoDx System ettevalmistatud PCR-iks valmis segu kasseti NeuMoDx Cartridge ühte PCR-i kambri (proovi kohta). Kontroll- ja sihtmärk-järjestuse (kui see on olemas) amplifitseerimine ja tuvastamine toimub PCR-i kambri. NeuMoDx Cartridge on loodud sisaldama PCR-i järgselt amplikoni, mis põhimõtteliselt kõrvaldab amplifitseerimisjärgse saastumise riski.

Võimendatud sihtmärgid tuvastatakse reaajas hüdrolüüsiondide keemia abil (tavaliselt nimetatakse seda TaqMan®-i keemiaks), kasutades fluorogeensete oligonukleotiidide sondimolekule, mis on spetsiifilised ampikonidele nende vastavate sihtmärkide jaoks. Sondid TaqMan koosnevad fluorofoorist, mis on kovalentselt seotud oligonukleotiidi sondi 5'-otsaga, ja kustutist 3'-otsas. Kui sond on intaktne, on fluorofoor ja kustuti läheduses, mis võimaldab kustuti-molekulil supresseerida fluorestsentsi, mille fluorofoor eraldab Försteri resonantsenergia ülekande (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) kaudu.

TaqMan sondid on sellise kujundusega, et need tugevnevad praimerite kindla komplektiga võimendatud DNA piirkonnas. Kui Taq DNA polümeeras pikendab praimerit ja sünteesib uue ahela, siis Taq DNA polümeerasi 5' kuni 3' eksonukleaasi aktiivsus lagundab matriitsiga kokkusulanud sondi. Sondide lagundamine vabastab fluorofoori ja katkestab läheduse kustutiga, vältides sellega FRET-ist tulenevat kustutusmõju ja võimaldades fluorofoori tuvastada. Seadme NeuMoDx System PCR termotsükleris tuvastatud tekkinud fluorestsentsi signaal on otseselt proportsionaalne vabanenud fluorofooriga ja seda saab korreleerida esineva sihtmärgi hulga.

5'-otsas fluorofooriga ja 3'-otsas tumeda kustutiga märgistatud sondi TaqMan kasutatakse HPV 16 (470/510 nm), HPV 18 (625/660 nm) ja ülejäänud kliiniliselt olulise kõrge riskiga (High Risk, HR) tüüpide („HPV Other“ (Muu HPV); 530/555 nm) tuvastamiseks. β-globiini tuvastamiseks on sond TaqMan märgistatud alternatiivse fluorestsentsvärviga (585/610 nm) 5'-otsas ja tumeda kustutiga 3'-otsas. Seadme NeuMoDx System tarkvara jälgib iga amplifitseerimistsükli lõpus TaqMani sondide poolt emiteeritud fluorestsentssignaali. Kui amplifikatsioon on lõpule jõudnud, analüüsib seadme NeuMoDx System tarkvara andmeid ja esitab tulemuse (POSITIVE (POSITIIVNE) / NEGATIVE (NEGATIIVNE) / INDETERMINATE (MÄÄRAMATU) / UNRESOLVED (LAHENDAMATA) / NO RESULT (TULEMUS PUUDUB)).

REAKTIIVID/KULUKAUBAD

Kaasolevad materjalid

REF	Sisukord	Ühikuid pakis	Teste ühikus	Teste pakis
617007	NeuMoDx HPV Test Strip HPV- ja βG-spetsiifilist TaqMan® sondi ja praimeid sisaldavad kuivatatud PCR-reaktiivid	6	16	96

Vajalikud, kuid tarnekomplekti mittekuuluvad materjalid (saadaval eraldi ettevõttelt NeuMoDx)

REF	Sisukord
100200	NeuMoDx Extraction Plate Kuivatatud paramagnetilised osakesed, lüütiline ensüüm ja β-globiini kontroll
400500	NeuMoDx Lysis Buffer 2
401600	NeuMoDx Viral Lysis Buffer*
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Filtriga otsakud Hamilton® CO-RE / CO-RE II (300 µl)
235905	Filtriga otsakud Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µl)

*Nõutav eeltöödeldud SurePathi proovide töötlemiseks

Vajalikud mõõteseadmed

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] või NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]

HOIATUSED JA ETTEVAATUSABINÕUD

- NeuMoDx HPV Test Strip on kasutamiseks *in vitro* diagnostikas ainult seadmetes NeuMoDx Systems.
- Ärge kasutage reaktiive või kulukaupu pärast märgitud kõlblikkuskuupäeva.
- Ärge kasutage ühtegi reaktiivi, kui turvasulgur on katki või kui pakend on saabumisel kahjustatud.
- Ärge kasutage kulukaupu ega reaktiive, kui kaitsekott on saabumisel avatud või katki.
- Sekundaarseste alikvootide proovi väiksem maht sõltub allpool määratletud katsuti suurusest / proovikatsuti kandjast. Kindlaksmääratud miinimumist väiksem maht võib põhjustada tõrke „Quantity Not Sufficient“ (Kogus pole piisav).
- Valel temperatuuril või üle kindlaksmääratud säilitusajaga proovide kasutamine võib põhjustada kehtetu või ekslikke tulemusi.
- NeuMoDx molekulaarsüsteemides võib kasutada ainult viirusliku lüüsimispuhvriga Viral Lysis Buffer eelnevalt töödeldud SurePathi proove. Lahendamata proovid võivad anda valesid või optimaalsest madalamaid tulemusi.
- Süsteemisese proovi stabiilsuse hindamiseks teostatud valideerimisuuringutes täheldati proovi kuni 20% aurustumist tulenevalt kogumiskeskonna PreservCyt suurest lenduvusest. Ei ole oodata, et see mõjutaks negatiivselt proovitulemusi, kuid sellega tuleb arvestada proovide ettevalmistamisel viibinud töötlemiseks. Eeltöödeldud SurePathi proovidega ei täheldatud märkimisväärset aurustumist.

- Vältige kõikide reaktiivide ja kulukaupade saastumist mikroobide ja desoksüribonukleasidiga (DNAas). Sekundaarsete katsutite kasutamisel on soovitatav kasutada steriilseid DNAasi-vabu ühekordseid ülekandepipette. Kasutage iga proovi jaoks uut pipetti.
- Saastumise vältimiseks ärge käsitage ega eraldage pärast amplifikatsiooni ühtegi kasseti NeuMoDx Cartridge. Ärge mingil juhul võtke kassette NeuMoDx Cartridges bioohtlike jäätmete mahutist (NeuMoDx 288 Molecular System) ega bioohtlike jäätmete nõust (NeuMoDx 96 Molecular System). Kassett NeuMoDx Cartridge on loodud saastumise vältimiseks.
- Juhtudel, kui laboris viiakse läbi ka avatud katsuti PCR-teste, tuleb hoolitseda selle eest, et testribad NeuMoDx HPV Test Strip, testimiseks vajalikud täiendavad kulukaubad ja reaktiivid, isikukaitsevahendid, nagu kindad ja laborikittid, ja seade NeuMoDx System ei saastuks.
- NeuMoDx reaktiivide ja kulukaupade käsitsemisel tuleb kanda puhtaid, pulbrivabu nitriilkindaid. Ärge puudutage kasseti NeuMoDx Cartridge ülemist pinda, testriba NeuMoDx HPV Test Strip või ekstraheerimisplaadi NeuMoDx Extraction Plate fooliumtihendi pinda ega lüüsimispuhvri NeuMoDx Lysis Buffer 2 ülemist pinda; kulukaupade ja reaktiivide käsitsemine peaks toimuma ainult külgpindu puudutades.
- Iga reaktiivi kohta on vastavalt vajadusele esitatud ohutuskaardid (Safety Data Sheets, SDS) aadressil www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Pärast testi tegemist peske hoolikalt käsi.
- Ärge pipeteerige suu abil. Ärge suitsetage, jooge ega sööge kohtades, kus käideldakse proove või reaktiive.
- Käidelge proove alati nakkusohtlikena ja vastavalt ohututele laboriprotseduuridele, mida on kirjeldatud sellistes väljaannetes nagu *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁷ ja CLSI dokumendis M29-A4.¹⁸
- Utiliseerige kasutamata reaktiivid ja jäätmed vastavalt riigi, föderaal-, provintsi, osariigi ja kohalikele seadustele.
- Mitte korduskasutada.

TOOTE SÄILITAMINE, KÄSITSEMIN JA STABIILSUS

- Testribad NeuMoDx HPV Test Strips on esimeses pakendis stabiilsed temperatuuril 15–23 °C kuni toote vahetel etiketil märgitud kõlblikkusaja lõpuni.
- Ärge laadige uuesti ühtegi testitavat toodet, mis on varem laaditud teise seadmesse NeuMoDx System.
- Pärast laadimist võib testriba NeuMoDx HPV Test Strip jääda süsteemi NeuMoDx System 14 päevaks. Laaditud testribade allesjäänud säilivusaega jälgib tarkvara ja teatab kasutajale reaajas. Süsteem soovib testriba eemaldamist, mis on olnud kasutuses pärast selle lubatud perioodi.

PROOVIDE KOGUMINE, KÄITLEMINE, LADUSTAMINE JA TRANSPORTIMINE

1. Analüüs NeuMoDx HPV Assay on mõeldud kasutamiseks emakakaela proovimaterjali proovidega. Emakakaela proovide valideeritud kogumiskeskonnad on PreservCyt ja SurePath. Ettevalmistamiseks ja säilitamiseks järgige proovikogumisseadme tootja juhiseid.
2. SurePathi proovid tuleb enne kasutamist eelnevalt töödelda, järgides alltoodud konkreetseid juhiseid.
3. **Külmutatud proovidel tuleb lasta vähemalt 30 minutit enne töötlemist toatemperatuurile soojeneda, et tagada süsteemi nõuetekohane toimimine.**
4. Ettevalmistatud emakakaela proove võib säilitada seadmes NeuMoDx System kuni 24 tundi enne töötlemist. Kui vajalik on täiendav säilitamisaeg, on soovitatav proove säilitada järgmiselt.

Emakakaela proovid **PreservCyt**:

- a. Kuni 6 nädalat pärast proovivõttu, säilitades temperatuuril 15–25 °C
- b. Kuni 3 kuud pärast proovivõttu, säilitades temperatuuril 2–8 °C
- c. Kuni 8 aastat temperatuuril –80 °C. Kui proovid on külmutatud, laske neil toatemperatuuril (15–30 °C) täielikult üles sulada ja loksutage vorteksil, et saada ühtlaselt jaotunud proov.

Emakakaela proovid **SurePath**:

- a. Kuni 30 päeva pärast proovivõttu, säilitades temperatuuril 2–30 °C
- b. Kuni 180 päeva pärast proovivõttu, säilitades temperatuuril 2–8 °C
- c. Kuni 180 päeva temperatuuril –20 °C. Kui proovid on külmutatud, laske neil toatemperatuuril (15–30 °C) täielikult üles sulada ja loksutage vorteksil, et saada ühtlaselt jaotunud proov.

5. Proovide tarnimisel tuleb need pakendada ja märgistada vastavalt kehtivatele riiklikele ja/või rahvusvahelistele eeskirjadele.
6. Märgistage proovide arusaadavalt ja märkige, et proovid on HPV testimiseks.

KASUTUSJUHEND

Testi ettevalmistamine – PRESERVCYT

1. Kandke proovikatsutile, mis ühildub seadmega NeuMoDx System, proovi vötkoodisilt.
2. Asetage vötkoodiga katsuti proovikatsuti kandjasse ja veenduge, et kork eemaldatakse enne laadimist seadmesse NeuMoDx System.
3. Alikvootige proov vastavalt proovide **PreservCyt** jaoks allpool määratletud mahtudele:
 - Proovikatsuti kandja (32 katsutile): 11–14 mm läbimõõt ja 60–120 mm kõrgus; minimaalne = 400 µl
 - Proovikatsutikandja (24 katsutile): 14,5–18 mm läbimõõt ja 60–120 mm kõrgus; minimaalne = 850 µl
 - Väikese mahuga proovikatsuti kandja (32 katsutile): 1,5 ml koonilise põhjaga mikrotsentrifuugi katsuti; minimaalne täitemaht = 250 µl

Testi ettevalmistamine – SUREPATH

1. Eeltöödelge SurePathi proovi 1:1 mahtu NeuMoDx puhvriga NeuMoDx Viral Lysis Buffer ja segage hoolikalt. Kasutage allpool määratletud proovi väikseima mahu saavutamiseks sobivat mahtu.
2. Enne jätkamist inkubeerige 20 minutit temperatuuril 90°C, seejärel laske toatemperatuurile soojeneda.
3. Kandke proovikatsutile, mis ühildub seadmega NeuMoDx System, proovi vöotkoodisilt.
4. Asetage vöotkoodiga katsuti proovikatsuti kandjasse ja veenduge, et kork eemaldatakse enne laadimist seadmesse NeuMoDx System.
5. Alikvootige proovi vastavalt proovide **SurePath** jaoks allpool määratletud mahtudele:
 - Proovikatsuti kandja (32 katsutile): 11–14 mm läbimööt ja 60–120 mm kõrgus; minimaalne = 450 µl
 - Proovikatsutikandja (24 katsutile): 14,5–18 mm läbimööt ja 60–120 mm kõrgus; minimaalne = 800 µl
 - Väikese mahuga proovikatsuti kandja (32 katsutile): 1,5 ml koonilise põhjaga mikrotsentrifuugi katsuti; minimaalne täitemaht = 300 µl

Seadme NeuMoDx System kasutamine

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadmete NeuMoDx 288 ja 96 Molecular Systems käsiraamatuid; (tootekood 40600108 ja 40600317)

1. Laadige testi tellimus seadmesse NeuMoDx System vastavalt soovitud proovikatsuti tüübile.
 - PreservCyti proove testitakse, määratledes proovi tüübiks Cytology (Tsütoloogia).
 - Eeltöödeldud SurePathi proove analüüsitakse, määrates proovi tüübiks UserSpecified1.Kui testi tellimuses ei ole tüüp määratletud, kasutatakse vaikimisi proovitüüpi PreservCyt.
2. Täitke üks või enam süsteemi NeuMoDx System testribakandjat testriba(de)ga NeuMoDx HPV Test Strip ja kasutage puuteekraani, et laadida testribakandja(d) süsteemi NeuMoDx System.
3. Kui seadme NeuMoDx System tarkvara seda soovib, lisage vajalikud kulukaubad seadme NeuMoDx System tarbitavatele kandjatele ja kasutage puutetundlikku ekraani kandja(te) laadimiseks seadmesse NeuMoDx System.
4. Kui seadme NeuMoDx System tarkvara seda soovib, vahetage välja pesemisreaktiiv NeuMoDx Wash Reagent, vabastusreaktiiv NeuMoDx Release Reagent, tühjendage praimingujäätmed, bioohtlike jäätmete mahuti (ainult NeuMoDx 288 Molecular System), otsikute jäätmemahuti (ainult NeuMoDx 96 Molecular System) või bioohtlike jäätmete nõu (ainult NeuMoDx 96 Molecular System), vastavalt vajadusele.
5. Laadige proovikatsuti(d) proovikatsutikandjasse ja veenduge, et kõigilt katsutitelt on korgid eemaldatud.
6. Asetage proovikatsuti kandja(d) automaatlaadija riulile ja kasutage puutetundlikku ekraani kandja(te) laadimiseks seadmesse NeuMoDx System. Sellega käivitatakse tuvastatavate testide jaoks laaditud proovide töötlemine, eeldusel, et süsteemis on kehtiv testitellimus.

PIIRANGUD

1. Testriba NeuMoDx HPV Test Strip saab kasutada ainult seadmel NeuMoDx Systems.
2. Testriba NeuMoDx HPV Test Strip toimivus on kindlaksmääratud emakakaela proovimaterjalidest (kaabe) keskkonnas PreservCyt, SurePath või samaväärses tsütoloogilises keskkonnas. Testriba NeuMoDx HPV Test Strip kasutamist koos teiste allikatega ei ole hinnatud ja toimivusnäitajad on muud tüüpi proovide või kogumiskeskonna puhul tundmatud.
3. NeuMoDx molekulaarsüsteemides võib kasutada ainult viirusliku lüüsimispuhvriga Viral Lysis Buffer eelnevalt töödeldud SurePathi proove. Lahendamata proovid võivad anda valesid või optimaalsest madalamaid tulemusi.
4. Kuna HPV tuvastamine sõltub proovis esineva koe hulgast, sõltuvad usaldusväärsed tulemused proovide nõuetekohasest kogumisest, käitlemisest ja säilitamisest.
5. Proovide ebaõige kogumise, käitlemise, säilitamise, tehniliste vigade või proovikatsuti segijamise korral võivad tekkida segased tulemused. Lisaks võivad tekkida valenegatiivsed tulemused, kuna proovis leiduvate viirusosakeste arv on väiksem kui analüüsi NeuMoDx HPV Assay tuvastuspiir.
6. Süsteemi NeuMoDx System tohib kasutada ainult süsteemi NeuMoDx System kasutamise väljaõppe saanud personal.
7. Kui nii HPV sihtmärk kui ka β-globiini sihtmärk ei amplifitseeru, esitatakse kehtetu tulemus (Indeterminate (Määramatu), No Result (Tulemus puudub) või Unresolved (Lahendamata)) ja testi tuleb korrata.
8. Positiivne tulemus ei tähenda tingimata elujõulise HPV esinemist. Positiivne tulemus aga viitab HPV DNA esinemisele.
9. Analüüsi NeuMoDx HPV Assay sihtmärgiks olevate kaitsitud piirkondade deletsioonid või mutatsioonid võivad tuvastamist mõjutada ja põhjustada vale tulemuse.
10. Analüüsi NeuMoDx HPV Assay tulemusi tuleks kasutada kliiniliste vaatluste ja muu arstile kättesaadava teabe täiendusena.
11. Saastumise vältimiseks on soovitatav hea laboritava, sealhulgas kinnaste vahetamine erinevate patsiendiproovide käitlemise vahel.

TULEMUSTE TÖÖTLEMINE

Kättesaadavaid tulemusi saab vaadata või printida seadme NeuMoDx System puutekraani akna Results (Tulemused) vahekaardilt „Results“ (Tulemused). Seadme NeuMoDx System tarkvara genereerib analüüsi NeuMoDx HPV Assay tulemused automaatselt, kasutades otsustusalgoritmi ja tulemuste töötlemise parameetreid, mis on toodud analüüsi NeuMoDx HPV analüüsi definitsiooni failis (HPV ADF). Analüüsi NeuMoDx HPV Assay tulemus võidakse vastavalt sihtmärkide ja prooviprotsessi kontrolli amplifitseerimise olekule esitada kui Negative (Negatiivne), Positive (Positiivne), Indeterminate (IND) (Määramatu), No Result (NR) (Tulemus puudub) või Unresolved (UNR) (Lahendamata). Tulemused esitatakse ADF-i otsuse algoritmi põhjal, mis on kokku võetud allpool tabelis 1.

Iga sihtmärgi jaoks on kehtestatud Ct-läved ja need on esitatud allpool tabelis 2, et need vastaksid analüüsi kliinilisele asjakohasusele. Võib esineda stsenaariume, kus täheldatakse sihtmärgi amplifikatsioonikõverat, kuid teatatakse negatiivsest tulemusest. See analüüs on kooskõlas NeuMoDxi poolt kinnitatud tulemuste töötlemise ja lävekriteeriumidega.

NeuMoDx HPV testi teatud tulemusi peab arst hindama muude leidude kontekstis.

Tabel 1. Analüüsi HPV Assay otsusealgoritmi kokkuvõte

TULEMUS	HPV16	HPV18	Muud HPV	PROTSESSIKONTROLL (βG)
POSITIVE (POSITIIVNE)	AMPLIFIED (AMPLIFITSEERITUD)	N/A [^] (-)	N/A [^] (-)	N/A [^] (-)
POSITIVE (POSITIIVNE)	N/A [^] (-)	AMPLIFIED (AMPLIFITSEERITUD)	N/A [^] (-)	N/A [^] (-)
POSITIVE (POSITIIVNE)	N/A [^] (-)	N/A [^] (-)	AMPLIFIED (AMPLIFITSEERITUD)	N/A [^] (-)
NEGATIVE (NEGATIIVNE)	NOT AMPLIFIED (MITTEAMPLIFITSEERITUD)	NOT AMPLIFIED (MITTEAMPLIFITSEERITUD)	NOT AMPLIFIED (MITTEAMPLIFITSEERITUD)	AMPLIFIED (AMPLIFITSEERITUD)
IND (MÄÄRAMATU)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Completed (Mitteamplifitseeritud, Tuvastatud süsteemiviga, Proovi töötlemine lõpetatud)			
IND/NR* (MÄÄRAMATU / LAHENDUS PUUDUB)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Mitteamplifitseeritud, Tuvastatud süsteemiviga, Proovi töötlemine katkestatud)			
UNR (LAHENDAMATA)	NOT AMPLIFIED, No System Errors Noted (MITTEAMPLIFITSEERITUD, Süsteemivigu ei tuvastatud)			

* *Hoiatusteis No Result (Tulemus puudub) esitatakse ainult seadme NeuMoDx System tarkvaraversioonis 1.8 või uuemas.*

[^] N/A = Not Applicable (Ei kohaldu)

Tabel 2. Positiivsete kutsete Ct-läviväärtused

TULEMUS	HPV16	HPV18	Muud HPV	PROTSESSIKONTROLL (βG)
POSITIVE (POSITIIVNE)	33	33	30	N/A*

* N/A = Not Applicable (Ei kohaldu)

Kvaliteedikontroll

Kohalikud eeskirjad määravad tavaliselt, et labor vastutab kontrolliprotseduuride eest, millega jälgitakse kogu analüüsiprotsessi täpsust ja kordustäpsust, ning peab määrama kontrollmaterjalide testimise arvu, tüübi ja sageduse, kasutades kontrollitud toimivusspetsifikatsioone modifitseerimata, heakskiidetud testsüsteemi jaoks.

Kasutaja määratletud (välised) kontrollid

1. Labor peab valima ja valideerima sobivad kasutaja määratletud kontrollid, mis vastavad kohalikele suunistele. Pange tähele, et kasutaja määratletud kontrollid peavad vastama samadele väikseima mahu spetsifikatsioonidele kui eespool täpsustatud kliinilised proovid vastavalt proovikatsutikandja suurusele.
2. Kasutaja määratletud kontrollide töötlemisel pange märgistatud kontrollid proovikatsuti andjasse ja laadige kandja automaatlaadija riulilt puutetundliku ekraani abil seadmesse NeuMoDx System. Kui need on määratletud, tuvastab NeuMoDx System vöötkoodid ja alustab kontrollide töötlemist.
3. Kasutajatel on soovitatav töödelda üks komplekt positiivseid ja negatiivseid kasutaja määratletud kontrolle iga 24 tunni tagant.
4. Kasutaja määratletud negatiivse kontrolliproovi positiivne testitulem võib viidata proovi saastumisele. Tõrkeotsingu näpunäiteid leiate NeuMoDx 288 või 96 Molecular System käsiraamatust.
5. Kasutaja määratletud positiivse kontrolliproovi negatiivne tulem võib viidata reaktiiviga või seadmega NeuMoDx System seotud probleemile. Tõrkeotsingu näpunäiteid leiate NeuMoDx 288 või 96 Molecular System käsiraamatust.

Prooviprotsessi (sisemine) kontroll

β -globiini (β G) toimib endogeense sisemise kontrollina, kuna seda esineb õigesti kogutud emakakaela kaapes. β G sihtmärk läbib iga prooviga kogu nukleiinhappe ekstraheerimise ja reaalaia PCR-i amplifitseerimise protsessi ning toimib ka proovi kvaliteedikontrollina. Igas testribas NeuMoDx HPV Test Strip koos mitme HPV sihtmärgi praimerite ja sondidega sisalduvad β G-spetsiifilised praimerid ja sond, mis võimaldavad mitmekordse PCR-ga tuvastada β G sihtmärk HPV DNA-ga (kui see on olemas). β G amplifitseerimise tuvastamine võimaldab seadme NeuMoDx System tarkvaral jälgida proovi kogumise, DNA ekstraheerimise ja PCR-i amplifikatsiooniprotsesside tõhusust.

NeuMoDx System(s) kontrollid

NeuMoDx System(s) süsteem(id) teeb(teevad) järgmisi mitmesuguseid seadme sisemisi kontrole.

1. Enne PCR-i teostab NeuMoDx System automaatselt toiminguga „FILL CHECK“ (TÄITMISKONTROLL) tagamaks, et PCR-i kamber on lahusega täidetud ja sisaldab piisavas koguses fluorestseeruvat sondi.
2. Seadme NeuMoDx System tarkvara jälgib pidevalt süsteemiseseid andureid ja käivitajaid, et tagada süsteemi ohutu ja tõhus töö.
3. Aspireerimise ja jaotamise toimingute aktiivne jälgimine rakendab mitut vedeliku veetaaste režiimi tagamaks, et süsteem saab ohutult ja tõhusalt lõpule viia kõikide proovide töötlemise või anda asjakohane veakood.
4. NeuMoDx System on varustatud automaatse Rerun (Uuesti käitamine) / Repeat (Kordamine) võimekusega, mida lõppkasutaja saab valida, et tagada tulemuse INVALID (KEHTETU) automaatne uuesti töötlemine, et minimeerida tulemuse esitamise viibimist.

Kehtetud tulemused

Kui seadmega NeuMoDx System teostatud analüüs NeuMoDx HPV Assay ei anna kehtivat tulemust, esitatakse see vastavalt esinenud vealiigile kui Indeterminate (Määramatu) (IND), Unresolved (Lahendamata) (UNR) või No Result (Tulemus puudub) (NR).

Kui proovi töötlemisel tuvastatakse seadme NeuMoDx System tõrge, esitatakse tulemus IND. Kui esitatakse tulemus IND, on soovitatav teha kordusanalüüs.

UNR-i tulemus esitatakse, kui ei tuvastata kehtivat HPV DNA või β G amplifikatsiooni, mis viitab võimalikule reaktiivi veale või inhibiitorite esinemisele. Kui tulemuseks esitatakse lahendamatu (UNR), on soovituslik esimese sammuna teha kordustest. Kui kordustest ebaõnnestub, võib proovi mistahes inhibiitorite mõjude leevendamiseks kasutada proovi lahjendust.

NR tulemus esitatakse, kui proovi töötlemine on süsteemi vea tõttu katkestatud. Kui esitatakse tulemus NR, on soovitatav teostada kordusanalüüs. See silt esitatakse ainult NeuMoDx tarkvara versiooniga 1.8 ja uuem. Vanemates versioonides esitatakse see viga kui IND.

TOIMIVUSNÄITAJAD

Analüütiline sensitiivsus

Tuvastamispiir (Limit of Detection, LoD) määrati järjestikuste kolmekordse gBlock (genoomse DNA kaheahelalised plokid) lahjenduste seeriatega, mis sisaldasid iga sihtmärk HPV tüüpi (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68) ja β -globiini amplikoni piirkonda. Iga kuueosaline lahjenduste seeria valmistati ette 2000 ng/ml inimese DNA taustal (välja arvatud β -globiini) ja 45-kordselt testitud kontsentratsiooniga. Uuringu tulemused, kus LoD määrati 95% kokkulangevuse analüüsiga, on esitatud allpool tabelis 3.

Tabel 3. 15 hrHPV tüüpi ja β -globiini geeni analüüsi NeuMoDx HPV Assay tuvastamispiir (Limit of Detection, LoD)

Sihtväärts	Tuvastamispiir (koopiat/ml)
HPV 16	8 230
HPV 18	2 743
HPV 31	24 691
HPV 33, 35, 39, 45, 51, 56, 66, 67	74 074
HPV 52, 58, 59	222 222
HPV 68	666 667
β -globiini	74 074

Analüütiline spetsiifilisus

Analüüsi NeuMoDx HPV Assay analüütiline spetsiifilisus määrati mitte-sihtmärk HPV genoomide DNA suhtes (Tabel 4) kontsentratsioonis 1×10^6 koopiat/ml ja tabel 5 toodud võimalike patogeensete vaginaalsete mikroorganismide suhtes kontsentratsioonis 1×10^6 CFU/ml või 1×10^5 PFU/ml. Analüüsis ei tuvastatud ristreaktiivsust mitte-sihtmärk HPV tüüpidega 6, 11, 26, 30, 34, 53, 69, 73, 82, 85 või mikroorganismidega. Positiivsed tulemused „HPV Other“ (Muu HPV) saadi tüübiga HPV 70 (tõenäoliselt tüüpide 39, 68 ja 70 järjestuste suure homoloogia tõttu) ning järgnenud tiitrimisuuring näitas, et seda tüüpi saab tuvastada kontsentratsioonidel $\geq 4,12 \times 10^6$ koopiat/ml. HPV 70 peetakse epidemioloogiliste, fülogeneetiliste ja funktsionaalsete uuringute põhjal tõenäoliselt kantserogeenseks.

Tabel 4. Ristreaktiivsuse suhtes hinnatud mitte-sihtmärk HPV tüübid

HPV mitte-sihtmärk genotüübid	
HPV 6	HPV 69
HPV 11	HPV 70
HPV 26	HPV 73
HPV 30	HPV 82
HPV 34	HPV 85
HPV 53	

Tabel 5. Ristreaktiivsuse suhtes hinnatud mikroorganismid

Mikroorganism		
Adenoviirus*	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	Epstein-Barri viirus	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus agalactiae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Fusobacterium spp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Herpes simplex viirus 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	Herpes simplex viirus 2	<i>Staphylococcus faecalis</i>
<i>Corynebacterium spp.</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Staphylococcus pyogenes</i>
Tsütomegaloviirus	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
<i>Treponema pallidum**</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	

* testitud kontsentratsiooniga 1×10^5 (TCID₅₀)/ml

** teostatud *in silico* analüüsiga

Analüütiline reprodutseeritavus

Analüüsi NeuMoDx HPV Assay analüütilist reprodutseeritavust hinnati sama andmekomplektiga nagu tuvastamiskiir uuringus. Proove analüüsi 3-kordse LoD-i juures 3 erineva süsteemiga NeuMoDx Molecular Systems, 1 N288 ja 2 N96, kasutades testribade NeuMoDx HPV Test Strips 3 erinevat partiid. Andmed näitasid suurepäraselt üldist reprodutseeritavust ja analüüsitud genotüübi maksimaalne CV oli 3,0%, nagu on toodud tabel 6. Lisaks kasutati seda andmekomplekti reaktiivide partiide ja süsteemi vahelise reprodutseeritavuse demonstreerimiseks, vt tabel 7.

Tabel 6. Testitud hrHPV genotüübid

Sihtväärtus	Sihtkontsentratsioon	koopiat/ml	Kokkulangevus	Üldine CV
B-globiin	3-kordne LoD	222222	100% (45/45)	1,8%
HPV 16		24691	100% (44/44)	1,3%
HPV 18		8230	100% (45/45)	1,3%
HPV 31		74074	100% (45/45)	1,3%
HPV 33		222222	100% (45/45)	1,6%
HPV 35		222222	100% (45/45)	0,8%
HPV 39		222222	100% (45/45)	1,4%
HPV 45		222222	100% (45/45)	1,5%
HPV 51		222222	100% (45/45)	1,8%
HPV 52		666667	97,8% (44/45)	3,0%
HPV 56		222222	100% (45/45)	1,3%
HPV 58		666667	100% (44/44)	2,4%
HPV 59		666667	100% (45/45)	2,5%
HPV 66		222222	100% (45/45)	1,8%
HPV 67		222222	100% (45/45)	1,4%
HPV 68		2000000	100% (45/45)	2,9%

Tabel 7. Partii vaheline ja süsteemide vaheline reprodutseeritavus

Sihtväärtus	Partii varieeruvuse CV			Süsteemi variatsiooni CV		
	Partii 1	Partii 2	Partii 3	Süsteem 1 (N96)	Süsteem 2 (N288)	Süsteem 3 (N96)
B-globiin	1,5%	2,4%	1,0%	1,7%	2,4%	1,0%
HPV 16	0,9%	1,1%	1,6%	1,8%	1,0%	0,9%
HPV 18	1,2%	1,6%	0,9%	1,1%	1,0%	1,5%
HPV 31	1,3%	1,5%	1,1%	1,1%	1,2%	1,1%
HPV 33	2,1%	1,4%	1,2%	0,9%	2,5%	0,9%
HPV 35	0,7%	0,7%	0,9%	0,9%	0,7%	0,8%
HPV 39	1,6%	1,6%	0,8%	1,1%	1,9%	0,9%
HPV 45	1,5%	1,4%	1,7%	1,4%	1,6%	1,1%
HPV 51	2,1%	1,2%	1,9%	1,1%	2,3%	1,4%
HPV 52	2,2%	4,0%	2,5%	1,5%	3,9%	1,6%
HPV 56	1,4%	1,5%	1,1%	0,6%	1,5%	1,3%
HPV 58	1,3%	3,2%	2,2%	2,1%	1,8%	3,0%
HPV 59	2,3%	2,4%	2,7%	1,1%	2,3%	0,9%
HPV 66	2,5%	1,5%	0,8%	1,3%	2,3%	1,3%
HPV 67	1,1%	1,2%	1,8%	0,6%	2,1%	1,1%
HPV 68	1,4%	3,1%	3,8%	1,5%	3,9%	1,9%

Segava mõjuga ained

PreservCyti ühendatud proove rikastati rekombinantse bakuloviirusega, lisades kontsentratsioonis 1000 koopiat/ml HPV 16, 18, 51 ja β -globiini ampliconi piirkondi ja tabelis 8 loetletud aineid. Ükski aine ei omanud analüüsi toimivusele olulist inhibeerivat mõju.

Tabel 8. Testitud võimalikud segava mõjuga ained

	Aine	Kontsentratsioon
Endogeenne	Täisveri (inimese)	1% (mahu alusel)
	Leukotsüüdid	10 ⁶ rakku/ml
	Mutsiin	1% (mahu alusel)
Eksogeenne	Tupe veega puhastamine	1% (mahu alusel)
	Seentevastane kreem	1% (massi/mahu alusel)
	Spermitsiidid	1% (massi/mahu alusel)
	Vaginaalne libesti	1% (massi/mahu alusel)
	Intiimpihus	1% (mahu alusel)
	Kontratseptiivne vaht	1% (massi/mahu alusel)

Olemasoleva proovi stabiilsus

Rekombinantse bakuloviiruse kontrolli, mis sisaldas HPV 16, 18, 51 ja β -globiini sihtmärke, rikastati ~3-kordse LOD cp/ml kas SurePathi või PreservCyt kogumiskeskonnaga ja töödeldi analüüsiga NeuMoDx HPV Assay. Töötlemise lõpus jäeti kõik positiivsed ja negatiivsed proovikatsutid 4, 8 ja 24 tunniks süsteemi töölauale ja seejärel töödeldi uuesti. Oodatav tulemus kõigis ajapunktides oli POSITIIVNE kõigil sihtmärgiga rikastatud tsütoloogiproovidel ja NEGATIIVNE (kõigi sihtmärkide korral) tsütoloogiliste proovide korral, mis ei olnud sihtmärgiga rikastatud. 24-tunnistes ajapunktides täheldati täielikku vastavust oodatud tulemusega, mis näitas, et 24-tunnist stabiilsust süsteemis testimisel analüüsiga NeuMoDx HPV Assay. Tulemused on kokku võetud allpool tabelis 9. PreservCyti proovidest aurustus kuni 20%, kui neid 24 tunni jooksul süsteemis hoiti, kuid see ei mõjutanud sihtmärkide tuvastamist testimistasemel.

Tabel 9. Seadmes olemasoleva proovi stabiilsuse andmete kokkuvõte

Proovide stabiilsus süsteemis	Sihtväärtus	PreservCyt		SurePath	
		T ₀	24 tundi	T ₀	24 tundi
		% kokkulangevus	% kokkulangevus	% kokkulangevus	% kokkulangevus
Positiivne kogum	HPV 16	100%	100%	100%	100%
	HPV 18	100%	100%	100%	100%
	Muud HPV	100%	100%	100%	100%
	β-globiin	100%	100%	100%	100%
Negatiivne kogum	Negatiivne (β-globiin ainult)	100%	100%	100%	100%

Kliiniline toimivus – PreservCyt kogumiskeskond

Analüüsi NeuMoDx HPV Assay kliinilist sensitiivsust ja spetsiifilisust 2. või kõrgema astme emakakaela intraepiteeliale neoplaasia (CIN2+) suhtes PreservCyti keskkonnas kogutud emakakaela proovides hinnati samaväärses analüüsis võrdlusanalüüsi (s.t kõrge riski HPV GP5+/6+-PCR-EIA) suhtes, järgides emakakaelavähi sõeluuringu HPV testimise nõuete rahvusvahelisi juhiseid.¹⁶ Histoloogiliselt kinnitatud CIN2+ 30-aastaste ja vanemate naiste 67 proovi analüüsi juhtumi-kontrolli uuringus (s.t juhtumid; tabel 10). Kliinilise spetsiifilisuse määramiseks analüüsi 823 järjestikusest kogutud vedelikupõhist tsütoloogiaproovi, mis pärinesid 2-aastase järelkontrolli ajal normaalse tsütoloogiaga ja ilma CIN2+ tõenditeta naiste sõeluuringu populatsioonist (s.t kontrollid). Analüüsi NeuMoDx HPV Assay üldine edukusmäär oli 99,4% (818/823), nagu näidatud tabelis 11. Analüüsi NeuMoDx HPV Assay kliiniline sensitiivsus CIN2+ suhtes oli 92,5% (62/67; 95%CI 83,3–96,9) ja kliiniline spetsiifilisus CIN2+ suhtes oli 95,6% (782/818; 95%CI 92,2–97,6), mis mõlemad ei olnud halvemad võrreldes võrdlusanalüüsiga GP5+/6+-PCR-EIA (vastavalt $P = 0,02$ ja $P < 0,0001$).

Tabel 10. Kinnitatud CIN2+ vanuses 30+ eluaastat naiste proovide kliinilise sensitiivsuse tulemused

Võrdlustest	Analüüs NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	KOKKU
POS	61	2	63
NEG	1	3	4
KOKKU	62	5	67
Analüüsi NeuMoDx HPV Assay kliiniline sensitiivsus: 92,5% (95%CI 83,3–96,9)			

Tabel 11. Normaalse tsütoloogia ja kinnitamata CIN2+ naiste proovide kliinilise spetsiifilisuse tulemused

Võrdlustest	Analüüs NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	KOKKU
POS	28	19	47
NEG	8	763	771
KOKKU	36	782	818
Analüüsi NeuMoDx HPV Assay kliiniline spetsiifilisus: 95,6% (95%CI 92,2–97,6)			

Alla 30-aastastel naiste puhul analüüsi ambulatoorsesse kliinikusse pöördunud naiste 173 vedelikupõhist tsütoloogiaproovi. Analüüsi NeuMoDx HPV Assay edukusmäär oli 98,3% (170/173) (tabel 12). Analüüsi NeuMoDx HPV Assay CIN3+ sensitiivsus oli 91,1% (41/45; 95% CI 78,6–96,6) ja CIN3+ spetsiifilisus oli 51,2% (64/125; 95%CI 42,5–60,0). Suhtelise sensitiivsuse ja spetsiifilisuse väärtused võrreldes analüüsiga QIAScreen HPV PCR Test olid vastavalt 1,03 ja 1,10.

Tabel 12. Analüüsi NeuMoDx HPV Assay toimivus naistel vanuses < 30 eluaastat stratifitseeritud histoloogia ja analüüsi QIAScreen HPV PCR Test alusel

Histoloogia	QIAScreen HPV PCR Test	Analüüs NeuMoDx HPV Assay		
		NEG	POS	KOKKU
<=CIN1	NEG	53	1	54
	POS	6	43	49
	KOKKU	59	44	103
CIN2	NEG	4	-	4
	POS	1	17	18
	KOKKU	5	17	22
CIN3+	NEG	4	1	5
	POS	-	40	40
	KOKKU	4	41	45
ÜLDINE	NEG	61	2	63
	POS	7	100	107
	KOKKU	68	102	170

ASC-US-i või LSIL-ga naistel oli kliiniline sensitiivsus CIN2+ suhtes 91,7% (11/12; 95% CI 58,7–98,8) ja kliiniline spetsiifilisus CIN2+ suhtes 75,0% (15/20; 95% CI 52,2–89,2) (tabel 13).

Tabel 13. Analüüsi NeuMoDx HPV Assay toimivus ASC-US/LSIL-i tsütoloogiaga naistel stratifitseeritud histoloogia ja võrdlustesti tulemuse alusel

Histoloogia	Võrdlusanalüüs	Analüüs NeuMoDx HPV Assay		
		NEG	POS	KOKKU
<=CIN1	NEG	13	-	13
	POS	2	5	7
	KOKKU	15	5	20
CIN2	NEG	-	-	-
	POS	-	6	6
	KOKKU	-	6	6
CIN3+	NEG	1	-	1
	POS	-	5	5
	KOKKU	1	5	6
ÜLDINE	NEG	14	-	14
	POS	2	16	18
	KOKKU	16	16	32

Kliiniline toimivus – kogumiskeskond SurePath

Analüüsi NeuMoDx HPV Assay kliiniline sensitiivsus ja spetsiifilisus CIN2+ tuvastamiseks määrati 948 emakakaela kaapeprooviga, mis koguti kogumiskeskonda SurePath juhtumikontrolli uuringu abil. Analüüsi NeuMoDx HPV Assay CIN2+ suhteline sensitiivsus ja spetsiifilisus võrreldes kliiniliselt valideeritud võrdlusanalüüsiga (s.o. HPV riskianalüüs) määrati samaväärse skooriga testi statistilise meetodiga.

Kliiniline sensitiivsus määrati 106 prooviga naistelt, kellel oli diagnoositud histoloogiliselt kinnitatud CIN2+ staatus (s.o. juhtumid). Naiste keskmine vanus oli 38 (vahemikus 30–58) aastat. Analüüsi NeuMoDx HPV Assay sensitiivsus määrati 92,5% (98/106; 95% CI: 85,6–96,2) ja võrdub võrdlusanalüüsi HPV riskiga (tabel 14). Analüüsi NeuMoDx HPV Assay suhteline sensitiivsus võrreldes HPV riskianalüüsiga oli 1,00, samaväärse skooriga testi väärtus $P = 0,0009$.

Kliiniline spetsiifilisus määrati 842 kogutud LBC-proovi (SurePath) põhjal normaalse tsütoloogiaga ja CIN2+ tõenduseta naiste sõeluringupopulatsioonist 2 aasta jooksul pärast jälgimist. Naiste keskmine vanus oli 43 (vahemikus 30–59) aastat ja 98,6% (935/948) proovidest olid kehtivad. Analüüsi NeuMoDx HPV Assay spetsiifilisus oli 93,5% (775/829; 95% CI: 91,6–95,0) ja võrdlusanalüüsi HPV risk oli 91,9% (762/829; 95% CI: 89,9–93,6) (tabel 15). Analüüsi NeuMoDx HPV Assay suhteline spetsiifilisus võrreldes HPV-riskianalüüsiga oli 1,02, kusjuures samaväärse skooriga testi väärtus oli $P < 0,0001$.

Tabel 14. Kinnitatud CIN2+ sisaldusega naiste proovide kliinilise sensitiivsus tulemused SurePathi kogumiskeskonnas

Võrdlustest	Analüüs NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	KOKKU
POS	97	1	98
NEG	1	7	8
KOKKU	98	8	106
Analüüsi NeuMoDx HPV Assay kliiniline sensitiivsus: 92,5% (95%CI 85,6-96,2)			

Tabel 15. Normaalse tsütoloogia ja kinnitamata CIN2+ naiste SurePathi kogumiskeskonnas proovide kliinilise spetsiifilisuse tulemused

Võrdlustest	Analüüs NeuMoDx HPV Assay		
	POS	NEG	KOKKU
POS	48	6	54
NEG	19	756	775
KOKKU	67	775	842

Analüüsi NeuMoDx HPV Assay kliiniline spetsiifilisus: 93,5% (95%CI 91,6-95,0)

Kliiniline reprodutseeritavus

Testi PreservCyti keskkonnas kogutud kliiniliste proovide laborisest reprodutseeritavust ja laboritevahelist ühtivust hinnati vastavalt emakakaelavähi sõeluuringu HPV testimise nõuete rahvusvahelistele juhistele.¹⁶ Emakakaela proovide laborisene reprodutseeritavus uuringu kestuse ajal oli 96,0% (484/504; 95% CI 94,3–97,4) ja kappa-väärtus (κ) oli 0,90 (tabel 16). Nende analüüsi ajapunktide tulemusi hinnati seejärel ühtivuse osas teise analüüsikeskusega, mis andis vastavalt analüüsi esimese ajapunkti ja teise ajapunkti laboritevahelise ühtivuse 96,4% (486/504; 95%CI 94,8–97,7) ja $\kappa = 0,91$ ning 94,4% (476/504; 95%CI 92,5–96,1) ja $\kappa = 0,86$ (tabel 17).

Tabel 16. Analüüsi NeuMoDx HPV Assay laborisene reprodutseeritavus ajas

Analüüsi NeuMoDx HPV Assay testi tulemus 1	Analüüsi NeuMoDx HPV Assay testi tulemus 2		
	NEG	POS	KOKKU
NEG	347	13	360
POS	7	137	144
KOKKU	354	150	504

Reprodutseeritavus = 96,0% (95%CI 94,3–97,4); $\kappa = 0,90$

Tabel 17. Analüüsi NeuMoDx HPV Assay laboritevaheline ühtivus

Analüüsi NeuMoDx HPV Assay väline test	Analüüs NeuMoDx HPV Assay – sisemine testitulemus 1			Analüüs NeuMoDx HPV Assay – sisemine testitulemus 2		
	NEG	POS	KOKKU	NEG	POS	KOKKU
NEG	355	13	368	347	21	368
POS	5	131	136	7	129	136
KOKKU	360	144	504	354	150	504

96,4% ühtivus (95%CI 94,8–97,7); $\kappa = 0,91$ 94,4% ühtivus (95%CI 92,5-96,1); $\kappa = 0,86$

VIITED

1. Walboomers J, Jacobs M, Manos M, Bosch F, Kummer J, Shah K, Snijders P, Peto J, Meijer C, Munoz N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J.Pathol.* 1999;189(1):12-9.
2. Munoz N, Bosch F, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah K, Snijders P, Meijer C. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N.Engl.J.Med.* 2003;348(6):518-27.
3. Bosch F, Lorincz A, Munoz N, Meijer C, Shah K. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J.Clin.Pathol.* 2002;55(4):244-65.
4. Snijders P, Steenbergen R, Heideman D, Meijer C. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J.Pathol.* 2006;208(2):152-64.
5. Vinokurova S, Wentzensen N, Kraus I, Klaes R, Driesch C, Melsheimer P, Kisseljov F, Durst M, Schneider A, von Knebel DM. Type-dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions. *Cancer Res.* 2008;68(1):307-13.
6. Kraus I, Driesch C, Vinokurova S, Hovig E, Schneider A, von Knebel D, Durst M. The majority of viral-cellular fusion transcripts in cervical carcinomas cotranscribe cellular sequences of known or predicted genes. *Cancer Res.* 2008;68(7):2514-22.
7. Horner S, DeFilippis R, Manuelidis L, DiMaio D. Repression of the human papillomavirus E6 gene initiates p53-dependent, telomerase-independent senescence and apoptosis in HeLa cervical carcinoma cells. *J.Virol.* 2004;78(8):4063-73.
8. Butz K, Ristriani T, Hengstermann A, Denk C, Scheffner M, Hoppe-Seyler F. siRNA targeting of the viral E6 oncogene efficiently kills human papillomavirus-positive cancer cells. *Oncogene* 2003;22(38):5938-45.
9. Baseman, J. G. & Koutsky, L. A. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J. Clin. Virol.* 32 (Suppl. 1), S16–S24 (2005).
10. Nobbenhuis M, Helmerhorst T, van den Brule A, Rozendaal L, Voorhorst F, Bezemer P, Verheijen R, Meijer C. Cytological regression and clearance of high-risk human papillomavirus in women with an abnormal cervical smear. *Lancet.* 2001;358(9295):1782-1783.
11. Rijkaart D, Berkhof J, Rozendaal L, van Kemenade F, Bulkman N, Heideman D, Kenter G, Cuzick J, Snijders P, Meijer C. 2012. Human papillomavirus testing for the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cancer: final results of the POBASCAM randomized controlled trial. *Lancet Oncol.* 13:78–88.
12. Sankaranarayanan R, Nene B, Shastri S, Jayant K, Muwonge R, Budukh A, Hingmire S, Malvi S, Thorat R, Kothari A, Chinoy R, Kelkar R, Kane S, Desai S, Keskar V, Rajeshwarkar R, Panse N, Dinshaw K. 2009. HPV screening for cervical cancer in rural India. *N. Engl. J. Med.* 360:1385–1394
13. Cubie H, Cuschieri K, Understanding HPV tests and their appropriate applications, *Cytopathology* 24 (5) (2013) 289–308.
14. Arbyn M, Ronco G, Anttila A, Meijer C, Poljak M, Ogilvie G, Koliopoulos G, Naucler P, Sankaranarayanan R, Peto J, Evidence regarding human papillomavirus testing in secondary prevention of cervical cancer, *Vaccine* 30 (Suppl. 5) (2012) F88–99.
15. Arbyn M, Roelens J, Simoons C, Buntinx F, Paraskevaidis E, Martin-Hirsch P, Prendiville W, Human papillomavirus testing versus repeat cytology for triage of minor cytological cervical lesions, *Cochrane Database Syst. Rev.* (3) (2013)
16. Meijer C, Berkhof J, Castle P, Hesselink A, Franco E, Ronco G, Arbyn M, Bosch F, Cuzick J, Dillner J, Heideman D, Snijders P. 2009. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int.J.Cancer* 124:516–520.
17. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

KAUBAMÄRGID

NeuMoDx™ ja NeuDry™ on ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. kaubamärgid.

Hamilton® on ettevõtte Hamilton Company registreeritud kaubamärk.

PreservCyt® on ettevõtte Hologic, Inc. registreeritud kaubamärk.


SurePath™ on ettevõtte Becton Dickinson (BD) kaubamärk.

Kõik muud tootenimed, kaubamärgid ja registreeritud kaubamärgid, mis võivad esineda selles dokumendis, on nende vastavate omanike omandid.


SÜMBOLITE SELETUSED

R only Ainult retsepti alusel

 Tootja

 *In vitro* diagnostiline meditsiiniseade

 Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses

 Katalooginumber


 Partii kood

 Kasutamise lõppkuupäev


 Temperatuuri piir


 Mitte korduskasutada

 Sisaldab piisavalt <n> testi jaoks

 Vaadake kasutusjuhendit

 Ettevaatust

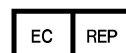
 Bioloogilised ohud

 CE-märgis



NeuMoDx Molecular, Inc.
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, USA

Sponsor (AUS):
QIAGEN Pty Ltd
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148
Australia



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands



Tehniline tugi / järelvalve analüüs: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents