

REF 617007 NeuMoDx™ HPV Test Strip

R only

ATENȚIE: Doar pentru export din S.U.A.

IVD A se utiliza pentru diagnosticarea *in vitro* cu NeuMoDx 288 și NeuMoDx 96 Molecular System

 Versiunea electronică este disponibilă la www.qiaagen.com/neumodx-ifu

Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx 288 Molecular System; Nr.P. 40600108

Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx 96 Molecular System; Nr.P. 40600317

DOMENIUL DE UTILIZARE

NeuMoDx HPV Assay, efectuat pe NeuMoDx 96 Molecular System și NeuMoDx 288 Molecular System (sistemele NeuMoDx System), este o analiză rapidă, automatizată, de diagnosticare *in vitro* și de amplificare a acidului nucleic, bazată pe PCR în timp real, pentru detectarea calitativă a tipurilor de ADN al virusului papiloma uman (Human Papillomavirus, HPV) de mare risc în eșantioane cervicale. În mod specific, testarea identifică HPV16 și HPV18, detectând simultan celelalte tipuri de mare risc (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 și 68) la niveluri de infecții cu relevanță clinică. Eșantioanele cervicale care pot fi testate cu NeuMoDx HPV Assay includ eșantioane cervicale recoltate de clinician folosind un dispozitiv de recoltare de tip perie/măturică, conservate în citologie pe bază de lichid PreservCyt® (HOLOGIC) și SurePath™ (BD). Analiza este destinată utilizării ca testare primară în screeningul femeilor cu vârsta de minimum 21 de ani pentru riscul de (pre)cancer de col uterin pentru a determina necesitatea trimiterii la colposcopie sau alte proceduri de urmărire și ca testare de urmărire pentru femeile cu rezultate la testarea Papanicolau cu celule scuamoase atipice cu semnificație nedeterminată (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) sau cu leziune intraepitelială scuamoasă de grad scăzut (Low-grade Squamous Intra-epithelial Lesion, LSIL) pentru a determina necesitatea trimiterii la colposcopie sau alte proceduri de urmărire. Aceste informații, împreună cu evaluarea medicului asupra istoricului de examene citologice, alți factori de risc și orientări profesionale pot fi utilizate pentru a ghida gestionarea pacienților.

Acest produs este destinat utilizării de către utilizatori profesioniști, cum ar fi tehnicieni și laboranți, care sunt instruiți în procedurile de diagnosticare *in vitro* și în tehnici de biologie moleculară.

REZUMAT ȘI EXPLICAȚII

Cancerul de col uterin și leziunile precursore ale acestuia (neoplazie intraepitelială cervicală (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN)) sunt cauzate de o infecție persistentă cu un tip de virus papiloma uman (Human Papillomavirus, HPV) de mare risc.¹⁻³ Virusurile HPV aparțin familiei Papillomaviridae și sunt mici virusuri cu ADN dublu catenar. Genomul circular are o dimensiune de aproximativ 7,9 kilobaze. Au fost identificate peste 100 de tipuri de HPV, dintre care anumite tipuri de HPV, cunoscute sub denumirea de HPV de mare risc (High-Risk HPV, hrHPV) precum HPV 16 și 18, sunt asociate cu inducerea leziunilor mucoasei care pot progresa până la tumori maligne. Genomul viral conține gene precoce (Early, E) și tardive (Late, L), care codifică proteinele necesare pentru etapele precoce și, respectiv, tardive ale ciclului de viață HPV. Producția genelor E6 și E7 ai tipurilor de hrHPV au proprietăți cancerigene și sunt necesari pentru transformarea malignă a celulei gazdă.⁴ Progresia malignă este adesea asociată cu integrarea virală în genomul celulei gazdă.⁵ Integrarea duce la întreruperea genomului viral într-o regiune care se poate extinde de la E1 până la cadrul de citire deschis L1.⁶ Aceasta poate avea consecințe pentru amplificarea ADN-ului viral mijlocită de PCR în aceste regiuni. Deoarece nu numai inițierea, ci și menținerea fenotipului transformat depind de expresia continuă a oncoproteinelor virale, regiunea virală E6/E7 este păstrată invariabil în genomurile virale integrate din cancerule de col uterin.^{6,7,8}

Cancerul de col uterin este o complicație rară a unei infecții cu HPV; riscul unei infecții cu hrHPV pe timpul vieții este estimat la aproximativ 80%, iar cea mai mare parte a infecțiilor este eliminată de sistemul imunitar gazdă și nu dă naștere la leziuni.⁹ După eliminarea infecției cu HPV, de obicei leziunile CIN regresează.¹⁰

Testarea pentru ADN-ul HPV asigură o mai bună protecție împotriva cancerului de col uterin și a leziunilor sale precursore CIN, în comparație cu analiza citomorfologică (adică frotiu Papanicolau) la probele din colul uterin la screeningul primar la femeile cu vârsta de minimum 30 de ani și în triajul femeilor cu vârsta de minimum 21 de ani cu citologie cervicală ASC-US sau LSIL (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US).¹¹⁻¹⁵ Screeningul cervical primar bazat pe HPV este implementat în mai multe țări la nivel mondial și au fost publicate ghiduri internaționale cu cerințele de testare pentru ADN HPV, pentru depistarea cancerului de col uterin primar.¹⁶ NeuMoDx HPV Assay vizează o regiune conservată din gena E7 a genomului HPV, depășind astfel potențialele rezultate fals-negative la integrarea virală în genomul gazdă.

PRINCIPIILE PROCEDURII

NeuMoDx HPV Assay combină extracția automatizată a ADN-ului și amplificarea/detecția prin PCR în timp real. Eșantioanele cervicale sunt recoltate într-o soluție lichidă pentru examene citologice, apoi transferate într-o eprubetă secundară pentru eșantioane compatibile, marcate cu cod de bare și introduse în NeuMoDx System. NeuMoDx System aspiră automat o parte alicotă din eșantion pentru a o amesteca cu NeuMoDx Lysis Buffer 2 și cu agenții incluși în NeuMoDx Extraction Plate, pentru începerea procesării. NeuMoDx System automatizează și integrează extracția și concentrația de ADN, pregătirea reactivilor și amplificarea/detecția acidului nucleic al secvențelor țintă folosind PCR în timp real. ADN-ul de β-globină (βG), care este prezent în fiecare eșantion recoltat în mod corespunzător, servește ca o substanță de control endogenă pentru procesarea probei și ajută la monitorizarea prezenței substanțelor inhibitoare și a erorilor de sistem, de proces sau de reactiv. După încărcarea eșantionului și a consumabilelor necesare pe NeuMoDx System nu mai este necesară intervenția operatorului.

NeuMoDx System efectuează automat liza, extracția ADN și îndepărtarea inhibitorilor. Acizii nucleici degajați sunt captați de particule paramagnetice. Particulele, împreună cu acidul nucleic legat, sunt încărcate în NeuMoDx Cartridge, unde elementele nelegate sunt spălate cu NeuMoDx Wash Reagent. ADN-ul legat este apoi eluat folosind NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx System utilizează ADN-ul eluat pentru a rehidrata reactivii brevetati de amplificare NeuDry™, care conțin toate componentele necesare pentru 40 de cicluri de amplificare a celor 15 ținte HPV, precum și ținta β-globină. Acest proces permite amplificarea și detecția simultană a țintei și a secvențelor ADN ale substanțelor de control. La reconstituirea reactivilor PCR deshidratați, NeuMoDx System distribuie amestecul pregătit compatibil PCR într-o cameră PCR (pe eșantion) a NeuMoDx Cartridge. Amplificarea și detecția secvențelor substanței de control și ale țintei (dacă există) au loc în camera PCR. NeuMoDx Cartridge este conceput pentru a îngloba ampliconul după PCR, eliminând practic riscul contaminării post-amplificare.

Țintele amplificate sunt detectate în timp real, utilizând chimia sondei de hidroliză (denumită în mod popular drept chimie TaqMan®), utilizând molecule depistate cu sonda de testare fluorogenică specifică oligonucleotidelor, specifică ampliconilor țintelor respective. Sondele TaqMan constau în fluorofor legat covalent de capătul 5' al tulpinii sondei specifice oligonucleotidelor și într-o substanță extincătoare de fosforescență la capătul 3'. Deși sonda este intactă, fluoroforul și substanța extincătoare de fosforescență sunt în apropiere, ceea ce face ca molecula de substanță extincătoare de fosforescență să suprimă fluorescența emisă de fluorofor prin transfer de energie Förster rezonantă (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Sondele TaqMan sunt destinate temperaturii într-o regiune ADN amplificată printr-un set specific de soluții de amorsare. Pe măsură ce Taq ADN-polimeraza extinde soluția de amorsare și sintetizează noua tulpină, activitatea exonucleazică 5'-3' a Taq ADN-polimerazei degradează sonda care a fost temperată la șablon. Degradarea sondei degajă fluorofor și își întrerupe proximitatea față de substanța extincătoare de fosforescență, astfel prevenind efectul de temperare cauzat de FRET și permițând detecția fluoroforului. Semnalul fluorescent rezultat, detectat în ciclul termic pentru PCR NeuMoDx System este direct proporțional cu fluoroforul degajat și poate fi corelat cu cantitatea prezentă de țintă.

Pentru detectarea HPV 16 (470/510 nm), HPV 18 (625/660 nm) și a restului de tipuri de mare risc (High-Risk, HR) semnificativ din punct de vedere clinic („HPV Other” (Altă tulpină de HPV); 530/555 nm), sunt utilizate o sondă TaqMan etichetată cu un fluorofor la capătul 5' și o substanță extincătoare de fosforescență de culoare închisă la capătul 3'. Pentru detectarea β-globinei, sonda TaqMan este etichetată cu o vopsea fluorescentă alternativă (585/610 nm) la capătul 5' și cu o substanță extincătoare de fosforescență de culoare închisă la capătul 3'. Software-ul sistemului NeuMoDx System monitorizează semnalul fluorescent emis de sondele TaqMan la sfârșitul fiecărui ciclu de amplificare. Când amplificarea este completă, software-ul NeuMoDx System analizează datele și raportează un rezultat (POSITIVE (POZITIV)/NEGATIVE (NEGATIV)/INDETERMINATE (NECONCLUDENT)/UNRESOLVED (NEREZOLVAT)/NO RESULT (NICIUN REZULTAT)).

REACTIVI/CONSUMABILE

Materiale furnizate

REF	Conținut	Unități per pachet	Teste per unitate	Teste per pachet
617007	NeuMoDx HPV Test Strip Reactivi PCR deshidratați care conțin sonda și soluțiile de amorsare TaqMan® specifice HPV și βG	6	16	96

Materiale necesare, dar nefurnizate (disponibile separat de la NeuMoDx)

REF	Conținut
100200	NeuMoDx Extraction Plate Particule paramagnetice deshidratate, enzime litice și substanță de control β-globină
400500	NeuMoDx Lysis Buffer 2
401600	NeuMoDx Viral Lysis Buffer*
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton® CO-RE / CO-RE II Tips (300 μL) with Filters
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (1000 μL) with Filters

*Necesar pentru procesarea probelor SurePath pre-tratate

Instrumentar necesar

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

AVERTISMENTE ȘI PRECAUȚII

- NeuMoDx HPV Test Strip este destinată exclusiv diagnosticării *in vitro* cu sistemele NeuMoDx System.
- Nu utilizați reactivii sau consumabilele după data de expirare menționată.
- Nu utilizați reactivii în cazul în care sigiliul de siguranță este rupt sau dacă ambalajul este deteriorat la sosire.
- Nu utilizați consumabilele sau reactivii dacă pungă de protecție este deschisă sau ruptă la sosire.
- Volumul minim al eșantionului pentru părți alicote secundare depinde de dimensiunea eprubetei/suportul eprubetelor pentru eșantioane, conform definiției de mai jos. Volumul sub minimul specificat poate duce la o eroare „Quantity Not Sufficient” (Cantitate insuficientă).
- Utilizarea eșantioanelor depozitate la temperaturi improprie sau în afara timpilor de depozitare specificați poate produce rezultate nevalide sau eronate.
- Pe sistemele NeuMoDx Molecular System pot fi utilizate exclusiv eșantioane SurePath pre-tratate cu Viral Lysis Buffer. Eșantioanele pure pot genera rezultate nevalide sau sub nivelul optim.
- S-a observat o evaporare de până la 20% a eșantionului în studiile de validare efectuate pentru a evalua stabilitatea eșantionului pe sistem datorată volatilității ridicate a mediului de recoltare PreservCyt. Acest lucru nu este de așteptat să afecteze negativ rezultatele probelor, dar trebuie luat în considerare la pregătirea probelor pentru procesarea cu întârziere. Nu s-a observat o evaporare semnificativă la eșantioanele SurePath pre-tratate.
- Evitați contaminarea microbiană și deoxiribonucleică (DNază) a tuturor reactivilor și consumabilelor. La utilizarea eprubetelor secundare, se recomandă folosirea pipetelor de transfer sterile de unică folosință, fără DNază. Utilizați câte o pipetă nouă pentru fiecare eșantion.
- Pentru a evita contaminarea nu manipulați și nu desfaceți niciun cartuș NeuMoDx Cartridge după amplificarea. În niciun caz nu recuperați cartușele NeuMoDx Cartridge din recipientul pentru deșeuri biopericuloase (NeuMoDx 288 Molecular System) sau din coșul de gunoi pentru deșeuri biopericuloase (NeuMoDx 96 Molecular System). NeuMoDx Cartridge este conceput pentru a preveni contaminarea.
- În cazurile în care testările PCR cu eprubete deschise sunt realizate în laborator, aveți grijă să vă asigurați că NeuMoDx HPV Test Strip, consumabilele și reactivii suplimentari necesari pentru testare, echipamentul individual de protecție, precum mănuși și halate de laborator, și NeuMoDx System nu sunt contaminate.
- În timpul manipulării reactivilor și a consumabilelor NeuMoDx trebuie purtate mănuși curate din nitril, fără pulbere. Aveți grijă să nu atingeți suprafața superioară a NeuMoDx Cartridge, suprafața de etanșare cu folie a NeuMoDx HPV Test Strip și NeuMoDx Extraction Plate, ori suprafața superioară a NeuMoDx Lysis Buffer 2; manipularea consumabilelor și a reactivilor trebuie făcută doar prin atingerea suprafețelor laterale.
- Fișele cu date de securitate (Safety Data Sheet, SDS) sunt puse la dispoziție pentru fiecare reactiv (după caz), la www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Spălați-vă bine pe mâini după efectuarea testării.
- Nu pipetați prin intermediul cavității bucale. Nu fumați, nu consumați băuturi sau alimente în zonele în care se manipulează eșantioane sau reactivi.
- Manipulați întotdeauna eșantioanele ca și cum ar fi infecțioase și în conformitate cu procedurile sigure de laborator, cum ar fi cele descrise în *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁷ și în Documentul CLSI M29-A4.¹⁸
- Eliminați reactivii nefolosiți și deșeurile în conformitate cu reglementările naționale, federale, regionale, statale și locale.
- A nu se reutiliza.

DEPOZITAREA, MANIPULAREA ȘI STABILITATEA PRODUSULUI

- Bandelele NeuMoDx HPV Test Strip sunt stabile în ambalajul primar până la data de expirare menționată pe eticheta aplicată direct pe produs, dacă sunt depozitate la o temperatură cuprinsă între 15 și 23 °C.
- Nu reîncărcați niciun produs de testare care a fost încărcat anterior pe un *alt* NeuMoDx System.
- Odată încărcată, NeuMoDx HPV Test Strip poate rămâne pe NeuMoDx System timp de 14 zile. Termenul de valabilitate rămas al bandelelor de testare încărcate este urmărit de software și raportat utilizatorului în timp real. Eliminarea unei bandelete de testare care a fost utilizată după perioada admisibilă va fi solicitată de sistem.

RECOLTAREA, MANIPULAREA, DEPOZITAREA ȘI TRANSPORTUL EȘANTIOANELOR

1. NeuMoDx HPV Assay este destinat utilizării cu probe obținute din eșantioane cervicale. Mediile de recoltare validate pentru eșantioane cervicale sunt PreservCyt și SurePath. Urmați instrucțiunile producătorului dispozitivului de recoltare a eșantioanelor pentru pregătire și depozitare.
2. Eșantioanele SurePath trebuie pre-tratate înainte de utilizare, în conformitate cu instrucțiunile specifice de mai jos.
3. **Probele refrigerate trebuie să fie acclimatizate la temperatura camerei timp de cel puțin 30 de minute înainte de procesare, pentru o performanță adecvată a sistemului.**

4. Eșantioanele cervicale pregătite pot fi depozitate pe NeuMoDx System timp de până la 24 ore înainte de procesare. Dacă este necesar un timp suplimentar de depozitare, se recomandă ca eșantioanele să fie depozitate în conformitate cu următoarele condiții:

Eșantioane cervicale în PreservCyt:

- a. Până la 6 săptămâni după prelevarea probelor dacă sunt păstrate la 15-25 °C
- b. Până la 3 luni după prelevarea probelor dacă sunt păstrate la 2-8 °C
- c. Până la 8 ani, dacă sunt depozitate -80 °C. Dacă eșantioanele sunt congelate, lăsați-le să se decongeleze complet la temperatura camerei (15-30 °C) și vortexați pentru a genera o probă cu distribuție uniformă.

Eșantioane cervicale în SurePath:

- a. Până la 30 de zile după prelevarea probelor dacă sunt păstrate la 2-30 °C
- b. Până la 180 de zile după prelevarea probelor dacă sunt păstrate la 2-8 °C
- c. Până la 180 de zile, dacă sunt păstrate la -20 °C. Dacă eșantioanele sunt congelate, lăsați-le să se decongeleze complet la temperatura camerei (15-30 °C) și vortexați pentru a genera o probă cu distribuție uniformă.

5. Dacă eșantioanele sunt expediate, acestea trebuie să fie ambalate și etichetate în conformitate cu reglementările naționale ale țării respective și/sau cu reglementările internaționale.
6. Etichetați clar eșantioanele și indicați faptul că acestea sunt dedicate testării HPV.

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

Pregătirea testării – PRESERVCYT

1. Aplicați eticheta cu cod de bare a eșantionului pe o eprubetă pentru eșantioane compatibile cu NeuMoDx System.
2. Amplașați eprubeta cu cod de bare într-un suport de eprubete pentru eșantioane și asigurați-vă că ați scos capacul înainte de încărcarea pe NeuMoDx System.
3. Alicotați eșantionul conform volumelor definite mai jos pentru probele în **PreservCyt**:
 - Suport de eprubete pentru eșantioane (32 de eprubete): diametru cuprins între 11 și 14 mm și înălțime cuprinsă între 60 și 120 mm; volumul minim de umplere = 400 μl
 - Suport de eprubete pentru eșantioane (24 de eprubete): diametru cuprins între 14,5 și 18 mm și înălțime cuprinsă între 60 și 120 mm; volumul minim de umplere = 850 μl
 - Suport de eprubete cu volum redus pentru eșantioane (32 de eprubete): Eprubetă de 1,5 ml cu fundul conic, pentru microcentrifugă; volumul minim de umplere = 250 μl

Pregătirea testării – SUREPATH

1. Pre-tratați eșantionul SurePath cu un volum 1:1 de NeuMoDx Viral Lysis Buffer și amestecați temeinic. Utilizați volumul corespunzător pentru a obține volumul minim al eșantionului, conform definiției de mai jos.
2. Incubați la 90 °C timp de 20 de minute, apoi aclimatizați la temperatura camerei înainte de a continua.
3. Aplicați eticheta cu cod de bare a eșantionului pe o eprubetă pentru eșantioane compatibile cu NeuMoDx System.
4. Amplașați eprubeta cu cod de bare într-un suport de eprubete pentru eșantioane și asigurați-vă că ați scos capacul înainte de încărcarea pe NeuMoDx System.
5. Alicotați eșantionul conform volumelor definite mai jos pentru probele în **SurePath**:
 - Suport de eprubete pentru eșantioane (32 de eprubete): diametru cuprins între 11 și 14 mm și înălțime cuprinsă între 60 și 120 mm; volumul minim de umplere = 450 μl
 - Suport de eprubete pentru eșantioane (24 de eprubete): diametru cuprins între 14,5 și 18 mm și înălțime cuprinsă între 60 și 120 mm; volumul minim de umplere = 800 μl
 - Suport de eprubete cu volum redus pentru eșantioane (32 de eprubete): Eprubetă de 1,5 ml cu fundul conic, pentru microcentrifugă; volumul minim de umplere = 300 μl

Utilizarea NeuMoDx System

Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx 288 și 96 Molecular System (Nr.P. 40600108 și 40600317)

1. Încărcați comanda de testare pe NeuMoDx System în conformitate cu tipul de eșantion dorit.
 - Probele în PreservCyt sunt testate prin definirea eșantionului ca „Cytology” (Citologie).
 - Probele pretratate în SurePath sunt testate prin definirea eșantionului ca „UserSpecified1”.

Dacă nu este definit în comanda de testare, tipul de eșantion în PreservCyt va fi folosit implicit.

2. Populați unul sau mai multe suporturi NeuMoDx System Test Strip Carrier cu bandelele NeuMoDx HPV Test Strip și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suporturilor pentru bandelele de testare în NeuMoDx System.
3. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx System, adăugați consumabilele necesare în suporturile de consumabile NeuMoDx System și folosiți ecranul tactil pentru încărcarea suporturilor în NeuMoDx System.

4. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx System, înlocuiți NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, goliți deșeurile de amorsare, recipientul pentru deșuri biopericuloase (doar la NeuMoDx 288 Molecular System), coșul de gunoi pentru aruncarea vârfurilor (doar la NeuMoDx 96 Molecular System) sau coșul de gunoi pentru deșuri biopericuloase (doar la NeuMoDx 96 Molecular System), după caz.
5. Încărcați eprubeta (eprubetele) pentru eșantioane într-un suport de eprubete pentru eșantioane și asigurați-vă că ați scos capacele din toate eprubetele.
6. Amplasați suportul (suporturile) de eprubete pentru eșantioane pe raftul încărcătorului automat și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suportului (suporturilor) în NeuMoDx System. Această acțiune va iniția procesarea eșantioanelor încărcate pentru testările identificate, cu condiția ca în sistem să existe o comandă de testare validă.

LIMITĂRI

1. NeuMoDx HPV Test Strip poate fi utilizată doar pe sistemele NeuMoDx System.
2. Performanța NeuMoDx HPV Test Strip a fost stabilită pentru utilizarea cu probe obținute din eșantioane cervicale (răzuite) în PreservCyt, SurePath sau medii citologice echivalente. Nu a fost evaluată utilizarea NeuMoDx HPV Test Strip împreună cu alte surse, iar caracteristicile de performanță sunt necunoscute pentru alte tipuri de eșantioane sau medii de recoltare.
3. Pe sistemele NeuMoDx Molecular System pot fi utilizate exclusiv eșantioane SurePath pre-tratate cu Viral Lysis Buffer. Eșantioanele pure pot genera rezultate nevalide sau sub nivelul optim.
4. Deoarece detecția HPV depinde de cantitatea de țesut prezentă în probă, rezultatele de încredere depind de recoltarea, manipularea și depozitarea adecvate ale eșantioanelor.
5. Rezultatele eronate pot apărea din recoltarea, manipularea și depozitarea inadecvate ale eșantioanelor, din erori tehnice sau din confundarea eprubetelor pentru eșantioane. În plus, pot apărea rezultate fals negative din cauză că numărul de particule virale din probă este sub limita de detecție a NeuMoDx HPV Assay.
6. Utilizarea sistemului NeuMoDx System se limitează la utilizarea de către personalul instruit în utilizarea NeuMoDx System.
7. Dacă țintele HPV și ținta β -globină nu se amplifică, va fi raportat un rezultat nevalid (Indeterminate (Neconcludent), No Result (Niciun rezultat) sau Unresolved (Nerezolvat)), iar testarea trebuie repetată.
8. Un rezultat pozitiv nu indică neapărat prezența virusului HPV viabil. Cu toate acestea, un rezultat pozitiv presupune prezența ADN-ului HPV.
9. Delețiile sau mutațiile din regiunile conservate vizate de NeuMoDx HPV Assay pot afecta detecția și pot duce la un rezultat eronat.
10. Rezultatele obținute din NeuMoDx HPV Assay trebuie utilizate ca anexe la observațiile clinice și la alte informații disponibile medicului.
11. Bunele practici de laborator, inclusiv schimbarea mănușilor între manipulările eșantioanelor pacienților, se recomandă pentru evitarea contaminării.

PROCESAREA REZULTATELOR

Rezultatele disponibile pot fi vizualizate sau tipărite din fila „Results” („Rezultate”) în fereastra Results (Rezultate) pe ecranul tactil al NeuMoDx System. Rezultatele NeuMoDx HPV Assay sunt generate automat de software-ul sistemului NeuMoDx System utilizând algoritmul de decizie și parametrii de procesare a rezultatelor specificați în fișierul de definiție a testului NeuMoDx HPV (HPV ADF). Un rezultat al NeuMoDx HPV Assay poate fi raportat ca Negative (Negativ), Positive (Pozitiv), Indeterminate (Neconcludent) (IND), No Result (Niciun rezultat) (NR) sau Unresolved (Nerezolvat) (UNR), în funcție de stadiul de amplificare al țintelor și al substanței de control pentru procesarea probei. Rezultatele sunt raportate pe baza algoritmului de decizie ADF, sintetizate mai jos în *Tabelul 1*.

Au fost stabilite pragurile Ct pentru fiecare țintă în parte, acestea fiind prezentate în *Tabelul 2* de mai jos pentru corelare cu relevanța clinică a analizei. Pot exista scenarii în care se observă o curbă de amplificare a țintei, dar este raportat un rezultat Negative (Negativ). Această raportare este în concordanță cu procesarea rezultatelor și cu criteriile de prag validate de NeuMoDx.

Rezultatele raportate de NeuMoDx HPV Test trebuie evaluate de medic în contextul altor concluzii.

Tabelul 1. Sumarul algoritmului de decizie al analizei HPV

REZULTAT	HPV 16	HPV 18	Altă tulpină de HPV	SUBSTANȚĂ DE CONTROL PENTRU PROCESARE (βG)
POSITIVE (POZITIV)	AMPLIFIED (AMPLIFICAT)	N/A^ (Nu se aplică^)	N/A^ (Nu se aplică^)	N/A^ (Nu se aplică^)
POSITIVE (POZITIV)	N/A^ (Nu se aplică^)	AMPLIFIED (AMPLIFICAT)	N/A^ (Nu se aplică^)	N/A^ (Nu se aplică^)
POSITIVE (POZITIV)	N/A^ (Nu se aplică^)	N/A^ (Nu se aplică^)	AMPLIFIED (AMPLIFICAT)	N/A^ (Nu se aplică^)
NEGATIVE (NEGATIV)	NOT AMPLIFIED (NEAMPLIFICAT)	NOT AMPLIFIED (NEAMPLIFICAT)	NOT AMPLIFIED (NEAMPLIFICAT)	AMPLIFIED (AMPLIFICAT)
IND (NECONCLUDENT)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Completed (Neamplificat, Eroare de sistem detectată, Procesarea probelor finalizată)			
IND/NR* (NECONCLUDENT/NICIUN REZULTAT)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Neamplificat, Eroare de sistem detectată, Procesarea probelor abandonată)			
UNR (NEREZOLVAT)	NOT AMPLIFIED, No System Errors Noted (NEAMPLIFICAT, Nu s-au observat erori de sistem)			

* Semnalizarea No Result (Niciun rezultat) este raportată doar în software-ul NeuMoDx System versiunile 1.8 și mai recente.

^ N/A = Nu se aplică

Tabelul 2. Valorile Ct de prag pentru rezultate Positive (Pozitiv)

REZULTAT	HPV 16	HPV 18	Altă tulpină de HPV	SUBSTANȚĂ DE CONTROL PENTRU PROCESARE (βG)
POSITIVE (POZITIV)	33	33	30	Nu se aplică*

* N/A = Nu se aplică

Controlul calității

Reglementările locale specifică de obicei faptul că laboratorul este responsabil pentru procedurile de control care monitorizează acuratețea și precizia procesului analitic complet, și trebuie să stabilească numărul, tipul și frecvența testării materialelor de control utilizând specificații de performanță verificate pentru un sistem de testare aprobat și nemodificat.

Substanțe de control (externe) definite de utilizator

- Laboratorul trebuie să aleagă și să valideze substanțele de control adecvate definite de utilizator, în conformitate cu recomandările locale. Rețineți că substanțele de control definite de utilizator trebuie să îndeplinească aceleași specificații de volum minim ca probele clinice specificate mai sus, pe baza dimensiunii suportului de eprubete pentru eșantioane.
- La procesarea substanțelor de control definite de utilizator, amplasați substanțele de control etichetate într-un suport de eprubete pentru eșantioane și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suportului în NeuMoDx System din raftul încărcătorului automat. Odată definite, NeuMoDx System va recunoaște codurile de bare și va începe procesarea substanțelor de control.
- Se recomandă ca utilizatorii să proceseze un set de substanțe de control definite de utilizator pozitive și negative la fiecare 24 de ore.
- Un rezultat pozitiv al testării raportat pentru o probă cu substanță de control negativă definită de utilizator poate indica o problemă de contaminare a eșantionului. Consultați Manualul de operare NeuMoDx 288 sau 96 Molecular System pentru sfaturi privind remedierea problemelor.
- Un rezultat negativ raportat pentru o probă cu substanță de control pozitivă definită de utilizator poate indica faptul că există o problemă legată de reactiv sau de NeuMoDx System. Consultați Manualul de operare NeuMoDx 288 sau 96 Molecular System pentru sfaturi privind remedierea problemelor.

Substanță de control (internă) pentru procesarea probei

β -globina (β G) servește ca substanță de control internă endogenă, deoarece este prezentă în recoltări cervicale corespunzătoare. Ținta β G trece prin întregul proces de extracție a acidului nucleic și de amplificare PCR în timp real cu fiecare probă și funcționează, de asemenea, ca o verificare a calității probei. Soluțiile de amorsare și sonda specifice β G sunt incluse în fiecare NeuMoDx HPV Test Strip, împreună cu soluțiile de amorsare și sondele pentru țintele HPV multiple, permițând detecția β G împreună cu ADN-ul HPV țintă (dacă există) prin PCR multiplex. Detecția amplificării β G îi permite software-ului sistemului NeuMoDx System să monitorizeze eficacitatea proceselor de recoltare a eșantioanelor, extracție ADN și amplificare PCR.

Substanțe de control pentru sistemele NeuMoDx System

Sistemele NeuMoDx System execută diferite substanțe de control interne pentru instrument, după cum urmează:

- Înainte de PCR, NeuMoDx System efectuează automat „FILL CHECK” (VERIFICAREA UMLERII) pentru a se asigura că camera PCR este umplută cu soluție și conține o cantitate adecvată de sondă fluorescentă.
- Software-ul NeuMoDx System monitorizează continuu senzorii și mecanismele de acționare de pe instrument pentru a asigura o funcționare sigură și eficientă a sistemului.
- Modurile de recuperare a erorilor fluidice multiple sunt implementate prin monitorizarea activă a operațiunilor de aspirare și de distribuire pentru a se asigura faptul că sistemul poate procesa complet toate probele într-un mod sigur și eficient, sau poate furniza un cod de eroare adecvat.
- NeuMoDx System este echipat cu funcția automată Rerun/Repeat (Repetarea execuției/Repetare) pe care utilizatorul final poate alege să o utilizeze pentru a se asigura că un rezultat INVALID (NEVALID) este reprocesat automat pentru a reduce la minimum întârzierile în raportarea rezultatelor.

Rezultate nevalide

Dacă o analiză NeuMoDx HPV Assay efectuată pe NeuMoDx System nu produce un rezultat valid, aceasta va fi raportată fie ca Indeterminate (Neconcludent) (IND), Unresolved (Nerezolvat) (UNR) sau No Result (Niciun rezultat) (NR), în funcție de tipul erorii survenite.

Un rezultat IND (Neconcludent) va fi raportat dacă este detectată o eroare NeuMoDx System în timpul procesării probelor. În cazul în care este raportat un rezultat IND (Neconcludent), se recomandă repetarea testării.

Un rezultat UNR (Nerezolvat) va fi raportat dacă nu este detectată nicio amplificare validă a ADN-ului HPV sau a β G, ceea ce indică posibila eșec al reactivului sau prezența inhibitorilor. Dacă este raportat un rezultat UNR (Nerezolvat), se recomandă repetarea testării, ca prim pas. Dacă repetarea testării eșuează, poate fi folosită o diluție a eșantionului pentru a atenua efectele oricărei inhibări a probei.

Un rezultat NR (Niciun rezultat) va fi raportat dacă procesarea probei este abandonată din cauza unei erori de sistem. Dacă este raportat un rezultat NR (Niciun rezultat), se recomandă repetarea testării. Această semnalizare este raportată doar în software-ul NeuMoDx System versiunile 1.8 și mai recente. În versiunile mai vechi ale software-ului, această eroare este raportată ca IND (Neconcludent).

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ

Sensibilitate analitică

Limita de detecție (Limit of Detection, LoD) a fost determinată folosind o serie de diluție serială de triplu gBlock (blocuri de ADN genomic dublu catenar), care conține regiunea amplicon din fiecare dintre tipurile de HPV vizate (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68) și β -globină. Fiecare serie de diluție de câte șase niveluri a fost pregătită pe o bază de 2.000 ng/ml ADN uman (cu excepția β -globinei) și concentrația a fost testată de 45 de ori. Rezultatele studiului în care s-a determinat LoD folosind analiza ratei de succes de 95% sunt prezentate în *Tabelul 3* de mai jos.

Tabelul 3. Limita de detecție (Limit of Detection, LoD) a NeuMoDx HPV Assay pentru 15 tipuri de hrHPV și gena β -globină

Țintă	Limită de detecție (copii/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 -globină	74.074

Specificitatea analitică

Specificitatea analitică a NeuMoDx HPV Assay a fost determinată pe baza ADN-ului genomurilor nevazate de HPV (*Tabelul 4*) la 1×10^6 copii/ml și pe baza microorganismelor vaginale potențial patogene prezentate în *Tabelul 5* la 1×10^6 UFC/ml sau 1×10^5 UFP/ml. Analiza nu a prezentat reactivitate încrucișată cu tipurile de HPV nevazate 6, 11, 26, 30, 34, 53, 69, 73, 82, 85 sau cu microorganismele. Rezultatele „HPV Other” (Altă tulpină de HPV) pozitive au fost observate cu HPV 70 – probabil din cauza omologiei ridicate a secvențelor între tipurile 39, 68 și 70 – iar un studiu cu titrare ulterioară a indicat că acest tip ar putea fi detectat la $\geq 4,12 \times 10^6$ copii/ml. HPV 70 este considerat probabil cancerigen pe baza studiilor epidemiologice, filogenetice și funcționale.

Tabelul 4. Tipuri de HPV nevizate evaluate pentru reactivitate încrucișată

Genotipuri nevizate de HPV	
HPV 6	HPV 69
HPV 11	HPV 70
HPV 26	HPV 73
HPV 30	HPV 82
HPV 34	HPV 85
HPV 53	

Tabelul 5. Microorganisme evaluate pentru reactivitate încrucișată

Microorganism		
Adenovirus*	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	Virusul Epstein-Barr	<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>	Virusul Herpes Simplex 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	Virusul Herpes Simplex 2	<i>Staphylococcus faecalis</i>
<i>Corynebacterium spp.</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Staphylococcus pyogenes</i>
Citomegalovirus	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
<i>Treponema pallidum**</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	

* testat la 1×10^5 (TCID₅₀)/ml

**efectuat prin analiză *in silico*

Reproductibilitate analitică

Reproductibilitatea analitică a NeuMoDx HPV Assay a fost evaluată folosind același set de date utilizat la studiul limitei de detecție. Probele au fost testate la 3X LoD pe 3 sisteme NeuMoDx Molecular System diferite, 1 sistem N288 și 2 sisteme N96 folosind 3 loturi diferite de NeuMoDx HPV Test Strip. Datele au demonstrat o reproductibilitate excelentă la nivel global, cu CV maxim de 3,0% pentru fiecare dintre genotipurile testate, așa cum se arată în *Tabelul 6*. În plus, acest set de date a fost utilizat pentru a demonstra reproductibilitatea între loturi de reactivi și sisteme, așa cum se arată în *Tabelul 7*.

Tabelul 6. Genotipuri de hrHPV testate

Țintă	Concentrația țintei	copii/ml	Rată de succes	CV global
β-globină	3X 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%

Tabelul 7. Reproducibilitate între loturi și între sisteme

Țintă	CV variabilitate lot			CV variabilitate sistem		
	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Sistem 1 (N96)	Sistem 2 (N288)	Sistem 3 (N96)
β-globină	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%

Substanțe de interferență

Probele create de PreservCyt au fost îmbogățite cu un baculovirus recombinant care încorporează regiuni amplicon de HPV 16, 18, 51 și β-globină la 1000 de copii/ml și substanțele enumerate în *Tabelul 8*. Niciunul dintre agenți nu a avut un efect inhibitor semnificativ asupra performanței analizei.

Tabelul 8. Substanțe cu potențial de interferență testate

	Substanță	Concentrație
Endogenă	Sânge integral (uman)	1% (v/v)
	Leucocite	10 ⁶ celule/ml
	Mucină	1% (v/v)
Exogenă	Gel de duș	1% (v/v)
	Cremă antifungică	1% (m/v)
	Spermicid	1% (m/v)
	Lubrifiant vaginal	1% (m/v)
	Spray pentru igienă feminină	1% (v/v)
	Spumă contraceptivă	1% (m/v)

Stabilitatea probei pe instrument

Substanța de control pentru baculovirus recombinant, care conține țintele pentru HPV 16, 18, 51 și β-globină, a fost îmbogățită la ~3x LOD copii/ml în mediu de recoltare SurePath sau PreservCyt, fiind apoi procesată utilizând NeuMoDx HPV Assay. La finalul procesării, toate eprubetele pentru eșantioane pozitive și negative au fost lăsate pe masa de lucru a sistemului timp de 4, 8 și 24 de ore, apoi testate din nou. Rezultatul preconizat la toate momentele a fost POSITIVE (POZITIV) pentru toate eșantioanele citologice îmbogățite cu țintă și NEGATIVE (NEGATIV) (pentru toate țintele) în eșantioanele citologice care nu au fost îmbogățite cu ținta. La momentul de 24 de ore s-a observat o concordanță absolută cu rezultatul preconizat, demonstrând o stabilitate pe aparat de 24 de ore, pentru testarea cu NeuMoDx HPV Assay. Rezultatele sunt sintetizate în *Tabelul 9* de mai jos. Probele în PreservCyt au suferit o evaporare de 20 % în timpul păstrării pe sistem pentru 24 de ore, dar acest aspect nu a afectat detecția țintelor la nivelul testat.

Tabelul 9. Sumarul datelor privind stabilitatea probei pe instrument

Stabilitatea pe instrument a eșantioanelor	Țintă	PreservCyt		SurePath	
		T ₀	24 h	T ₀	24 h
		% Acord	% Acord	% Acord	% Acord
Set Positive (Pozitiv)	HPV 16	100%	100%	100%	100%
	HPV 18	100%	100%	100%	100%
	Altă tulpină de HPV	100%	100%	100%	100%
	β-globină	100%	100%	100%	100%
Set Negative (Negativ)	Negative (negativ) (exclusiv β-globină)	100%	100%	100%	100%

Performanța clinică – mediul de recoltare PreservCyt

Sensibilitatea și specificitatea clinice ale NeuMoDx HPV Assay pentru neoplazia intraepitelială cervicală de gradul 2 sau superior (CIN2+) la eșantioane cervicale recoltate în PreservCyt au fost evaluate printr-o analiză de non-inferioritate în raport cu analiza de referință (adică HPV GP5+/6+-PCR- EIA de mare risc) urmând îndrumările internaționale pentru cerințele de testare HPV pentru screeningul cancerului de col uterin.¹⁶ Folosind un format de studiu de caz de control, au fost testate 67 de probe la femei de peste 30 de ani cu CIN2+ confirmat histologic (cazuri; *Tabelul 10*). Pentru specificitatea clinică au fost testate 823 probe recoltate de citologie pe bază de lichid, de la populația de screening a femeilor cu citologie normală și fără dovezi de CIN2+ în decurs de 2 ani de urmărire (controale). Rata de reușită globală cu NeuMoDx HPV Assay a fost de 99,4% (818/823), așa cum se arată în *Tabelul 11*. Sensibilitatea clinică a NeuMoDx HPV Assay pentru CIN2+ a fost de 92,5% (62/67; ÎI 95% 83,3-96,9), iar specificitatea clinică pentru CIN2+ a fost de 95,6% (782/818; ÎI 95% 92,2-97,6), cele două nefiind inferioare celor din analiza de referință GP5+/6+-PCR-EIA ($P = 0,02$ și, respectiv, $P < 0,0001$).

Tabelul 10. Rezultatele sensibilității clinice pentru probele recoltate de la femei cu vârsta de 30+ ani cu CIN2+ confirmat

Testare de referință	NeuMoDx HPV Assay		
	POZ	NEG	TOTAL
POZ	61	2	63
NEG	1	3	4
TOTAL	62	5	67
Sensibilitate clinică NeuMoDx HPV Assay: 92,5% (ÎI 95% 83,3-96,9)			

Tabelul 11. Rezultatele specificității clinice pentru probele recoltate de la femei cu citologie normală și fără CIN2+ confirmat

Testare de referință	NeuMoDx HPV Assay		
	POZ	NEG	TOTAL
POZ	28	19	47
NEG	8	763	771
TOTAL	36	782	818
Specificitate clinică NeuMoDx HPV Assay: 95,6% (ÎI 95% 92,2-97,6)			

Pentru femeile cu vârsta sub 30 de ani, au fost testate 173 de probe de citologie pe bază de lichide de la femeile care frecventează un ambulatoriu. Rata de reușită a NeuMoDx HPV Assay a fost de 98,3% (170/173) (*Tabelul 12*). Sensibilitatea CIN3+ a NeuMoDx HPV Assay a fost de 91,1% (41/45; ÎI 95% 78,6-96,6) și specificitatea CIN3+ a fost de 51,2% (64/125; ÎI 95% 42,5-60,0). Valorile relative pentru sensibilitate și specificitate în comparație cu QIAScreen HPV PCR Test au fost 1,03 și, respectiv, 1,10.

Tabelul 12. Performanța NeuMoDx HPV Assay la femeile cu vârsta < 30 ani diferențiată după histologie și QIAScreen HPV PCR Test

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

La femeile cu ASC-US sau LSIL, sensibilitatea clinică pentru CIN2+ a fost de 91,7% (11/12; ÎI 95% 58,7-98,8), iar specificitatea clinică pentru CIN2+ a fost de 75,0% (15/20; ÎI 95% 52,2-89,2) (Tabelul 13).

Tabelul 13. Performanța NeuMoDx HPV Assay la femeile cu citologie ASC-US/LSIL diferențiată după histologie și rezultatul testării de referință

Histologie	Analiză de referință	NeuMoDx HPV Assay		
		NEG	POZ	TOTAL
<=CIN1	NEG	13	-	13
	POZ	2	5	7
	TOTAL	15	5	20
CIN2	NEG	-	-	-
	POZ	-	6	6
	TOTAL	-	6	6
CIN3+	NEG	1	-	1
	POZ	-	5	5
	TOTAL	1	5	6
GLOBAL	NEG	14	-	14
	POZ	2	16	18
	TOTAL	16	16	32

Performanța clinică – mediul de recoltare SurePath

S-au determinat sensibilitatea și specificitatea clinice ale NeuMoDx HPV Assay pentru detecția CIN2+, utilizând 948 de eșantioane din răzuiri cervicale recoltate în mediul de recoltare SurePath, folosind un format de studiu de caz de control. S-au determinat sensibilitatea și specificitatea relative pentru CIN2+ aferente NeuMoDx HPV Assay comparativ cu o analiză de referință validată clinic (adică o analiză de determinare a riscului de HPV), pe baza metodei statistice a unei „testări a scorului de non-inferioritate”.

Sensibilitatea clinică s-a determinat utilizând 106 probe de la femei diagnosticate cu starea CIN2+ confirmată histologic (cazuri). Vârsta medie a femeilor a fost de 38 de ani (intervalul 30-58). Sensibilitatea NeuMoDx HPV Assay s-a determinat a fi de 92,5 % (98/106; ÎI 95 %: 85,6-96,2), egală cu cea a analizei de referință de determinare a riscului de HPV (Tabelul 14). Sensibilitatea relativă a NeuMoDx HPV Assay comparată cu cea a analizei de determinare a riscului de HPV a fost 1,00, cu o valoare a testării scorului de non-inferioritate P=0,0009.

Specificitatea clinică s-a determinat pe baza a 842 de probe de citologie pe bază de lichide (liquid-based cytology, LBC) (SurePath) recoltate prin screeningul populației de femei cu citologie normală și fără dovezi de CIN2+ într-o perioadă de 2 ani de monitorizare. Vârsta medie a femeilor a fost de 43 de ani (intervalul 30-59) și 98,6 % (935/948) dintre probe au fost valide la testare. Specificitatea NeuMoDx HPV Assay a fost de 93,5 % (775/829; ÎI 95 %: 91,6-95,0), iar cea a analizei de referință de determinare a riscului de HPV a fost de 91,9 % (762/829; ÎI 95 %: 89,9-93,6) (Tabelul 15). Specificitatea relativă a NeuMoDx HPV Assay comparată cu cea a analizei de determinare a riscului de HPV a fost 1,02, cu o valoare a testării scorului de non-inferioritate P<0,0001.

Tabelul 14. Rezultatele sensibilității clinice pentru probele prelevate de la femei cu CIN2+ confirmat în mediu de recoltare SurePath

Testare de referință	NeuMoDx HPV Assay		
	POZ	NEG	TOTAL
POZ	97	1	98
NEG	1	7	8
TOTAL	98	8	106

Sensibilitate clinică NeuMoDx HPV Assay: 92,5% (Î 95% 85,6-96,2)

Tabelul 15. Rezultatele specificității clinice pentru probele recoltate de la femei cu citologie normală și fără CIN2+ confirmat în mediu de recoltare SurePath

Testare de referință	NeuMoDx HPV Assay		
	POZ	NEG	TOTAL
POZ	48	6	54
NEG	19	756	775
TOTAL	67	775	842

Specificitate clinică NeuMoDx HPV Assay: 93,5% (Î 95% 91,6-95,0)

Reproductibilitate clinică

Reproductibilitatea la nivel de laborator și acordul între laboratoare privind testarea pe eșantioane clinice recoltate în PreservCyt au fost evaluate în conformitate cu ghidurile internaționale pentru cerințele de testare HPV pentru screeningul cancerului de col uterin.¹⁶ Reproducibilitatea la nivel de laborator pe eșantioane cervicale pe toată durata studiului a fost de 96,0% (484/504; Î 95% 94,3-97,4) cu o valoare kappa (κ) de 0,90 (Tabelul 16). După aceea, rezultatele acestor momente de testare au fost evaluate pentru acordul cu cele ale unei alte unități de testare, oferind acorduri între laboratoare de 96,4% (486/504; Î 95% 94,8-97,7) cu $\kappa = 0,91$ și 94,4% (476/504; Î 95% 92,5-96,1) cu $\kappa = 0,86$ pentru primul și, respectiv, al doilea moment de testare (Tabelul 17).

Tabelul 16. Reproducibilitate în timp la nivel de laborator a NeuMoDx HPV Assay

NeuMoDx HPV Assay – Rezultatul testării 1	NeuMoDx HPV Assay – Rezultatul testării 2		
	NEG	POZ	TOTAL
NEG	347	13	360
POZ	7	137	144
TOTAL	354	150	504

Reproductibilitate = 96,0% (Î 95% 94,3-97,4); $\kappa = 0,90$

Tabelul 17. Acordul între laboratoare al NeuMoDx HPV Assay

NeuMoDx HPV Assay – Testare externă	NeuMoDx HPV Assay – Rezultatul testării interne 1			NeuMoDx HPV Assay – Rezultatul testării interne 2		
	NEG	POZ	TOTAL	NEG	POZ	TOTAL
NEG	355	13	368	347	21	368
POZ	5	131	136	7	129	136
TOTAL	360	144	504	354	150	504

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

REFERINȚE

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, Simoens 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.

MĂRCI COMERCIALE

NeuMoDx™ și NeuDry™ sunt mărci comerciale ale NeuMoDx Molecular, Inc.














Hamilton® este marcă comercială înregistrată a Hamilton Company.

PreservCyt® este marcă comercială înregistrată a Hologic, Inc.

SurePath™ este marcă comercială înregistrată a Becton Dickinson (BD).

Toate celelalte nume de produse, mărci comerciale și mărci comerciale înregistrate care pot apărea în acest document sunt deținute de proprietarii respectivi.

LEGENDĂ

R only	Doar pe bază de rețetă		Limită de temperatură
	Producător		A nu se reutiliza
	Dispozitiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i>		Conține suficient pentru <n> (de) testări
	Reprezentanță autorizată în Comunitatea Europeană		Consultați instrucțiunile de utilizare
	Număr de catalog		Atenție
	Cod lot		Riscuri biologice
	Termen de valabilitate		Marcaj CE



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



Asistență tehnică/Raportarea vigilenței: support@qiagen.com

Brevet: www.neumodx.com/patents