

REF 617007 NeuMoDx™ HPV Test Strip

R only

PRZESTROGA: Wyłącznie do eksportu poza Stany Zjednoczone

IVD Do diagnostyki *in vitro* z wykorzystaniem systemów NeuMoDx 288 Molecular System i NeuMoDx 96 Molecular System

 Elektroniczna wersja dokumentu jest dostępna pod adresem: www.giaqen.com/neumodx-ifu

Szczegółowe instrukcje zawiera dokument NeuMoDx 288 Molecular System — podręcznik użytkownika; nr części: 40600108

Szczegółowe instrukcje zawiera dokument NeuMoDx 96 Molecular System — podręcznik użytkownika; nr części: 40600317

PRZEZNACZENIE

Oznaczenie NeuMoDx HPV Assay wykonywane w systemie NeuMoDx 96 Molecular System i systemie NeuMoDx 288 Molecular System (system(y) NeuMoDx System) to szybki, zautomatyzowany test diagnostyczny służący do amplifikacji *in vitro* kwasu nukleinowego w reakcji PCR w czasie rzeczywistym, przeznaczony do jakościowej detekcji DNA wirusów brodawczaka ludzkiego (Human Papillomavirus, HPV) wysokiego ryzyka w próbkach z szyjki macicy. Test umożliwia swoistą identyfikację wirusów HPV16 i HPV18 przy równoczesnej detekcji innych typów wysokiego ryzyka (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 i 68) obecnych w istotnych klinicznie mianach wskazujących na zakażenie. Oznaczenie NeuMoDx HPV Assay można wykonywać na próbkach z szyjki macicy pobranych przez lekarza za pomocą szczoteczki/miotelki do pobierania wymazów cytologicznych i zakonserwowanych w roztworze do cytologii płynnej PreservCyt® (HOLOGIC) lub SurePath™ (BD). Oznaczenie jest przeznaczone do użytku jako test pierwszego rzutu wykonywany w ramach badań przesiewowych u kobiet, które ukończyły 21. rok życia, pod kątem ryzyka występowania stanów (przed)rakowych szyjki macicy w celu określenia konieczności skierowania na kolposkopię lub inne dalsze procedury oraz jako test kontrolny u kobiet, u których w badaniu cytologicznym stwierdzono obecność atypowych komórek nabłonka wielowarstwowego płaskiego o nieokreślonym znaczeniu (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) lub zmian śródnabłonkowych małego stopnia (Low-Grade Squamous Intra-Epithelial Lesion, LSIL), w celu określenia konieczności skierowania na kolposkopię lub inne dalsze procedury. Wynik tego oznaczenia, w połączeniu z dokonaną przez lekarza oceną wyników badań cytologicznych, oceną innych czynników ryzyka oraz specjalistycznymi wytycznymi, może posłużyć do podejmowania decyzji dotyczących leczenia pacjentki.

Ten produkt jest przeznaczony do stosowania przez profesjonalnych użytkowników, takich jak technicy i laboranci przeszkoleni w zakresie procedur diagnostyki *in vitro* i technik biologii molekularnej.

PODSUMOWANIE I OBJAŚNIENIE

Rak szyjki macicy i poprzedzające go zmiany chorobowe (wewnątrz nabłonkowa neoplazja szyjki macicy, Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN) to powikłania przetrwałego zakażenia wirusem brodawczaka ludzkiego (Human Papillomavirus, HPV) wysokiego ryzyka.¹⁻³ Wirusy HPV to niewielkie wirusy należące do rodziny papillomawirusów i posiadające dwuniciowy DNA. Kolisty genom składa się z około 7,9 tysiąca par zasad. Zidentyfikowano ponad 100 typów HPV, z których niektóre, określane jako wirusy HPV wysokiego ryzyka (High-Risk HPV, hrHPV), takie jak HPV 16 i 18, związane są z powstawaniem zmian chorobowych błony śluzowej, co może prowadzić do rozwoju nowotworów złośliwych. Genom wirusa zawiera geny wczesne (Early, E) oraz późne (Late, L), które kodują białka niezbędne na odpowiednio wczesnych i późnych etapach cyklu replikacyjnego wirusa HPV. Produkty genów E6 i E7 wirusów hrHPV mają właściwości rakotwórcze i są niezbędne do transformacji złośliwej komórek gospodarza.⁴ Rozwój nowotworu złośliwego jest często związany z integracją genów wirusa z genomem komórki gospodarza.⁵ Integracja prowadzi do przerwania genomu wirusowego w regionie, który może rozciągać się między otwartymi ramkami odczytu E1 i L1.⁶ Może to mieć wpływ na zachodzącą podczas reakcji PCR amplifikację wirusowego DNA w tych regionach. Inicjacja oraz utrzymanie zmienionego fenotypu wymagają ciągłej ekspresji wirusowych onkoprotein, dlatego w rakach szyjki macicy region E6/E7 wirusa jest zawsze utrzymywany w zintegrowanych genomach wirusowych.^{6,7,8}

Rak szyjki macicy to rzadkie powikłanie zakażenia wirusem HPV; szacuje się, że ryzyko zakażenia wirusem hrHPV w ciągu życia wynosi około 80% — znaczna większość zakażeń jest jednak zwalczana przez układ odpornościowy gospodarza i nie prowadzi do powstania zmian chorobowych⁹. Zmiany CIN zwykle cofają się po zwalczeniu zakażenia wirusem HPV¹⁰.

Wykonywanie testów na obecność DNA wirusa HPV zapewnia lepszą ochronę przed rakiem szyjki macicy i poprzedzającymi go zmianami CIN w porównaniu z analizą cytomorfologiczną (tj. rozmazem szyjkowym) próbek pobranych z szyjki macicy w ramach badań przesiewowych pierwszego rzutu u kobiet, które ukończyły 30. rok życia, oraz u kobiet, które ukończyły 21. rok życia i u których w badaniu cytologicznym stwierdzono obecność komórek ASC-US lub zmian LSIL¹¹⁻¹⁵. Badania przesiewowe pierwszego rzutu pod kątem obecności DNA wirusa HPV w próbkach z szyjki macicy zostały wdrożone w wielu krajach na całym świecie. Opublikowano również międzynarodowe wytyczne dotyczące wymagań dla testów na obecność wirusa HPV przeprowadzanych podczas badań przesiewowych pierwszego rzutu pod kątem raka szyjki macicy¹⁶. Oznaczenie NeuMoDx HPV Assay jako miejsce docelowe wykorzystuje konserwatywny region genu E7 w genomie wirusa HPV, eliminując tym samym ryzyko uzyskania fałszywie negatywnych wyników po integracji wirusa z genomem gospodarza.

ZASADY PROCEDURY

Oznaczenie NeuMoDx HPV Assay łączy zautomatyzowaną izolację DNA oraz amplifikację/detekcję produktów amplifikacji w reakcji PCR w czasie rzeczywistym. Próbkę z szyjki macicy są pobierane do roztworu do cytologii płynnej, a następnie przenoszone do zgodnej próbki wtórnej oznaczonej kodem kreskowym i umieszczane w systemie NeuMoDx System. System NeuMoDx System automatycznie zasysa porcję próbki w celu wymieszania jej z buforem NeuMoDx Lysis Buffer 2 i składnikami zawartymi na płytce NeuMoDx Extraction Plate w celu rozpoczęcia analizy. System NeuMoDx System umożliwia automatyzację i integrację izolacji i zatażania DNA, przygotowania odczynników i amplifikacji/detekcji docelowych sekwencji kwasów nukleinowych w reakcji PCR w czasie rzeczywistym. DNA β-globiny (β-globin, βG), obecne w każdej prawidłowo pobranej próbce, służy jako endogenna kontrola przetwarzania próbki i ułatwia monitorowanie obecności potencjalnych inhibitorów oraz wykrycie nieprawidłowości związanych z systemem, procesem lub odczynnikami. Po załadowaniu próbki i wymaganych materiałów eksploatacyjnych do systemu NeuMoDx System operator nie musi wykonywać żadnych działań.

System NeuMoDx System automatycznie wykonuje kroki lizy komórek, izolacji DNA i usuwania inhibitorów. Uwolnione kwasy nukleinowe są wychwytywane przez cząstki paramagnetyczne. Cząstki te, wraz ze związanymi kwasami nukleinowymi, są następnie ładowane do kasety NeuMoDx Cartridge, w której niezwiązane składniki są wymywane przy użyciu odczynnika NeuMoDx Wash Reagent. Związane DNA jest eluowane przy użyciu odczynnika NeuMoDx Release Reagent. System NeuMoDx System wykorzystuje eluowany DNA do nawodnienia zastrzeżonych odczynników do amplifikacji NeuDry™, które zawierają wszystkie składniki wymagane do przeprowadzenia 40 cykli amplifikacji sekwencji docelowych 15 typów wirusa HPV oraz sekwencji docelowej genu β -globiny. Umożliwia to równoczesną amplifikację i detekcję docelowych sekwencji DNA wirusa i kontroli. Po rekonstrukcji suchych odczynników do reakcji PCR system NeuMoDx System dozjuje przygotowaną mieszaninę gotową do użycia w reakcji PCR do jednej komory do reakcji PCR (na każdą próbkę) w kasie NeuMoDx Cartridge. W komorze do reakcji PCR zachodzi amplifikacja i detekcja sekwencji docelowych wirusa (jeśli są obecne) i kontroli. Kasetę NeuMoDx Cartridge zaprojektowano w taki sposób, aby po reakcji PCR amplicony pozostawały w jej wnętrzu, co praktycznie eliminuje ryzyko zanieczyszczenia po amplifikacji.

Detekcja zamplifikowanych sekwencji docelowych przebiega w czasie rzeczywistym przy użyciu sond hydrolitycznych (nazywanych powszechnie odczynnikami TaqMan®), cząsteczek oligonukleotydowych sond fluorogenicznych swoistych względem ampliconów odpowiednich sekwencji docelowych. Sondy TaqMan składają się z fluoroforu kowalencyjnie związanego z końcem 5' oligonukleotydowej sondy oraz wygaszacza związanego z końcem 3'. Jeśli sonda jest nienaruszona, bliskość fluoroforu i wygaszacza powoduje, że wygaszcz tłumia emitowaną przez fluorofor fluorescencję poprzez Försterowskie rezonansowe przeniesienie energii (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Sondy TaqMan hybrydują do regionu DNA amplifikowanego przez swoisty zestaw starterów. Podczas gdy polimeraza DNA Taq wydłuża starter i syntezuje nić potomną, aktywność egzonukleazy 5'–3' polimerazy DNA Taq powoduje rozkład sondy zhybryzowanej z matrycą. Rozkład sondy prowadzi do uwolnienia fluoroforu i oddalenia go od wygaszacza, znosząc tym samym efekt wytlumienia spowodowany przez FRET i umożliwiając detekcję fluoroforu. Siła otrzymanego w ten sposób sygnału fluorescencyjnego wykrywanego w termocyklerze systemu NeuMoDx System podczas reakcji PCR jest wprost proporcjonalna do ilości uwolnionego fluoroforu i można ją skorelować z ilością obecnej sekwencji docelowej.

Sonda TaqMan wyznakowana fluoroforem na końcu 5' i ciemnym wygaszczem na końcu 3' służy do detekcji wirusa HPV 16 (470/510 nm), wirusa HPV 18 (625/660 nm) oraz pozostałych istotnych klinicznie typów wysokiego ryzyka (High Risk, HR) („HPV Other” (Pozostałe typy HPV); 530/555 nm). Sonda TaqMan przeznaczona do detekcji β -globiny jest wyznakowana innym barwnikiem fluorescencyjnym (585/610 nm) na końcu 5' i ciemnym wygaszczem na końcu 3'. Oprogramowanie systemu NeuMoDx System monitoruje sygnał fluorescencyjny emitowany przez sondy TaqMan pod koniec każdego cyklu amplifikacji. Po ukończeniu amplifikacji oprogramowanie systemu NeuMoDx System analizuje dane i zgłasza wynik (POSITIVE (Pozytywny)/NEGATIVE (Negatywny)/INDETERMINATE (Nieokreślony)/UNRESOLVED (Nierozstrzygnięty)/NO RESULT (Brak wyniku)).

ODCZYNNIKI / MATERIAŁY EKSPLOATACYJNE

Dostarczony materiał

NR REF.	Zawartość	Liczba opakowań jednostkowych na opakowanie zbiorcze	Liczba testów na opakowanie jednostkowe	Liczba testów na opakowanie zbiorcze
617007	Pasek testowy NeuMoDx HPV Test Strip <i>Suche odczynniki do reakcji PCR zawierające sondy TaqMan® i startery swoiste dla wirusa HPV i genu βG</i>	6	16	96

Materiały wymagane, ale niedostarczone (oferowane oddzielnie przez firmę NeuMoDx)

NR REF.	Zawartość
100200	Płytko NeuMoDx Extraction Plate <i>Suche cząstki paramagnetyczne, enzym lityczny i kontrola w postaci genu β-globiny</i>
400500	Bufor NeuMoDx Lysis Buffer 2
401600	Bufor NeuMoDx Viral Lysis Buffer*
400100	Odczynnik NeuMoDx Wash Reagent
400200	Odczynnik NeuMoDx Release Reagent
100100	Kaseta NeuMoDx Cartridge
235903	Końcówki Hamilton® CO-RE / CO-RE II (300 μl) z filtrami
235905	Końcówki Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 μl) z filtrami

*Produkt wymagany do przetworzenia próbek poddawanych wstępnej obróbce w roztworze SurePath

Wymagany sprzęt

System NeuMoDx 288 Molecular System [NR REF. 500100] lub system NeuMoDx 96 Molecular System [NR REF. 500200]

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Pasek testowy NeuMoDx HPV Test Strip jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki *in vitro* z wykorzystaniem systemów NeuMoDx System.
- Nie używać odczynników ani materiałów eksploatacyjnych po upływie wskazanej daty ważności.
- Nie używać żadnych odczynników, jeśli plomba zabezpieczająca jest naruszona lub dostarczone opakowanie jest uszkodzone.
- Nie używać materiałów eksploatacyjnych ani odczynników, jeśli dostarczona torebka ochronna jest otwarta lub uszkodzona.
- Minimalna objętość próbki dla porcji wtórnych zależy od rozmiaru próbki/nośnika próbek, zgodnie z poniższym opisem. Objętość mniejsza niż określona objętość minimalna może doprowadzić do wygenerowania błędu „Quantity Not Sufficient” (Niewystarczająca ilość).
- Użycie próbek przechowywanych w nieodpowiedniej temperaturze lub po upłynięciu określonego okresu przechowywania może doprowadzić do otrzymania nieważnych lub błędnych wyników.
- W systemach NeuMoDx Molecular System można analizować wyłącznie próbki w roztworze SurePath poddane wstępnej obróbce buforem NeuMoDx Viral Lysis Buffer. Użycie próbek bez uprzedniego dodania tego buforu może doprowadzić do otrzymania nieważnych lub nieoptymalnych wyników.
- W badaniach walidacyjnych przeprowadzonych w celu oceny stabilności próbki w systemie obserwowano wyparowywanie do 20% próbki ze względu na wysoką lotność podłoża do pobierania próbek PreservCyt. Nie oczekuje się, aby zjawisko to miało negatywny wpływ na wyniki próbek, należy jednak mieć to na uwadze w przypadku przygotowywania próbek, które będą analizowane w późniejszym czasie. Nie zaobserwowano istotnego parowania roztworu w przypadku próbek poddanych wstępnej obróbce w roztworze SurePath.
- Należy unikać zanieczyszczenia odczynników i materiałów eksploatacyjnych drobnoustrójami i deoksurybonukleazą (DNaza). W przypadku używania próbek wtórnych zalecane jest stosowanie sterylnych, jednorazowych pipet transferowych wolnych od DNazy. Dla każdej próbki należy używać nowej pipety.
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, po amplifikacji nie należy przenosić kaset NeuMoDx Cartridge ani rozkładać ich na części. Pod żadnym pozorem nie należy wyjmować kaset NeuMoDx Cartridge z pojemnika na odpady stwarzające zagrożenie biologiczne (NeuMoDx 288 Molecular System) ani z kosza na odpady stwarzające zagrożenie biologiczne (NeuMoDx 96 Molecular System). Konstrukcja kasyety NeuMoDx Cartridge minimalizuje ryzyko zanieczyszczenia.
- Jeśli w laboratorium wykonywane są również testy PCR w otwartych próbkach, należy zachować ostrożność, aby nie dopuścić do zanieczyszczenia paska testowego NeuMoDx HPV Test Strip, dodatkowych materiałów eksploatacyjnych i odczynników wymaganych do przeprowadzenia testu, środków ochrony osobistej, takich jak rękawiczki i fartuchy laboratoryjne, oraz systemu NeuMoDx System.
- Podczas pracy z odczynnikami i materiałami eksploatacyjnymi NeuMoDx należy nosić czyste, bezpudrowe rękawiczki nitrylowe. Należy unikać dotykania górnej powierzchni kasyety NeuMoDx Cartridge, powierzchni paska testowego NeuMoDx HPV Test Strip i płytki NeuMoDx Extraction Plate pokrytych folią uszczelniającą oraz górnej powierzchni pojemnika z buforem NeuMoDx Lysis Buffer 2; podczas pracy należy dotykać wyłącznie bocznych powierzchni materiałów eksploatacyjnych oraz pojemników z odczynnikami.
- Dla każdego odczynnika (w stosownych przypadkach) dostępne są odpowiednie karty charakterystyki (Safety Data Sheet, SDS) — można je znaleźć pod adresem www.giagen.com/neumodx-ifu.
- Po wykonaniu testu dokładnie umyć ręce.
- Nie pipetować ustami. Nie palić i nie spożywać pokarmów ani płynów w miejscach przeznaczonych do pracy z próbkami lub odczynnikami.
- Z próbkami należy zawsze postępować w taki sposób, jak z materiałami potencjalnie zakaźnymi, zgodnie z procedurami bezpieczeństwa laboratoryjnego, które opisano w publikacjach takich jak *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Bezpieczeństwo w laboratoriach mikrobiologicznych i biomedycznych)*¹⁷ i w dokumencie M29-A4 instytutu CLSI¹⁸.
- Usuwać nieużyte odczynniki i odpady zgodnie z przepisami federalnymi i stanowymi lub krajowymi, wojewódzkimi i lokalnymi.
- Nie używać ponownie.

PRZECHOWYWANIE, STABILNOŚĆ I SPOSÓB POSTĘPOWANIA Z PRODUKTEM

- Paski testowe NeuMoDx HPV Test Strip przechowywane w oryginalnym opakowaniu w temperaturze od 15 do 23°C zachowują stabilność do daty ważności podanej na etykiecie produktu.
- Nie ładować ponownie żadnych produktów przeznaczonych do wykonywania testu, które załadowano uprzednio do *in vivo* systemu NeuMoDx System.
- Pasek testowy NeuMoDx HPV Test Strip załadowany do systemu NeuMoDx System może być przechowywany w systemie przez 14 dni. Pozostały okres magazynowania załadowanych pasków testowych jest śledzony przez oprogramowanie i zgłaszany użytkownikowi w czasie rzeczywistym. Po upłynięciu dopuszczalnego okresu magazynowania paska testowego system wyświetli monit o wyjęciu produktu.

POBIERANIE, PRZECHOWYWANIE I TRANSPORT PRÓBEK ORAZ POSTĘPOWANIE Z PRÓBKAMI

1. Oznaczenie NeuMoDx HPV Assay jest przeznaczone do użytku z próbkami otrzymanymi z materiału z szyjki macicy. Zwaldowane podłoża do pobierania próbek z szyjki macicy to roztwory PreservCyt i SurePath. Postępować zgodnie z instrukcjami producenta wyrobu do pobierania próbek dotyczącymi przygotowania i przechowywania próbek.

- Przed użyciem próbek w roztworze SurePath należy poddać je wstępnej obróbce zgodnie z poniższymi instrukcjami.
- Próbki przechowywane w chłodziarce należy pozostawić do ogrzania w temperaturze pokojowej na co najmniej 30 minut przed wykonaniem analizy, aby zapewnić odpowiednie działanie systemu.**
- Przygotowane próbki z szyjki macicy można przechowywać w systemie NeuMoDx System przez maksymalnie 24 godziny przed ich analizą. Jeśli konieczne jest przechowywanie próbek przez dłuższy czas, zalecane jest przestrzeganie następujących warunków przechowywania:

Próbki z szyjki macicy w roztworze **PreservCyt**:

 - temperatura 15–25°C — przechowywanie przez maksymalnie 6 tygodni od pobrania;
 - temperatura 2–8°C — przechowywanie przez maksymalnie 3 miesiące od pobrania;
 - temperatura -80°C — przechowywanie przez maksymalnie 8 lat od pobrania. Jeśli próbki są zamrożone, pozostawić je do całkowitego rozmrożenia w temperaturze pokojowej (15–30°C), a następnie wytrząsać, aby otrzymać jednorodną próbkę.

Próbki z szyjki macicy w roztworze **SurePath**:

 - temperatura 2–30°C — przechowywanie przez maksymalnie 30 dni od pobrania;
 - temperatura 2–8°C — przechowywanie przez maksymalnie 180 dni od pobrania;
 - temperatura -20°C — przechowywanie przez maksymalnie 180 dni od pobrania. Jeśli próbki są zamrożone, pozostawić je do całkowitego rozmrożenia w temperaturze pokojowej (15–30°C), a następnie wytrząsać, aby otrzymać jednorodną próbkę.
- Jeśli próbki są przesyłane, należy je zapakować i oznaczyć zgodnie z obowiązującymi przepisami krajowymi i/lub międzynarodowymi.
- Wyraźnie oznaczyć próbki i wskazać, że są one przeznaczone do testów pod kątem wirusa HPV.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Przygotowanie do wykonania testu — PRESERVCYT

- Nakleić etykietę z kodem kreskowym próbki na probówkę zgodną z systemem NeuMoDx System.
- Przed załadowaniem probówki do systemu NeuMoDx System włożyć probówkę oznaczoną kodem kreskowym do nośnika probówek i upewnić się, że zdjęto zatyczkę probówki.
- Podzielić próbkę na porcje zgodnie z poniższymi objętościami określonymi dla próbek w roztworze **PreservCyt**:
 - Nośnik probówek (na 32 probówki): średnica 11–14 mm; wysokość 60–120 mm; minimalna objętość napełnienia = 400 µl
 - Nośnik probówek (na 24 probówki): średnica 14,5–18 mm; wysokość 60–120 mm; minimalna objętość napełnienia = 850 µl
 - Nośnik na probówki z próbkami o małej objętości (na 32 probówki): stożkowa probówka mikrowirówkowa o pojemności 1,5 ml; minimalna objętość napełnienia = 250 µl

Przygotowanie do wykonania testu — SUREPATH

- Poddać próbkę w roztworze SurePath wstępnej obróbce, dodając do niej bufor NeuMoDx Viral Lysis Buffer w takiej objętości, aby otrzymać stosunek 1:1. Dokładnie wymieszać. Użyć takiej objętości, aby spełnić określone poniżej wymogi dotyczące minimalnej objętości próbki.
- Inkubować w temperaturze 90°C przez 20 minut. Przed przystąpieniem do kolejnych kroków doprowadzić próbkę do temperatury pokojowej.
- Nakleić etykietę z kodem kreskowym próbki na probówkę zgodną z systemem NeuMoDx System.
- Przed załadowaniem probówki do systemu NeuMoDx System włożyć probówkę oznaczoną kodem kreskowym do nośnika probówek i upewnić się, że zdjęto zatyczkę probówki.
- Podzielić próbkę na porcje zgodnie z poniższymi objętościami określonymi dla próbek w roztworze **SurePath**:
 - Nośnik probówek (na 32 probówki): średnica 11–14 mm; wysokość 60–120 mm; minimalna objętość napełnienia = 450 µl
 - Nośnik probówek (na 24 probówki): średnica 14,5–18 mm; wysokość 60–120 mm; minimalna objętość napełnienia = 800 µl
 - Nośnik na probówki z próbkami o małej objętości (na 32 probówki): stożkowa probówka mikrowirówkowa o pojemności 1,5 ml; minimalna objętość napełnienia = 300 µl

Obsługa systemu NeuMoDx System

Szczegółowe instrukcje przedstawiono w podręcznikach użytkownika systemów NeuMoDx 288 i 96 Molecular System (nr części: 40600108 i 40600317)

- Załadować zlecenie testu do systemu NeuMoDx System zgodnie z odpowiednim typem próbki.
 - W celu wykonania testów próbek w roztworze PreservCyt należy je zdefiniować jako „Cytology” (Materiał cytologiczny).
 - W celu wykonania testów próbek poddanych wstępnej obróbce w roztworze SurePath należy je zdefiniować jako „UserSpecified1”.

Jeśli użytkownik nie zdefiniuje tych ustawień w zleceniu testu, domyślnie będzie używany typ odpowiadający próbce w roztworze PreservCyt.

- Włożyć paski testowe NeuMoDx HPV Test Strip do jednego lub większej liczby nośników pasków testowych NeuMoDx Test Strip Carrier, a następnie załadować nośniki pasków testowych do systemu NeuMoDx System, korzystając z ekranu dotykowego.

3. W przypadku wyświetlenia monitu przez oprogramowanie systemu NeuMoDx System włożyć wymagane materiały eksploatacyjne do nośników materiałów eksploatacyjnych systemu NeuMoDx System, a następnie załadować nośniki do systemu NeuMoDx System, korzystając z ekranu dotykowego.
4. W przypadku wyświetlenia monitu przez oprogramowanie systemu NeuMoDx System wymienić odczynnik NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, opróżnić butelkę na odpady płynne, pojemnik na odpady stwarzające zagrożenie biologiczne (wyłącznie system NeuMoDx 288 Molecular System), kosz na zużyte końcówki (wyłącznie system NeuMoDx 96 Molecular System) lub kosz na odpady stwarzające zagrożenie biologiczne (wyłącznie system NeuMoDx 96 Molecular System), odpowiednio do potrzeb.
5. Załadować próbki do nośnika próbek i upewnić się, że zdjęto zatyczki ze wszystkich próbek.
6. Umieścić nośniki próbek w szufladzie podajnika automatycznego, a następnie załadować je do systemu NeuMoDx System, korzystając z ekranu dotykowego. Spowoduje to rozpoczęcie analizy załadowanych próbek w celu wykonania określonych testów, pod warunkiem że w systemie dostępne jest ważne zlecenie testu.

OGRANICZENIA

1. Pasek testowy NeuMoDx HPV Test Strip może być używany wyłącznie w systemach NeuMoDx System.
2. Skuteczność pasków testowych NeuMoDx HPV Test Strip ustalono dla próbek otrzymanych z materiału z szyjki macicy (zeskrobiny) w roztworze PreservCyt, SurePath lub równoważnym podłożu do pobierania próbek cytologicznych. Nie przeprowadzono oceny działania pasków testowych NeuMoDx HPV Test Strip z próbkami z innych źródeł, a parametry skuteczności dla innych typów próbek i podłoży do pobierania próbek nie są znane.
3. W systemach NeuMoDx Molecular System można analizować wyłącznie próbki w roztworze SurePath poddane wstępnej obróbce buforem NeuMoDx Viral Lysis Buffer. Użycie próbek bez uprzedniego dodania tego buforu może doprowadzić do otrzymania nieważnych lub nieoptymalnych wyników.
4. Z uwagi na to, że detekcja wirusa HPV zależy od ilości tkanki obecnej w próbce, wiarygodność wyników zależy od prawidłowego pobrania próbki, postępowania z próbką i przechowywania próbki.
5. Nieprawidłowe pobranie próbki, postępowanie z próbką, przechowywanie próbki, błąd techniczny lub pomylenie próbek może spowodować otrzymanie błędnych wyników. Jeśli ilość cząstek wirusowych w próbce jest niższa niż granica wykrywalności oznaczenia NeuMoDx HPV Assay, może dojść do wygenerowania fałszywie negatywnych wyników.
6. System NeuMoDx System może być obsługiwany wyłącznie przez personel przeszkolony z obsługi tego systemu.
7. Jeśli sekwencje docelowe wirusa HPV i sekwencja docelowa genu β -globiny nie zostaną zamplifikowane, zostanie zgłoszony wynik nieważny (Indeterminate (Nieokreślony), No Result (Brak wyniku) lub Unresolved (Nierozstrzygnięty)) i konieczne będzie powtórzenie testu.
8. Wynik pozytywny nie musi oznaczać obecności żywego wirusa HPV. Wynik pozytywny wskazuje jednak, że w próbce przypuszczalnie obecne jest DNA wirusa HPV.
9. Delecje lub mutacje w regionach konserwatywnych, na które ukierunkowane jest oznaczenie NeuMoDx HPV Assay, mogą zakłócić detekcję i doprowadzić do uzyskania błędnego wyniku.
10. Wyniki otrzymane przy użyciu oznaczenia NeuMoDx HPV Assay należy traktować jako dane uzupełniające obserwacje kliniczne oraz inne informacje, do których ma dostęp lekarz.
11. Aby uniknąć zanieczyszczenia, należy przestrzegać zasad dobrej praktyki laboratoryjnej, w tym zmieniać rękawiczki między próbkami pacjentów.

ANALIZA WYNIKÓW

Dostępne wyniki można przeglądać i drukować z karty „Results” (Wyniki) w oknie Results (Wyniki) na ekranie dotykowym systemu NeuMoDx System. Oprogramowanie systemu NeuMoDx System automatycznie generuje wyniki oznaczenia NeuMoDx HPV Assay, korzystając z algorytmu decyzyjnego oraz parametrów przetwarzania wyników określonych w pliku definicji oznaczenia NeuMoDx HPV Assay (HPV ADF). Oprogramowanie może zgłosić następujące wyniki oznaczenia NeuMoDx HPV Assay: Negative (Negatywny), Positive (Pozytywny), Indeterminate (Nieokreślony, IND), No Result (Brak wyniku, NR), Unresolved (Nierozstrzygnięty, UNR); są one ustalane na podstawie statusu amplifikacji sekwencji docelowych i sekwencji kontroli przetwarzania próbki. Wyniki są zgłaszane na podstawie algorytmu decyzyjnego ADF, który omówiono poniżej w Tabeli 1.

Ustalone dla każdego patogenu docelowego progi wartości Ct przedstawiono poniżej w Tabeli 2 w celu odniesienia ich do klinicznej istotności oznaczenia. W niektórych przypadkach pomimo wykrycia krzywej amplifikacji sekwencji docelowej może zostać zgłoszony wynik Negative (Negatywny). Zgłoszenie takiego wyniku jest zgodne z procedurą przetwarzania wyników i kryteriami odciążenia zwalidowanymi przez firmę NeuMoDx.

Lekarz musi interpretować wyniki testu NeuMoDx HPV Test w kontekście innych danych.

Tabela 1. Omówienie algorytmu decyzyjnego dla oznaczenia HPV Assay

WYNIK	HPV16	HPV18	Pozostałe typy HPV	KONTROLA PRZETWARZANIA (βG)
POSITIVE (Pozytywny)	AMPLIFIED (Amplifikacja)	ND.^	ND.^	ND.^
POSITIVE (Pozytywny)	ND.^	AMPLIFIED (Amplifikacja)	ND.^	ND.^
POSITIVE (Pozytywny)	ND.^	ND.^	AMPLIFIED (Amplifikacja)	ND.^
NEGATIVE (Negatywny)	NOT AMPLIFIED (Brak amplifikacji)	NOT AMPLIFIED (Brak amplifikacji)	NOT AMPLIFIED (Brak amplifikacji)	AMPLIFIED (Amplifikacja)
IND (IND)	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Completed (BRAK AMPLIFIKACJI, Wykryto błąd systemu, Ukończono przetwarzanie próbki)			
IND (IND)/NR (NR)*	NOT AMPLIFIED, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Brak amplifikacji, Wykryto błąd systemu, Przerwano przetwarzanie próbki)			
UNR (UNR)	NOT AMPLIFIED, No System Errors Noted (Brak amplifikacji, Nie odnotowano błędów systemu)			

*Flaga No Result (Brak wyniku) jest zgłaszana tylko w przypadku oprogramowania systemu NeuMoDx System w wersji 1.8 lub wyższej.

^ND. = nie dotyczy

Tabela 2. Punkty odcięcia wartości Ct dla wyników Positive (Pozytywny)

WYNIK	HPV16	HPV18	Pozostałe typy HPV	KONTROLA PRZETWARZANIA (βG)
POSITIVE (Pozytywny)	33	33	30	ND.*

* ND. = nie dotyczy

Kontrola jakości

Lokalne przepisy zazwyczaj określają, że laboratorium jest odpowiedzialne za realizowanie procedur kontrolnych przeznaczonych do monitorowania dokładności i precyzji całego procesu analitycznego oraz ustalenie liczby, rodzaju i częstotliwości badań materiałów kontrolnych na podstawie zweryfikowanych specyfikacji dotyczących skuteczności dla niezmodyfikowanego, zatwierzonego systemu do wykonywania testów.

Kontrole zdefiniowane przez użytkownika (kontrole zewnętrzne)

- Laboratorium jest odpowiedzialne za dobór i walidację odpowiednich kontroli zdefiniowanych przez użytkownika zgodnie z lokalnymi wytycznymi. Należy pamiętać o tym, że kontrole zdefiniowane przez użytkownika muszą spełniać takie same wymagania dotyczące minimalnej objętości, jak próbki kliniczne. Wymogi te określono powyżej odpowiednio do rozmiaru nośnika na próbówce.
- W przypadku analizowania kontroli zdefiniowanych przez użytkownika umieścić oznaczone kontrole w nośniku próbek w szufladzie podajnika automatycznego, a następnie załadować nośnik do systemu NeuMoDx System, korzystając z ekranu dotykowego. Po zdefiniowaniu próbek system NeuMoDx System rozpozna kody kreskowe i rozpocznie analizę kontroli.
- Zalecane jest, aby użytkownicy analizowali jeden zestaw zdefiniowanych przez użytkownika kontroli pozytywnych i negatywnych raz na 24 godziny.
- Pozytywny wynik testu zgłoszony dla kontroli negatywnej zdefiniowanej przez użytkownika może wskazywać na problem związany z zanieczyszczeniem próbki. Wskazówki dotyczące rozwiązywania problemów przedstawiono w podręcznikach użytkownika systemów NeuMoDx 288 i 96 Molecular System.
- Negatywny wynik zgłoszony dla kontroli pozytywnej zdefiniowanej przez użytkownika może wskazywać na problem związany z odczynnikiem lub systemem NeuMoDx System. Wskazówki dotyczące rozwiązywania problemów przedstawiono w podręcznikach użytkownika systemów NeuMoDx 288 i 96 Molecular System.

Kontrola przetwarzania próbki (kontrola wewnętrzna)

Gen β-globiny (β-globin, βG) służy jako endogenna kontrola wewnętrzna, gdyż jest on obecny we wszystkich prawidłowo pobranych zeszkrobach z szyjki macicy. Sekwencja docelowa βG przechodzi cały proces izolacji kwasów nukleinowych i ich amplifikacji w reakcji PCR w czasie rzeczywistym z każdą próbką i służy również jako kontrola jakości próbki. Startery i sonda swoiste dla genu βG są zawarte w każdym pasku testowym NeuMoDx HPV Test Strip wraz ze starterami i sondami swoistymi dla różnych sekwencji docelowych wirusa HPV, co umożliwia detekcję genu βG wraz z docelowym DNA wirusa HPV (jeśli jest obecny) w reakcji multiplex PCR. Detekcja amplifikacji genu βG umożliwia monitorowanie skuteczności procesów pobierania próbki, izolacji DNA i amplifikacji DNA w reakcji PCR przez oprogramowanie systemu NeuMoDx System.

Kontrole systemowe NeuMoDx System

W systemach NeuMoDx System przeprowadzane są różne wewnętrzne kontrole urządzenia:

1. Przed rozpoczęciem reakcji PCR system NeuMoDx System automatycznie przeprowadza kontrolę „FILL CHECK” (kontrola napełnienia), aby upewnić się, że komora do reakcji PCR została napełniona roztworem i zawiera odpowiednią ilość sond fluorescencyjnych.
2. Oprogramowanie systemu NeuMoDx System w sposób ciągły monitoruje pracę sensorów i elementów wykonawczych, aby zapewnić bezpieczną i skuteczną pracę systemu.
3. W systemie wdrożono wiele trybów przywracania prawidłowego stanu po błędzie związanym z płynami poprzez aktywne monitorowanie zasysania i dozowania płynów. Dzięki temu system może ukończyć analizę wszystkich próbek w bezpieczny i skuteczny sposób lub wygenerować odpowiedni kod błędu.
4. System NeuMoDx System wyposażono w automatyczną funkcję Rerun/Repeat (Ponów test/powtórz), którą użytkownik końcowy może wybrać, aby zapewnić automatyczną ponowną analizę próbek z wynikami INVALID (Nieważny) w celu zminimalizowania opóźnień w raportowaniu wyników.

Wyniki nieważne

Jeśli w oznaczeniu NeuMoDx HPV Assay wykonywanym w systemie NeuMoDx System nie zostanie uzyskany ważny wynik, wynik ten zostanie zgłoszony jako Indeterminate (Nieokreślony, IND), Unresolved (Nierozstrzygnięty, UNR) lub No Result (Brak wyniku, NR), odpowiednio do typu napotkanego błędu.

Wynik IND zostanie zgłoszony, jeśli podczas analizy próbki zostanie wykryty błąd systemu NeuMoDx System. W przypadku zgłoszenia wyniku IND zalecane jest powtórzenie testu.

Wynik UNR zostanie zgłoszony, jeśli nie zostanie wykryta ważna amplifikacja DNA wirusa HPV lub genu β G, co wskazuje na prawdopodobne nieprawidłowe działanie odczynników lub obecność inhibitorów. Jeśli zgłoszony zostanie wynik UNR, jako pierwszy krok zalecane jest powtórzenie testu. W przypadku niepowodzenia powtórzenia testu można rozcieńczyć próbkę w celu złagodzenia wpływu inhibitorów obecnych w próbce.

Wynik NR zostanie zgłoszony, jeśli analiza próbki zostanie przerwana z powodu błędu systemu. Jeśli zgłoszony zostanie wynik NR, zalecane jest powtórzenie testu. Ta flaga jest zgłaszana tylko w przypadku oprogramowania NeuMoDx w wersji 1.8 lub nowszej. W starszych wersjach oprogramowania błąd ten jest zgłaszany jako wynik IND.

PARAMETRY SKUTECZNOŚCI

Czułość analityczna

Granice wykrywalności (Limit of Detection, LoD) określono za pomocą szeregu trzykrotnych rozcieńczeń bloków gBlock (bloków dwuniciowego genomowego DNA) zawierających region odpowiadający amplikonowi każdego wykrywanego w oznaczeniu typu wirusa HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68) i genu β -globiny. Każdy szereg rozcieńczeń zawierający sześć próbek przygotowano w obecności 2000 ng/ml ludzkiego DNA (tło; z wyjątkiem β -globiny) i przetestowano każde stężenie 45 razy. Wyniki badania prowadzonego w celu wyznaczenia granicy LoD w analizie wskaźnika udanych odczytów na poziomie 95% przedstawiono poniżej w Tabeli 3.

Tabela 3. Granica wykrywalności (Limit of Detection, LoD) oznaczenia NeuMoDx HPV Assay dla 15 typów wirusa hrHPV i genu β -globiny

Cząsteczka docelowa	Granica wykrywalności (kopie/ml)
HPV 16	8230
HPV 18	2743
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 -globina	74 074

Swoistość analityczna

Swoistość analityczną oznaczenia NeuMoDx HPV Assay określono względem fragmentów DNA zawierających sekwencje genomów HPV niebędące sekwencjami docelowymi (Tabela 4) w stężeniu 1×10^6 kopii/ml oraz względem innych potencjalnie patogennych mikroorganizmów/wirusów obecnych w pochwie (Tabela 5) w stężeniu 1×10^6 CFU/ml lub 1×10^5 PFU/ml. W oznaczeniu nie stwierdzono reaktywności krzyżowej z typami HPV niezawierającymi sekwencji docelowych (6, 11, 26, 30, 34, 53, 69, 73, 82, 85) ani z innymi mikroorganizmami/wirusami. Pozytywne wyniki „HPV Other” (Pozostałe typy HPV) były obserwowane w próbkach zawierających wirusa HPV 70, prawdopodobnie ze względu na wysoką homologię sekwencji między typami 39, 68 i 70. W dalszych testach miareczkowania wykazano, że możliwe jest wykrycie tego wirusa przy stężeniu $\geq 4,12 \times 10^6$ kopii/ml. Na podstawie badań epidemiologicznych, filogenetycznych i czynnościowych uznano wirusa HPV 70 za potencjalnie rakotwórczy.

Tabela 4. Typy HPV niezawierające sekwencji docelowych oceniane pod kątem reaktywności krzyżowej

Genotypy HPV niezawierające sekwencji docelowych	
HPV 6	HPV 69
HPV 11	HPV 70
HPV 26	HPV 73
HPV 30	HPV 82
HPV 34	HPV 85
HPV 53	

Tabela 5. Mikroorganizmy/wirusy oceniane pod kątem reaktywności krzyżowej

Mikroorganizm/wirus		
Adenowirus*	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	Wirus Epsteina-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>	Wirus opryszczki pospolitej typu 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	Wirus opryszczki pospolitej typu 2	<i>Staphylococcus faecalis</i>
<i>Corynebacterium spp.</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Staphylococcus pyogenes</i>
Cytomegalowirus	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
<i>Treponema pallidum**</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	

*badany w stężeniu 1×10^5 (TCID₅₀)/ml

**patogen oceniany w analizie *in silico*

Odtwarzalność analityczna

Odtwarzalność analityczną oznaczenia NeuMoDx HPV Assay oceniono na podstawie tego samego zestawu danych, z którego korzystano podczas badania granicy wykrywalności. Próbkę testowano w stężeniu 3X LoD za pomocą 3 różnych systemów NeuMoDx Molecular System — 1 systemu N288 i 2 systemów N96 — przy użyciu 3 różnych serii pasków testowych NeuMoDx HPV Test Strip. Otrzymane dane wskazują na znakomitą ogólną odtwarzalność wyników, przy maksymalnym CV na poziomie 3,0% dla każdego przetestowanego genotypu, co przedstawiono w Tabeli 6. Dodatkowo na podstawie tego zestawu danych wykazano odtwarzalność wyników między seriami odczynników i między systemami, co przedstawiono w Tabeli 7.

Tabela 6. Przetestowane genotypy wirusa hrHPV

Cząsteczka docelowa	Stężenie cząstek docelowych	I. kopii/ml	Wskaźnik udanych odczytów	CV ogółem
β-globina	3X LoD	222 222	100% (45/45)	1,8%
HPV 16		24 691	100% (44/44)	1,3%
HPV 18		8230	100% (45/45)	1,3%
HPV 31		74 074	100% (45/45)	1,3%
HPV 33		222 222	100% (45/45)	1,6%
HPV 35		222 222	100% (45/45)	0,8%
HPV 39		222 222	100% (45/45)	1,4%
HPV 45		222 222	100% (45/45)	1,5%
HPV 51		222 222	100% (45/45)	1,8%
HPV 52		666 667	97,8% (44/45)	3,0%
HPV 56		222 222	100% (45/45)	1,3%
HPV 58		666 667	100% (44/44)	2,4%
HPV 59		666 667	100% (45/45)	2,5%
HPV 66		222 222	100% (45/45)	1,8%
HPV 67		222 222	100% (45/45)	1,4%
HPV 68		2 000 000	100% (45/45)	2,9%

Tabela 7. Odtwarzalność między seriami i między systemami

Cząsteczka docelowa	Zmienność między seriami, CV			Zmienność między systemami, CV		
	Seria 1	Seria 2	Seria 3	System 1 (N96)	System 2 (N288)	System 3 (N96)
β-globina	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%

Substancje zakłócające

Do otrzymanych sztucznie próbek w roztworze PreservCyt dodano cząstki rekombinowanego bakulowirusa zawierającego regiony odpowiadające amplikonom wirusa HPV 16, 18, 51 i β-globiny w stężeniu 1000 kopii/ml oraz substancje wymienione w Tabeli 8. Żaden z czynników nie wykazywał istotnego efektu hamującego wpływającego na skuteczność oznaczenia.

Tabela 8. Przetestowana substancja potencjalnie zakłócająca

	Substancja	Stężenie
Czynnik endogenny	Krew pełna (ludzka)	1% (o/o)
	Leukocyty	10 ⁶ komórek/ml
	Mucyna	1% (o/o)
Czynnik egzogenny	Produkt do irygacji	1% (o/o)
	Krem przeciwgrzybiczy	1% (w/o)
	Środek plemnikobójczy	1% (w/o)
	Lubrykant dopochwowy	1% (w/o)
	Dezodorant do higieny intymnej	1% (o/o)
	Pianka antykoncepcyjna	1% (w/o)

Stabilność próbki w aparacie

Materiał kontrolny w postaci rekombinowanego bakulowirusa zawierającego sekwencje docelowe odpowiadające sekwencjom wirusa HPV 16, 18, 51 i genu β -globiny dodano w stężeniu $\sim 3x$ LOD kopii/ml do podłoża do pobierania próbek SurePath lub PreservCyt i przeanalizowano przy użyciu oznaczenia NeuMoDx HPV Assay. Po zakończeniu analizy wszystkie próbki z próbkami pozytywnymi i negatywnymi pozostawiono na stole roboczym systemu przez 4, 8 i 24 godziny, a następnie przetestowano ponownie. Oczekiwano, że we wszystkich punktach czasowych zostanie wygenerowany wynik POSITIVE (Pozytywny) dla wszystkich próbek materiału cytologicznego z szyjki macicy z dodatkiem sekwencji docelowych oraz wynik NEGATIVE (Negatywny) (dla wszystkich sekwencji docelowych) dla próbek materiału cytologicznego z szyjki macicy bez dodatku sekwencji docelowych. W punkcie czasowym odpowiadającym 24 godzinom przechowywania próbki w systemie zaobserwowano pełną zgodność z wynikiem oczekiwanym, co wskazuje, że próbki przeznaczone do testów przy użyciu oznaczenia NeuMoDx HPV Assay zachowują stabilność w aparacie przez 24 godziny. Podsumowanie wyników zawiera *Tabela 9* poniżej. Podczas przechowywania próbek w roztworze PreservCyt w systemie przez 24 godziny obserwowano odparowanie do 20% roztworu; nie wpłynęło to jednak negatywnie na detekcję sekwencji docelowych w badanych stężeniach.

Tabela 9. Podsumowanie danych dotyczących stabilności próbek w aparacie

Stabilność próbek w aparacie	Cząsteczka docelowa	PreservCyt		SurePath	
		T ₀	24 godz.	T ₀	24 godz.
		Zgodność (%)	Zgodność (%)	Zgodność (%)	Zgodność (%)
Zestaw próbek pozytywnych	HPV 16	100%	100%	100%	100%
	HPV 18	100%	100%	100%	100%
	Pozostałe typy HPV	100%	100%	100%	100%
	β -globina	100%	100%	100%	100%
Zestaw próbek negatywnych	Próbka negatywna (tylko gen β -globiny)	100%	100%	100%	100%

Skuteczność kliniczna — podłoże do pobierania próbek PreservCyt

Kliniczna czułość i swoistość oznaczenia NeuMoDx HPV Assay wykonywanego na próbkach z szyjki macicy z wewnątrznałonkową neoplazją szyjki macicy stopnia 2 lub większego (Cervical Intraepithelial Neoplasia 2+, CIN2+) pobranych do roztworu PreservCyt została oceniona za pomocą analizy równoważności względem oznaczenia referencyjnego (tj. oznaczenia wykrywającego wirusy HPV wysokiego ryzyka wykonywanego techniką GP5+/6+ PCR-EIA) zgodnie z międzynarodowymi wytycznymi dotyczącymi wymagań dla testów na obecność wirusa HPV przeprowadzanych podczas badań przesiewowych pod kątem raka szyjki macicy¹⁶. Przeprowadzono badanie kliniczno-kontrolne — przetestowano 67 próbek pobranych od kobiet, które ukończyły 30. rok życia, u których metodą histologiczną potwierdzono obecność zmian CIN2+ (tj. przypadki; *Tabela 10*). W celu określenia swoistości klinicznej przebadano 823 kolejno pobrane próbki materiału do cytologii płynnej uzyskane z populacji kobiet poddawanych badaniom przesiewowym, które miały prawidłowe wyniki cytologii i u których nie stwierdzono obecności zmian CIN2+ w ciągu 2-letniego okresu kontrolnego (tj. kontrole). Ogólny wskaźnik skuteczności oznaczenia NeuMoDx HPV Assay wyniósł 99,4% (818/823), co wynika z danych przedstawionych w *Tabeli 11*. Kliniczna czułość oznaczenia NeuMoDx HPV Assay dla próbek z CIN2+ wyniosła 92,5% (62/67; 95-procentowy CI: 83,3–96,9), a kliniczna swoistość dla próbek z CIN2+ wyniosła 95,6% (782/818; 95-procentowy CI: 92,2–97,6); obie te wartości były równoważne względem oznaczenia referencyjnego wykonywanego metodą GP5+/6+ PCR-EIA (odpowiednio $P=0,02$ i $P<0,0001$).

Tabela 10. Wyniki badania czułości klinicznej wykonywanego na próbkach pobranych od kobiet, które ukończyły 30. rok życia, z potwierdzoną obecnością zmian CIN2+

Test referencyjny	NeuMoDx HPV Assay		
	POZ	NEG	ŁĄCZNIE
POZ	61	2	63
NEG	1	3	4
ŁĄCZNIE	62	5	67
Czułość kliniczna oznaczenia NeuMoDx HPV Assay: 92,5% (95-procentowy CI: 83,3–96,9)			

Tabela 11. Wyniki badania swoistości klinicznej wykonywanego na próbkach pobranych od kobiet z prawidłową cytologią i brakiem potwierdzonych zmian CIN2+

Test referencyjny	NeuMoDx HPV Assay		
	POZ	NEG	ŁĄCZNIE
POZ	28	19	47
NEG	8	763	771
ŁĄCZNIE	36	782	818
Swoistość kliniczna oznaczenia NeuMoDx HPV Assay: 95,6% (95-procentowy CI: 92,2-97,6)			

Przetestowano 173 próbki do cytologii płynnej pobrane od kobiet poniżej 30. roku życia zgłaszających się na wizyty do przychodni. Wskaźnik skuteczności oznaczenia NeuMoDx HPV Assay wynosił 98,3% (170/173) (Tabela 12). Czulość oznaczenia NeuMoDx HPV Assay dla próbek z CIN3+ wyniosła 91,1% (41/45; 95-procentowy CI: 78,6–96,6), a swoistość dla próbek z CIN3+ wyniosła 51,2% (64/125; 95-procentowy CI: 42,5–60,0). Względne wartości czulości i swoistości w porównaniu do testu QIAScreen HPV PCR Test wyniosły odpowiednio 1,03 i 1,10.

Tabela 12. Skuteczność oznaczenia NeuMoDx HPV Assay wykonywanego na próbkach pobranych od kobiet poniżej 30. roku życia, stratyfikowanych według wyniku badania histologicznego i wyniku testu QIAScreen HPV PCR Test

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

W przypadku kobiet, u których stwierdzono komórki ASC-US lub zmiany LSIL, czulość kliniczna oznaczenia dla próbek z CIN2+ wyniosła 91,7% (11/12; 95-procentowy CI: 58,7–98,8), a swoistość kliniczna dla próbek z CIN2+ wyniosła 75,0% (15/20; 95-procentowy CI: 52,2–89,2) (Tabela 13).

Tabela 13. Skuteczność oznaczenia NeuMoDx HPV Assay wykonywanego na próbkach pobranych od kobiet z wynikiem cytologii wskazującym na ASC-US/LSIL, stratyfikowanych według wyniku badania histologicznego i wyniku testu referencyjnego

Badanie histologiczne	Oznaczenie referencyjne	NeuMoDx HPV Assay		
		NEG	POZ	ŁĄCZNIE
<=CIN1	NEG	13	-	13
	POZ	2	5	7
	ŁĄCZNIE	15	5	20
CIN2	NEG	-	-	-
	POZ	-	6	6
	ŁĄCZNIE	-	6	6
CIN3+	NEG	1	-	1
	POZ	-	5	5
	ŁĄCZNIE	1	5	6
OGÓŁEM	NEG	14	-	14
	POZ	2	16	18
	ŁĄCZNIE	16	16	32

Skuteczność kliniczna — podłoże do pobierania próbek SurePath

Kliniczną czulość i swoistość oznaczenia NeuMoDx HPV Assay pod względem detekcji zmian CIN2+ wyznaczono w ramach badania kliniczno-kontrolnego przy użyciu 948 próbek zeszkobin z szyjki macicy pobranych do podłoża do pobierania próbek SurePath. Względną czulość i swoistość oznaczenia NeuMoDx HPV Assay pod kątem zmian CIN2+ w porównaniu ze zwalidowanym klinicznie oznaczeniem referencyjnym (tj. oznaczenie HPV-Risk Assay) wyznaczono przy użyciu metody statystycznej o nazwie „test oceny równoważności”.

Czułość kliniczną wyznaczono przy użyciu 106 próbek pobranych od kobiet, u których metodą histologiczną potwierdzono obecność zmian CIN2+ (tj. przypadki). Średni wiek kobiet wynosił 38 lat (zakres 30–58 lat). Wyznaczono, że oznaczenie NeuMoDx HPV Assay charakteryzuje się czułością na poziomie 92,5% (98/106; 95-procentowy CI: 85,6–96,2), równoważną względem czułości oznaczenia referencyjnego HPV-Risk Assay (Tabela 14). Względna czułość oznaczenia NeuMoDx HPV Assay w porównaniu z oznaczeniem HPV-Risk Assay była równa 1,00 przy wartości w teście oceny równoważności $P=0,0009$.

Swoistość kliniczną wyznaczono przy użyciu 842 próbek materiału do cytologii płynnej (LBC; roztwór SurePath) uzyskanych z populacji kobiet poddawanych badaniom przesiewowym, które miały prawidłowe wyniki cytologii i u których nie stwierdzono obecności zmian CIN2+ w ciągu 2-letniego okresu kontrolnego. Średni wiek kobiet wynosił 43 lata (zakres 30–59 lat). Dla 98,6% (935/948) próbek uzyskano ważne wyniki. Swoistość oznaczenia NeuMoDx HPV Assay wyniosła 93,5% (775/829; 95-procentowy CI: 91,6–95,0), a swoistość oznaczenia referencyjnego HPV-Risk Assay wyniosła 91,9% (762/829; 95-procentowy CI: 89,9–93,6) (Tabela 15). Względna swoistość oznaczenia NeuMoDx HPV Assay w porównaniu z oznaczeniem HPV-Risk Assay wyniosła 1,02 przy wartości w teście oceny równoważności $P<0,0001$.

Tabela 14. Wyniki badania czułości klinicznej wykonywanego przy użyciu próbek pobranych do podłoża do pobierania próbek SurePath od kobiet z potwierdzonymi zmianami CIN2+

Test referencyjny	NeuMoDx HPV Assay		
	POZ	NEG	ŁĄCZNIE
POZ	97	1	98
NEG	1	7	8
ŁĄCZNIE	98	8	106
Czułość kliniczna oznaczenia NeuMoDx HPV Assay: 92,5% (95-procentowy CI: 85,6-96,2)			

Tabela 15. Wyniki badania swoistości klinicznej wykonywanego na próbkach pobranych do podłoża do pobierania próbek SurePath od kobiet z prawidłową cytologią i brakiem potwierdzonych zmian CIN2+

Test referencyjny	NeuMoDx HPV Assay		
	POZ	NEG	ŁĄCZNIE
POZ	48	6	54
NEG	19	756	775
ŁĄCZNIE	67	775	842
Swoistość kliniczna oznaczenia NeuMoDx HPV Assay: 93,5% (95-procentowy CI: 91,6-95,0)			

Odtwarzalność kliniczna

Wewnątrzlaboratoryjna odtwarzalność i międzylaboratoryjna zgodność wyników testu wykonywanego na próbkach klinicznych pobranych do roztworu PreservCyt zostały ocenione zgodnie z międzynarodowymi wytycznymi w zakresie wymagań dotyczących testów na obecność wirusa HPV przeprowadzanych podczas badań przesiewowych pod kątem raka szyjki macicy¹⁶. Wewnątrzlaboratoryjna odtwarzalność oznaczenia na próbkach z szyjki macicy w czasie badania wyniosła 96,0% (484/504; 95-procentowy CI: 94,3–97,4) z wartością kappa (κ) równą 0,90 (Tabela 16). Wyniki uzyskane podczas tego badania oceniono następnie pod kątem zgodności z wynikami uzyskanymi w innym ośrodku badawczym. Otrzymano następujące wskaźniki zgodności międzylaboratoryjnej: 96,4% (486/504; 95-procentowy CI: 94,8–97,7) przy $\kappa=0,91$ i 94,4% (476/504; 95-procentowy CI: 92,5–96,1) przy $\kappa=0,86$ odpowiednio dla pierwszych i drugich wyników testu (Tabela 17).

Tabela 16. Wewnątrzlaboratoryjna odtwarzalność wyników oznaczenia NeuMoDx HPV Assay w czasie

NeuMoDx HPV Assay — 1. wynik testu	NeuMoDx HPV Assay — 2. wynik testu		
	NEG	POZ	ŁĄCZNIE
NEG	347	13	360
POZ	7	137	144
ŁĄCZNIE	354	150	504
Odtwarzalność = 96,0% (95-procentowy CI: 94,3–97,4); $\kappa=0,90$			

Tabela 17. Międzylaboratoryjna zgodność wyników oznaczenia NeuMoDx HPV Assay

NeuMoDx HPV Assay – test zewnętrzny	NeuMoDx HPV Assay — 1. wynik testu uzyskany wewnątrznie			NeuMoDx HPV Assay — 2. wynik testu uzyskany wewnątrznie		
	NEG	POZ	ŁĄCZNIE	NEG	POZ	ŁĄCZNIE
NEG	355	13	368	347	21	368
POZ	5	131	136	7	129	136
ŁĄCZNIE	360	144	504	354	150	504
	Zgodność: 96,4% (95-procentowy CI: 94,8–97,7); $\kappa=0,91$			Zgodność: 94,4% (95-procentowy CI: 92,5-96,1); $\kappa=0,86$		

LITERATURA

- 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.
- 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.
- 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.
- Snijders P, Steenbergen R, Heideman D, Meijer C. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J.Pathol.* 2006;208(2):152-64.
- Vinokurova S, Wentzensen N, Kraus I, Klaes R, Driesch C, Melsheimer P, Kisseljev 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Baseman, J. G. & Koutsky, L. A. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J. Clin. Virol.* 32 (Suppl. 1), S16–S24 (2005).
- 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.
- 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.
- 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
- Cubie H, Cuschieri K, Understanding HPV tests and their appropriate applications, *Cytopathology* 24 (5) (2013) 289–308.
- 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.
- 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)
- Meijer C, Berkhof J, Castle P, Hesslink 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.
- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

ZNAKI TOWAROWE

NeuMoDx™ i NeuDry™ są znakami towarowymi firmy NeuMoDx Molecular, Inc.


Hamilton® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Hamilton Company.

PreservCyt® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Hologic, Inc.


SurePath™ jest znakiem towarowym firmy Becton Dickinson (BD).


Wszystkie inne nazwy produktów, znaki towarowe i zastrzeżone znaki towarowe, które mogą pojawiać się w tym dokumencie, są własnością ich odpowiednich właścicieli.


LEGENDA SYMBOLI

 Wyłącznie na receptę


 Producent


 Wyrób medyczny do diagnostyki *in vitro*

 Upoważniony przedstawiciel na terytorium Unii Europejskiej


 Numer katalogowy


 Kod partii


 Data ważności

 Zakres temperatur

 Nie używać ponownie

 Zawiera materiały wystarczające do przeprowadzenia <n> testów

 Zapoznać się z instrukcją użycia

 Przestroga

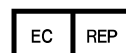
 Zagrożenie biologiczne

 Oznaczenie 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
Holandia



Wsparcie techniczne / zgłaszanie danych dotyczących nadzoru nad produktem (vigilance): support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents