

Kesäkuu 2023

QIAscreen[®] HPV PCR Test -käyttöohje (käsikirja)



Versio 1

IVD

In vitro -diagnostiikkaan

Käytettäväksi Rotor-Gene[®] Q MDx -laitteen kanssa

CE

REF

617005



Self-screen B.V., Plesmanlaan 125, 1066 CX Amsterdam,
The Netherlands

R3 **MAT**

1132289FI

Sample to Insight



Sisältö

Käyttötarkoitus.....	4
Yhteenveto ja selitykset.....	5
Menetelmän toimintaperiaate.....	6
Toimitetut materiaalit.....	7
Tarvittavat materiaalit, jotka eivät kuulu toimitukseen.....	8
Tarvikkeet, reagenssit ja välineet näytteen valmistelua varten.....	8
Rotor-Gene Q MDx -laitteen kulutustarvikkeet.....	8
Välineet.....	8
Eristys- ja Real-time PCR -välineet.....	9
Varoitukset ja varotoimet.....	10
Turvallisuustiedot.....	10
Yleiset varotoimet.....	10
Reagenssien säilytys ja käsittely.....	12
Näytteiden säilytys ja käsittely.....	13
Näytteen valmistelu.....	15
Protokolla: QIAscreen HPV PCR Test -testi Rotor-Gene Q MDx -laitteella.....	18
PCR-ajo Rotor-Gene Q MDx -laitteilla, joissa on 72 putken roottori.....	21
Tulosten tulkinta.....	24
Rajoitukset.....	26
Suorituskykyominaisuudet.....	28
Havaitsemisraja (Limit of Detection, LoD).....	28
Analyttinen spesifisyys.....	29

Kliininen suorituskyky kohdunkaulan irtosolunäytteillä	29
Uusittavuus*	30
Suorituskyky itse otetuilla (kohdunkaulan ja) emättimen irtosolunäytteillä	30
Häiritsevät aineet*	30
Lähdeviitteet	31
Vianmääritysopas	33
Merkinnot	35
Yhteystiedot	36
Tilautustiedot	37
Asiakirjan muutoshistoria	39

Käyttötarkoitus

QIAscreen HPV PCR Test -testi on in vitro real-time PCR-pohjainen määrittäminen ihmisen papilloomaviruksen (human papillomavirus, HPV:n) seuraavien 15 (todennäköisesti) suuririskisten HPV-genotyyppien DNA:n kvalitatiiviseen osoittamiseen: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 ja 68.

QIAscreen HPV PCR Test -testillä voidaan testata sellaisia DNA-näytteitä, jotka on eristetty seuraavilla tavoilla kerätyistä näytteistä:

- kohdunkaulan näytteet, jotka lääkäri on kerännyt harjatyypisellä näytteenottovälineellä
- emättimen irtosolunäytteet, jotka tutkittava on kerännyt itse harjatyypisellä välineellä tai huuhteluvälineellä.

Käyttöindikaatiot:

- ensisijaisena testinä naisten seulontatutkimuksessa kohdunkaulan syövän (esiasteen) varalta määrittämään kolposkopian tai muiden jatkotoimenpiteiden tarpeellisuus
- seurantakokeena naisille, joiden papakokeen tuloksissa on ilmennyt merkitykseltään epäselviä epätypillisiä levyepiteelisoluja (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) tai lievä kohdunkaulan epiteelinsisäinen neoplasia (low-grade squamous intra-epithelial neoplasia, ILSI) määrittämään kolposkopian tai muiden jatkotoimenpiteiden tarpeellisuus.

Tuote on tarkoitettu tekniikkojen, laboranttien ja muiden sellaisten ammattilaisten käyttöön, jotka ovat saaneet in vitro (IVD) -menetelmiä, molekyylibiologian tekniikoita ja Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM -järjestelmää koskevaa koulutusta.

Yhteenveto ja selitykset

Ihmisen papilloomavirukset (human papillomavirus, HPV) ovat pieniä, kaksijuosteisia Papillomaviridae-ryhmään kuuluvia DNA-virusia. Sirkulaarisen genomin koko on noin 7,9 kiloemäsparia. HPV-tyyppejä on tunnistettu yli 100. Niistä tietyt HPV-tyypit ovat tunnetusti suuririskisiä (high-risk HPV, hrHPV), kuten HPV 16 ja 18, ja ne liittyvät limakalvojen leesioihin, jotka voivat muuttua pahanlaatuisiksi. Kohdunkaulan syöpä ja sen esiasteet (kohdunkaulan epiteelin atypia eli cervical intraepithelial neoplasia, CIN) ovat suuririskisen HPV-tyypin (1-3) aiheuttaman pitkäkestoisen infektion tunnetuimpia komplikaatioita.

Viruksen genomi sisältää aikaisia (early, E) ja myöhäisiä (late, L) geenejä, jotka koodaavat HPV-viruksen elinkaaren varhais- ja myöhäisvaiheille välttämättömiä proteiineja. hrHPV-tyyppien E6- ja E7-geenituotteilla on karsinogeenisia ominaisuuksia, ja ne ovat välttämättömiä isäntäsolun pahanlaatuisiksi muuttumiselle (4). Pahanlaatuisiksi muuttuminen on usein liitetty viruksen integroitumiseen osaksi isäntäsolun genomia (5). Integroituminen aiheuttaa viruksen genomin häiriöitä alueella, joka voi ulottua avoimeen lukukehykseen E1-L1 (6). Tämä voi vaikuttaa viruksen DNA:n PCR-monistumiseen näillä alueilla. Koska viruksen onkoproteiinien jatkuva ilmentyminen vaikuttaa muuntuneen ilmiänsä käynnistymisen lisäksi myös sen ylläpitoon (7, 8), viruksen E6/E7-alue säilyy aina kohdunkaulan syövän integroituneissa virusgenomeissa (6). QIAScreen HPV PCR Test -testi kohdistuu E7-geenin konservoituun alueeseen. Määritys on validoitu kliinisesti HPV-määritysten kansainvälisten ohjeiden mukaan (9, 10, 14, 15).

Menetelmän toimintaperiaate

QIAscreen HPV PCR Test -testi on real-time multiplex-PCR-pohjainen määrittely, jonka kohteena on 15 (todennäköistä) suuririskisen HPV-tyypin E7-geeni. Testissä käytetään fluoresenssikoettimia yhden tai usean kertyvän PCR-tuotteen osoittamiseen. Fluoresenssisignaali voimistuu jokaisessa PCR-syklissä logaritmisesti, ja tuloksena on monistumiskäyrä. Kun kohteen monistumiskäyrä ylittää kynnysarvonsa, näytettä pidetään positiivisena kyseiselle kohteelle. Multiplex-tekniikan ansiosta voidaan havaita samanaikaisesti neljä eri fluoresenssiväriä reaktiota kohti, kun fluoresenssivärit edustavat eri kohteita. Nämä neljä kohdetta ovat: **1.** HPV 16, **2.** HPV 18, **3.** 13 muuta hrHPV-tyyppiä kokoelmana ja **4.** ihmisen β -globiinigeeni. QIAscreen HPV PCR Test -testi osoittaa erikseen HPV 16:n, HPV 18:n ja 13 muuta hrHPV-genotyyppiä. Ihmisen β -globiinigeeniä käytetään näytteen kontrollina, jonka avulla selvitetään näyte-DNA:n laatu ja mahdollisten haittaavien aineiden esiintyminen.

Toimitetut materiaalit

Sarjan sisältö

QIAscreen HPV PCR Test Kit		72 reaktiota
Tuotenumero		617005
QIAscreen Master Mix (QIAscreen-pääseos) (1 putki)	Läpinäkyvä väri	1080 µl
QIAscreen Positive Control (Positiivinen QIAscreen-kontrolli) (1 putki)	Läpinäkyvä väri	100 µl
QIAscreen Negative Control (Negatiivinen QIAscreen-kontrolli) (1 putki)	Läpinäkyvä väri	100 µl
QIAscreen HPV PCR Test -käyttöohje (käsikirja)		1

Tarvittavat materiaalit, jotka eivät kuulu toimitukseen

Kemikaalien kanssa työskennellessä on aina käytettävä laboratoriotakkia, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja. Lisätietoja on tuotekohtaisissa käyttöturvatieotteissa (Safety Data Sheets, SDS), joita saa tuotteen toimittajalta.

Tarvikkeet, reagenssit ja välineet näytteen valmistelua varten

- Hologic PreservCyt® Solution -liuos (itse otettujen näytteiden säilytykseen)
- Standardit DNA:n eristämisarjat, kuten QIAamp® DSP virus spin -sarja (QIAGEN, tuotenro 61704) ja QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit (QIAGEN, tuotenro 937055) ja NucleoMag 96 Tissue -sarja (Macherey-Nagel, tuotenro 744300)
- PBS kohdunkaulan irtosolunäytteiden käsittelemiseen PreservCyt-säilytysaineella
- AL-puskuri (QIAGEN, tuotenro 19075) SurePathiin ja CellSolutions-säilytysaineeseen otettujen kohdunkaulan irtosolunäytteiden esikäsittelyyn

Rotor-Gene Q MDx -laitteen kulutustarvikkeet

- 0,1 ml:n liuskaputket ja korkit käytettäväksi 72-kuopparoottorin kanssa (QIAGEN, tuotenro 981103 tai tuotenro 981106)

Välineet

- Tarkoitukseen sopivia pipettejä * (säädettäviä) PCR-ajoja varten (1–10 µl; 10–100 µl)
- Tarkoitukseen sopivia suodattimellisia steriilejä DNAasittomia pipetin kärkiä
- Kertakäyttökäsineitä
- Pöytämallinen sentrifugi*
- Vortex-sekoitin*

* Varmista, että välineet on tarkastettu ja kalibroitu valmistajan ohjeiden mukaan.

Eristys- ja Real-time PCR -välineet

- QIASymphony SP -moduuli (tuotenro 9001297) (eristyksen valinnaiseen automointiin)
- Rotor-Gene Q 5plex HRM System (tuotenumero 9002033) tai Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM -laite (tuotenumero 9002032), jossa on Rotor-Gene Q -ohjelmistoversio 2.3.1 tai uudempi versio*
- QIAScreen-ajomalli Rotor-Gene Q -laitteelle. Mallin nimi on **QIAScreen RGQ profile v1.0.ret**.
- QIAScreen-kanava-analyysimallit kanaville vihreä (HPV 16), keltainen (HPV muut), oranssi (β -globiini) ja punainen (HPV 18). Mallien tiedostotunniste on .qut.

* Mikäli mahdollista, voidaan käyttää Rotor-Gene Q 5plex HRM -instrumenttia, joka on valmistettu tammikuussa 2010 tai myöhemmin. Valmistuspäivämäärä käy ilmi laitteen taustapuolella olevasta sarjanumerosta. Sarjanumero on muodossa "kkvnnn", jossa "kk" on valmistuskuukausi, "v" on valmistusvuoden kaksi viimeistä numeroa ja "nnn" on laitteen tunnistenumero.

Varoitukset ja varotoimet

Turvallisuustiedot

Kemikaalien kanssa työskennellessä on aina käytettävä laboratoriotakkia, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja. Lisätietoa saa tuotekohtaisista käyttöturvatieotteista (Safety Data Sheet, SDS). Ne ovat saatavana PDF-tiedostoina osoitteessa www.qiagen.com/safety. Voit hakea, lukea ja tulostaa kaikkien QIAGEN-sarjojen ja niiden osien käyttöturvatieotteet.

- QIAScreen HPV PCR Test -testin positiivisissa ja negatiivisissa kontrolleissa on natriumatsidia säilöntäaineena (0,01 %). Natriumatsidi saattaa reagoida lyijy- ja kupariputkien kanssa, jolloin muodostuu räjähdysherkkiä metalliatsideja. Atsidin muodostumisen ehkäisemiseksi huuhto viemärit perusteellisesti vedellä natriumatsidia sisältävien liuosten hävittämisen jälkeen.

Yleiset varotoimet

PCR-testien käyttäminen edellyttää hyvien laboratorioskäytäntöjen noudattamista, joihin kuuluu molekyylibiologiaan käytettävien laitteiden ylläpito sovellettavien säädösten ja standardien mukaisesti.

Noudata aina seuraavia ohjeita:

- Käytä kertakäyttöisiä puuterittomia suojakäsineitä, laboratoriotakkia ja suojalaseja käsitellessäsi näytteitä.
- Estä näytteen ja tarvikesarjan mikrobi- ja nukleasi (DNAasi) -kontaminaatio. DNAasi saattaa hajottaa DNA-mallin.
- Vältä DNA:n tai PCR-tuotteen siirtymiskontaminaatiota, joka voi aiheuttaa virheellisesti positiivista signaalia.
- Käytä aina kertakäyttöpipettikärkiä, joissa ei ole DNAasia ja joissa on aerosolieste.

- QIAscreen HPV PCR Test -testin reagenssit on laimennettu optimaalisesti. Älä laimenna reagensseja enempää, koska seurauksena saattaa olla suorituskyvyn heikkeneminen.
- Kaikki QIAscreen HPV PCR Test -testin mukana toimitetut reagenssit on tarkoitettu käytettäväksi ainoastaan muiden samaan sarjaan sisältyvien reagenssien kanssa. Älä korvaa mitään reagenssia toisen QIAscreen HPV PCR Test Kit -testisarjan samalla reagenssilla, edes samasta erästä, sillä se voi vaikuttaa suorituskykyyn.
- Rotor-Gene Q MDx -laitteen käyttöoppaassa on lisätietoja varoituksista, varotoimista ja menettelytavoista.
- Tee ennen päivän ensimmäistä ajoa Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM -laitteen lämmitysajo (95 °C 10 minuutin ajan).
- Inkubaatioajan ja -lämpötilan muuttaminen voi tuottaa virheellisiä tai ristiriitaisia tietoja.
- Älä käytä sellaisen tarvikesarjan komponentteja, jonka viimeinen käyttöpäivä on umpeutunut tai jota on säilytetty väärin.
- Vältä osien altistumista valolle: reaktioseoksissa saattaa tapahtua muutoksia, jos ne altistuvat valolle.
- Noudata äärimmäistä varovaisuutta, jotta seokset eivät sekoittuisi PCR-reagensseissa olevien synteettisten materiaalien kanssa.
- Hävitä näyte ja testijäte paikallisten turvallisuuskäytäntöjen mukaisesti.

Reagenssien säilytys ja käsittely

Kuljetusolosuhteet

QIAscreen HPV PCR Test -testi toimitetaan kuivajään päällä. Jos jokin QIAscreen HPV PCR Test -testin osa ei ole vastaanottohetkellä jäässä tai jos ulkopakkaus on avattu kuljetuksen aikana tai jos toimituspakkaus ei sisällä lähetysluetteloa, käsikirjaa tai reagensseja, ota yhteyttä QIAGENin tekniseen palveluun tai paikalliseen jälleenmyyjään (katso lisätietoja osoitteesta www.qiagen.com).

Säilytysolosuhteet

QIAscreen HPV PCR Test -testi on varastoitava heti vastaanoton jälkeen tasaisessa $-30...-15\text{ °C}$:n lämpötilassa olevaan pakastimeen valolta suojattuna.

Stabiilius


Kyseisissä olosuhteissa säilytetty QIAscreen HPV PCR Test -testi on stabiili pakkauksen etiketissä ilmoitettuun vanhenemispäivään asti.

Avatut reagenssit voidaan säilyttää alkuperäispakkauksissaan $-30...-15\text{ °C}$:n lämpötilassa. Toistuvaa sulattamista ja pakastamista on vältettävä. Pakastus-sulatusjaksoja saa olla enintään 5.

- Sekoita kääntämällä putkea ylösalaisin 10 kertaa ja käytä kaikkia putkia sentrifugissa ennen avaamista.
- Reagenssien vanhenemispäivät on ilmoitettu kunkin komponentin etiketissä. Oikein säilytetyn tuotteen suorituskyky säilyy koko stabiilisuusajan, kunhan käytetään samoja komponenttieriä.
- QIAGEN-yhtiön laaduntarkkailumenettelyihin kuuluu julkaistun pakkauksen toiminnallinen testaus jokaisesta yksittäisestä pakkauksen valmistuserästä. Älä sekoita eri tarvikesarjojen reagensseja, vaikka ne kuuluisivat samaan erään.

Kaikki kaikkien osien pakkauksiin ja etiketteihin painetut viimeistä käyttöpäivämäärää ja säilytystä koskevat ohjeet on huomioitava. Älä käytä vanhentuneita tai virheellisesti säilytettyjä komponentteja.

Näytteiden säilytys ja käsittely

<p>HUOMIO</p> 	<p>Kaikkia näytteitä on käsiteltävä mahdollisesti tartuntavaarallisena materiaalina.</p>
--	--

Kohdunkaulan irtosolunäytteet

QIAscreen HPV PCR Test -testi on tarkoitettu käytettäväksi genomiseen DNA:han, joka on peräisin kohdunkaulan irtosolunäytteistä (raaputus). Kohdunkaulan irtosolunäytteiden validoituja säilöntänesteitä ovat PreservCyt, CellSolutions®, Pathtezt® ja Surepath®. Kliinisten näytteiden säilytyslämpötilan tulisi olla 2–8 °C laboratorioon saapuessa. Näissä säilytysolosuhteissa näytteet pysyvät stabiileina PreservCyt-liuoksessa 3 kuukautta ja Surepath-säilöntänesteessä 2 viikkoa ennen DNA:n uutto.

PreservCyt-aineeseen otettuja kohdunkaulan irtosolunäytteitä voi säilyttää enintään 210 päivää näytteenoton jälkeen lämpötilassa 18–25 °C, enintään 2,5 vuotta lämpötilassa 2–8 °C tai enintään 2 vuotta lämpötilassa < 20 °C. Surepath-säilytysnesteeseen kerättyjä kohdunkaulan näytteitä voidaan säilyttää näytteenotosta laskien enintään 10 viikkoa 2–30 °C:n lämpötilassa, enintään kaksi ja puoli vuotta 2–8 °C:n lämpötilassa ja enintään 210 päivää < 20 °C:n lämpötilassa.

Itse otetut emättimen harjanäytteet

QIAscreen HPV PCR Test -testi on tarkoitettu käytettäväksi genomiseen DNA:han, joka on peräisin itse otetuista emättimen harjanäytteistä sekä kohdunkaulan ja emättimen huuhTELUNÄYTEISTÄ. Itse otetut emättimen harjanäytteet voidaan kerätä ja kuljettaa kuivina tai (0,9-prosenttisessa, NaCl) suolaliuoksessa ja säilyttää PreservCyt-liuoksessa laboratorioon

saapuessa. Itse otetut kohdunkaulan ja emättimen huuhtelunäytteet voidaan kerätä ja kuljettaa (0,9-prosenttisessa, NaCl) suolaliuksessa ja säilyttää PreservCyt-liuoksessa laboratorioon saapuessa. PreservCyt-liuoksessa olevia itse otettuja näytteitä voidaan säilyttää näytteenotosta laskien enintään 210 päivää 18–25 °C:n lämpötilassa, enintään kaksi ja puoli vuotta 2–8 °C:n lämpötilassa ja enintään 2 vuotta < 20 °C:n lämpötilassa.

Genomiset DNA-näytteet

Kun genominen DNA on eristetty, sitä voidaan säilyttää lyhytaikaisesti 28 °C:n lämpötilassa (≤ 2 vuorokautta) tai –30...–15 °C:n lämpötilassa enintään 12 kuukautta.

Näytteen valmistelu

DNA:n eristäminen

Vakiotyypiset DNA:n eristämisarjat (kolonnityypiset ja magneettihelmiin perustuvat sarjat, kuten QIAamp® DSP Virus spin -sarja, QIAAsymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit ja NucleoMag 96 Tissue -sarja ovat yhteensopivia tämän määrityksen kanssa. QIAAsymphony® DSP Virus/Pathogen Midi -sarjan käyttötiedot on kerrottu seuraavassa.

Kliiniset näytteet PreservCyt- tai PathTezt-säilytysaineessa

PreservCyt- tai PathTezt-säilytysaineessa olevilla kohdunkaulan raaputusnäytteillä PCR:n syötteenä käytettävä DNA-osuus on 0,125 % 20 ml:sta PreservCyt- tai PathTezt-raaputusnäytettä. Tämä vastaa 25 µl:a alkuperäistä näytetyyppeä. Koska PCR:ssä syötteenä voidaan käyttää enintään 5 µl eristettyä DNA:ta, DNA:n eristys tulee tehdä siten, että 5 µl DNA-eristettä vastaa 25 µl kohdunkaulan irtosolunäytettä, jotta PCR:ssä varmasti käytetään oikeaa kohdunkaulanäytteen osuutta. Vastaavat säilöntäaineet, jotka sisältävät formaldehydiä (kuten Surepath) tai eivät sisällä formaldehydiä (kuten PreservCyt), tulee käsitellä samalla tavalla.

Tärkeää: PreservCyt-väliaine voi häiritä DNA:n eristysprosessia. Tämän voi välttää kahdella eri tavalla.

1. Laimenna PreservCyt-näytteen alikvootti samaan määrään DNA:n eristämisarjan sisältämää PBS:ää tai lyysauspuskuriä ja sekoita ennen DNA:n eristämisen aloittamista. Varmista, että näytteen kokonaismäärä on yhteensopiva DNA:n eristämisarjan kanssa. Jos kokonaismäärästä tulee liian suuri eristämisarjalle, on suositeltavaa käyttää menetelmää 2, joka on selostettu alla.
2. Sentrifugoi PreservCyt-näytettä ($\geq 3400 \times g$ 10 minuutin ajan) ja poista supernatantti. Pelletti uudelleensuspendoituu sopivaan määrään PBS:ää tai lyysauspuskuriä, joka on yhteensopiva DNA:n eristämisarjan kanssa (QIAamp DSP Virus spin -sarja:

uudelleensuspendoi 200 µl:aan PBS:ää ja noudata valmistajien ohjeita DNA:n eristämisestä, eluoi 100 µl:aan; Margery Nagel Nucleomag96 tissue -sarja: uudelleensuspendoi 100 µl:aan kyseisen sarjan T1-puskuria ja noudata valmistajan ohjeita, eluoi 100 µl:aan)

Vastaava väliaine on käsiteltävä samaan tapaan.

QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit -sarjan käyttötiedot

QSDSP-protokolla: 500 µl:n kohdunkaulanäytteeseen PreservCyt-aineessa sekoitetaan 500 µl PBS:ää. Integroitu ajo, joka suorittaa Complex800_V6_DSP -protokollan, käynnistetään QIASymphony-laitteessa kohdan QIASymphony® SP/AS Yhdistetty käyttöopas – 12.3 Integroitu ajo ohjeiden mukaan. DNA eluoidaan 60 µl:aan, ja 5 µl käytetään QIAScreen HPV PCR Test -testiin. Jos käytät vain QIASymphony SP -moduulia, Complex800_V6_DSP-protokollan suorittava näytteen valmisteluajo tehdään QIASymphony SP -laitteella. Noudata vaiheita, jotka kuvataan QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit -sarjan käyttöohjeessa (käsikirja) kohdassa Yleinen puhdistusprotokolla.

SurePath- tai CellSolutions-säilytysaineessa olevilla kohdunkaulan irtosolunäytteillä PCR:n syötteenä käytettävä DNA-osuus on 0,25 % kohdunkaulan 10 ml:n SurePath- tai CellSolutions-raaputusnäytteestä. Tämä vastaa 25 µl:a alkuperäistä näytetyyppeä. Koska PCR:ssä syötteenä voidaan käyttää enintään 5 µl eristettyä DNA:ta, näytemäärä ja DNA:n eluutiivilavuus on valittava siten, että 5 µl DNA-eristettä vastaa 25 µl kohdunkaulan irtosolunäytettä (raaputus), jotta PCR:ssä varmasti käytetään oikeaa kohdunkaulanäytteen osuutta.

TÄRKEÄÄ: SurePath- ja CellSolutions-väliaineeseen otetut kliiniset näytteet on esikäsiteltävä ennen käyttöä formaldehydin aiheuttaman ristiinlinkityksen estämiseksi seuraavassa kuvatun protokollan mukaan.

SurePathiin ja CellSolutions-säilytysaineeseen otettujen kohdunkaulan irtosolunäytteiden esikäsitely:

3. Sekoita SurePath- CellSolutions-näytteeseen 1:1 AL-puskuria (QIAGEN) ja sekoita perusteellisesti.
4. Inkuboi 90 °C:n lämpötilassa 20 minuuttia ja anna tasaantua huoneenlämpöön ennen DNA:n eristämisen jatkamista.

Vastaava formaldehydiä sisältävä väliaine on käsiteltävä samaan tapaan.

Hologic PreservCyt Solution -liuoksessa olevilla itse otetuilla emättimen harjanäytteillä DNA:n eristäminen tulee tehdä siten, että 5 µl PCR:n syöteenä käytettävää DNA-eristettä vastaa 0,5 prosenttia emätinnäytteestä. Jos esimerkiksi itse otettu emätinnäyte suspendoidaan 2 millilitraan PreservCyt Solution -liuosta, 5 µl:n syöte-DNA vastaa itse otetun näytteen 10 µl:n suspensiota.

Itse otetuilla kohdunkaulan ja emättimen huuhtelunäytteillä PCR:n syöteenä käytettävä DNA-osuus vastaa 0,5 prosenttia itse otetusta huuhtelunäytteestä. Jos siis huuhtelun kokonaismäärä on 3 ml, DNA:n eristys tulee tehdä siten, että 5 µl syöte-DNA:ta vastaa 15 µl alkuperäistä itse otettua huuhtelunäytettä.

Protokolla: QIAscreen HPV PCR Test -testi Rotor-Gene Q MDx -laitteella

Tärkeitä huomioita ennen kuin aloitat

Tutustu huolellisesti Rotor-Gene Q MDx -laitteen käyttöön ennen protokollan aloittamista. Tutustu laitteen käyttöoppaaseen.

Tee ennen päivän ensimmäistä ajoa Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM -laitteen lämmitysajo (95 °C 10 minuutin ajan).

Testiä varten tarvitaan Rotor-Gene Q -sarjan ohjelmistomalli. Varmista, että käytössä on malli QIAscreen RGQ profile v1.0.ret.

Kaikkien neljän havainnointikanavan käyttämistä varten testin analysoinnissa tarvitaan Rotor-Gene Q -sarjan ohjelmistomallia. Varmista, että jokaiselle kanavalle käytetään oikeaa mallia:

- Vihreän kanavan (HPV 16) signaalien analysoinnissa on käytettävä mallia QIAscreen RGQ Green Channel analysis template.qut.
- Oranssin kanavan (β -globiini) signaalien analysoinnissa on käytettävä mallia QIAscreen RGQ Orange Channel analysis template.qut.
- Keltaisen kanavan (HPV muut) signaalien analysoinnissa on käytettävä mallia QIAscreen RGQ Yellow Channel analysis template.qut.
- Punaisen kanavan (HPV 18) signaalien analysoinnissa on käytettävä mallia QIAscreen RGQ Red Channel analysis template.qut.

Näytteiden käsittely Rotor-Gene Q MDx -laitteilla, joissa on 72 putken roottori

Samassa kokeessa voidaan testata enintään 70 genomisen DNA:n näytettä positiivisen ja negatiivisen kontrollin ohella. Kaaviossa (taulukko 1) on esimerkki latauslohkon ja roottorin asetuksista QIAscreen HPV PCR Test -sarjalla tehtävässä määrityksessä. Numerot ilmaisevat sijainnit latauslohkossa sekä roottorin loppuasennon.

Taulukko 1. QIAscreen HPV PCR Test -testin putkien järjestys Rotor-Gene Q MDx -laitteessa

Liuska	Putken paikka	Näytteen nimi	Liuska	Putken paikka	Näytteen nimi	Liuska	Putken paikka	Näytteen nimi
1	1	Positiivinen kontrolli	7	25	Näyte 23	13	49	Näyte 47
	2	Negatiivinen kontrolli		26	Näyte 24		50	Näyte 48
	3	Näyte 1		27	Näyte 25		51	Näyte 49
	4	Näyte 2		28	Näyte 26		52	Näyte 50
2	5	Näyte 3	8	29	Näyte 27	14	53	Näyte 51
	6	Näyte 4		30	Näyte 28		54	Näyte 52
	7	Näyte 5		31	Näyte 29		55	Näyte 53
	8	Näyte 6		32	Näyte 30		56	Näyte 54
3	9	Näyte 7	9	33	Näyte 31	15	57	Näyte 55
	10	Näyte 8		34	Näyte 32		58	Näyte 56
	11	Näyte 9		35	Näyte 33		59	Näyte 57
	12	Näyte 10		36	Näyte 34		60	Näyte 58
4	13	Näyte 11	10	37	Näyte 35	16	61	Näyte 59
	14	Näyte 12		38	Näyte 36		62	Näyte 60
	15	Näyte 13		39	Näyte 37		63	Näyte 61
	16	Näyte 14		40	Näyte 38		64	Näyte 62
5	17	Näyte 15	11	41	Näyte 39	17	65	Näyte 63
	18	Näyte 16		42	Näyte 40		66	Näyte 64
	19	Näyte 17		43	Näyte 41		67	Näyte 65
	20	Näyte 18		44	Näyte 42		68	Näyte 66
6	21	Näyte 19	12	45	Näyte 43	19	69	Näyte 67
	22	Näyte 20		46	Näyte 44		70	Näyte 68
	23	Näyte 21		47	Näyte 45		71	Näyte 69
	24	Näyte 22		48	Näyte 46		72	Näyte 70

Huomautus: Täytä kaikki käyttämättömät paikat tyhjiillä putkilla.

PCR-ajo Rotor-Gene Q MDx -laitteilla, joissa on 72 putken roottori

1. QIAscreen HPV PCR Test -tesin valmistelut:

Huomautus: PCR-reaktion kontaminaation välttämiseksi on suositeltavaa käyttää PCR-kaappia, jonka ominaisuuksiin kuuluu UV-säteilytys.

Tärkeää: QIAscreen Master Mix -pääseos on annosteltava alueella, joka on erillään DNA:n uuttamisalueesta.

1a. Puhdista työalusta, pipetit ja putkeline ennen DNA:ta hajottavan liuoksen käyttöä, jotta malli- tai nukleasikontaminaation riski pienenee.

Huomautus: Vaihda pipetin kärki jokaisen putken kohdalla. Näin vältät virheellisesti positiiviset tulokset, jotka ovat seurausta ei-spesifin mallin tai reaktioseoksen aiheuttamasta kontaminaatiosta.

1b. Sekoita putkia kääntämällä ne ylösalaisin 10 kertaa ja käyttämällä niitä sentrifugissa hetken aikaa, jotta putken pohjalla oleva liuos sekoittuu.

1c. Annostele 15 µl QIAscreen Master Mix -pääseosta putkiliuskojen sopiviin putkiin (enintään 72 putkea Rotor-Gene Q MDx -ajoa kohti). Reaktio voidaan valmistella huoneenlämmössä.

1d. Vie QIAscreen Master Mix -pääseos takaisin pakastimeen, jotta materiaali ei hajoa. Siirrä putket erilliselle alueelle QIAscreen Positive Control -kontrollin ja näyte-DNA:n annostelua varten.

1e. Lisää 5 µl negatiivista kontrollia paikan 2 putkeen, sekoita pipetoimalla ylös ja alas tai kääntelemällä putkea ja sulje putki korkilla.

1f. Lisää 5 µl QIAscreen Positive Control -kontrollia paikan 1 putkeen, sekoita pipetoimalla ylös ja alas tai kääntelemällä putkea ja sulje putki.

Huomautus: Vaihda pipetin kärki jokaisen putken kohdalla. Näin vältät väärät positiiviset tulokset, jotka ovat seurausta ei-spesifin mallin tai reaktioseoksen aiheuttamasta kontaminaatiosta.

1g. Lisää 5 µl näyte-DNA:ta sopiviin QIAscreen Master Mix -pääseosta sisältäviin putkiin, sekoita pipetoimalla ylös ja alas tai kääntelemällä putkia ja sulje putket korkilla.

1h. Kun 4 putken ryhmä on täytetty, kiinnitä niihin korkki.

Huomautus: PCR-putkia voidaan säilyttää pimeässä, 2–8 °C:n lämpötilassa 30 minuuttia näytteiden pipetoinnin ja kokeen käynnistämisen välillä.

2. Rotor-Gene Q MDx -laitteen valmistelu ja kokeen käynnistäminen:

Tärkeää: Tee ennen päivän ensimmäistä ajoa Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM -laitteen lämmitysajo (95 °C 10 minuutin ajan).

- 2a. Aseta 72-kuoppainen roottori roottoripidikkeeseen.
- 2b. Aseta liuskaputket paikoilleen roottoriin: aloita paikasta 1 taulukon (taulukko 1) esittämällä tavalla. Aseta kaikkiin käyttämättömiin paikkoihin tyhjä, korkilla suljettu putki.
Huomautus: Varmista, että ensimmäinen putki on asetettu paikkaan 1 ja että liuskaputket on asetettu oikeisiin suuntiin ja paikkoihin taulukossa 1 esitetyllä tavalla.
- 2c. Kiinnitä lukitusrenkas.
- 2d. Lataa roottori ja lukitusrenkas Rotor-Gene Q MDx -laitteeseen ja sulje laitteen kansi.
- 2e. Valitse New Run (Uusi ajo) -kohdasta Open a template in another folder... (Avaa malli toisessa kansiossa...).
- 2f. Valitse QIAScreen run template (QIAScreen-ajomalli), jonka nimi on QIAScreen RGQ profile v1.0.ret.
- 2g. Valitse Rotor type (Roottorityyppi): 72-well rotor (72-kuoppainen roottori) ja Locking ring attached (Lukitusrenkas kiinnitetty). Napsauta Next (Seuraava) -painiketta.
- 2h. Lisää Operator (Käyttäjä) -kohdassa nimikirjaimet ja napsauta Next (Seuraava) -painiketta.
- 2i. Napsauta seuraavan ikkunan Next (Seuraava) -painiketta.
- 2j. Napsauta Start run (Aloita ajo).
Jos haluat lisätä näytteiden nimet, napsauta Edit samples (Muokkaa näytteitä) -painiketta (tämä voidaan tehdä myös ajon päätyttyä).

Taulukko 2. Kohde- ja kanava-asetukset*

Kohde	Havainnointikanava
β-globiini	Orange
HPV 16	Green
HPV 18	Red
HPV Muut*	Yellow

* HPV Muut koostuu kolmentoista HPV-tyypin kokoelmasta, joihin 16 ja 18 eivät sisälly.

3. Analysoi tiedot:

- 3a. Valitse analysoitavat putket.
 - 3b. Valitse Analysis tool window (Analysointityökaluikkuna) -näytöstä Cycling A. Green ja valitse Show (Näytä). Valitse Import (Tuo) kohdasta Imported Settings (Tuodut asetukset) (ikkunan oikeasta alareunasta) ja valitse tiedosto QIAscreen RGQ Green Channel analysis template.qut. Valitse Cycling A. Green ja napsauta Hide (Piilota) -painiketta.
 - 3c. Valitse Cycling A. Orange ja napsauta Show (Näytä) -painiketta. Valitse Imported Settings (Tuodut asetukset) -kohdasta Import (Tuo) ja valitse tiedosto QIAscreen RGQ Orange Channel analysis template.qut. Valitse Cycling A. Orange ja napsauta Hide (Piilota) -painiketta.
 - 3d. Valitse Cycling A. Red ja napsauta Show (Näytä) -painiketta. Valitse Imported Settings (Tuodut asetukset) -kohdasta Import (Tuo) ja valitse tiedosto QIAscreen RGQ Red Channel analysis template.qut. Valitse Cycling A. Red ja napsauta Hide (Piilota) -painiketta.
 - 3e. Valitse Cycling A. Yellow ja napsauta Show (Näytä) -painiketta. Valitse Imported Settings (Tuodut asetukset) -kohdasta Import (Tuo) ja valitse tiedosto QIAscreen RGQ Yellow Channel analysis template.qut.
 - 3f. Napsauta Save (Tallenna) -painiketta.
 - 3g. VALINNAINEN: Tulokset voidaan viedä .csv-tiedostoon tulosten tulkitsemista varten. Valitse File > Save as > Excel Analysis Sheet (Tiedosto > Tallenna nimellä > Excel-analysointitiedosto) ja tallenna vientitiedosto.
4. Poista Rotor-Gene Q MDx -laitteeseen ladatut materiaalit ja hävitä liuskaputket paikallisten turvallisuussäädösten mukaan.

Tulosten tulkinta

Ajon ja näytteen validointikriteerit esitetään tämän kappaleen kohdissa A ja B. Jos jokin kriteereistä ei täyty, korjaustoimet ovat tarpeen.

A. QIAscreen HPV PCR Test -testin kontrollien validointikriteerit

QIAscreen Positive Control -kontrollin kohteiden tulisi antaa C_T -arvoksi alle 29 β -globiinille, alle 30 HPV 16:lle ja HPV 18:lle ja alle 32 HPV Muut -ryhmälle. Jos näin ei ole ja analyysiasetukset ovat oikein, koe tulisi toistaa.

Yhdenkään QIAscreen Negative Control -kontrollin kohteen ei pitäisi antaa kynnysarvon ylittävää signaalia ennen PCR-ajon päättymistä (sykli 40 tai määrittämättä). Jos signaali nähdään ennen sykliä 40 ja analyysiasetukset ovat oikein, koe tulisi toistaa.

Huomautus: Jos kontrollit eivät ole määritetyissä rajoissa ja tekniset virheet on suljettu pois toistamalla koe, tarkista seuraavat asiat:

- Vanhenemispäivä reagenssin pakkauksesta
- Reagenssien lämpötila
- PCR-järjestelmän ja ohjelmiston asetukset
- Kontaminaatio

Jos kontrollit ovat edelleen hylättyjä, ota yhteyttä valmistajan asiakaspalveluun tai paikalliseen jälleenmyyjään.

B. Näytteiden tulosten tulkinta

Näytteen tulokset esitetään taulukossa 3.

Taulukko 3. Tulosten tulkinta

C _T -arvo: HPV-kohteet	C _T -arvo: β-globiini	Tulkinta
1 HPV 16 ja/tai HPV 18 < 36 ja/tai HPV Muut < 33,5	Mikä tahansa	HPV-positiivinen
2 HPV 16 ja HPV 18 ≥ 36 tai ei määritetty ja HPV Muut ≥ 33,5 tai ei määritetty	≤ 30	HPV-negatiivinen
3 HPV 16 ja HPV 18 ≥ 36 tai ei määritetty ja HPV Muut ≥ 33,5 tai ei määritetty	> 30	Hylätty

1. HPV-positiivinen. Kun HPV 16:n ja/tai HPV 18:n C_T-arvot ovat < 36 ja/tai HPV Muut on < 33,5 (β-globiinin C_T-arvosta riippumatta). Kanava osoittaa kyseisen tyypin olevan näytteessä. **2. HPV-negatiivinen.** Kun β-globiinin C_T-arvo on ≤ 30 ja HPV 16:n ja HPV 18:n C_T-arvot ovat ≥ 36 tai niiden signaalia ei näy ja HPV Muut on ≥ 33,5 tai niiden signaalia ei näy. **3. Hylätty.** Kun β-globiinin C_T-arvo on > 30 ja HPV 16:n ja HPV 18:n C_T-arvot ovat ≥ 36 tai niiden signaalia ei näy ja HPV Muut on ≥ 33,5 tai niiden signaalia ei näy.

Rajoitukset

- Käyttöaiheen mukainen testi tulisi tehdä kohdunkaulan raaputusnäytteille tai itse otetuille (kohdunkaulan ja) emättimen irtosolunäytteille. QIAscreen HPV PCR Test -testi on kuitenkin arvioitu käytettäväksi myös formaliiniin fiksoiduista ja parafiiniin valetuista (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE) koepaloista uutetulle DNA:lle.
- Näytteenotto, kuljetus ja säilytys voivat vaikuttaa näytteessä olevien kohteiden kopiomäärään ja aiheuttaa mahdollisen virheellisesti positiivisen tai virheellisesti negatiivisen tuloksen.
- Nämä ohjeet koskevat vain Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM -laitetta.
- Jos DNA:n uuttaminen ei onnistu hyvin, testituloksista saattaa tulla virheellisiä. Jos ongelma ei ratkea, tiedustele paikalliselta jälleenmyyjältä tai valmistajan asiakaspalvelusta DNA:n uuttoa koskevaa protokollaa.
- Näytteet, joiden epäselvät tulokset johtuvat kohteiden pienestä kopiomäärästä, voidaan varmistaa toistetulla analyysillä.
- Kohdunkaulan muutokset voivat harvinaisissa tapauksissa aiheutua luonnollisista HPV-varianteista tai HPV-tyypeistä, joihin QIAscreen HPV PCR Test -testi ei kohdistu.
- QIAscreen HPV PCR Test -testin reagensseja saa käyttää ainoastaan in vitro -diagnostiikassa.
- PCR-testien käyttäminen edellyttää hyvien laboratoriokäytäntöjen noudattamista, joihin kuuluu molekyylibiologiaan käytettävien laitteiden ylläpito sovellettavien säädösten ja standardien mukaisesti.
- QIAscreen HPV PCR Test -testin mukana toimitetut reagenssit ja ohjeet on testattu suorituskyvyltään optimaaliseksi.
- QIAscreen HPV PCR Test -testiä saavat käyttää laboratoriotyöntekijät, jotka ovat saaneet Rotor-Gene Q MDx -laitteiden käyttöä koskevaa koulutusta.
- Tätä tuotetta saavat käyttää ainoastaan henkilöt, jotka ovat saaneet real-time PCR-tekniikoita ja diagnostisia in vitro -menetelmiä koskevaa erityisopastusta ja -koulutusta. Saatu diagnostinen tulos on tulkittava yhdessä muiden kliinisten löydösten tai laboratoriolöydösten kanssa.

- Parhaiden tulosten saavuttaminen edellyttää QIAscreen HPV PCR Test -testin käyttöohjeessa (käsikirjassa) annettujen ohjeiden huolellista noudattamista.
- Kaikkien osien pakkauksiin ja etiketteihin painettuja viimeisiä käyttöpäivämääriä on noudatettava. Älä käytä vanhentuneita komponentteja.
- Kaikki QIAscreen HPV PCR Test -testin mukana toimitetut reagenssit on tarkoitettu käytettäväksi ainoastaan muiden samaan sarjaan sisältyvien reagenssien kanssa. Muunlainen käyttö saattaa heikentää suorituskykyä.
- Tämän tuotteen off label -käyttö ja/tai osien muokkaaminen mitätöi Self-screen B.V:n vastuun.
- Käyttäjän vastuulla on validoida järjestelmän suorituskyky kaikissa niissä laboratoriossa käytetyissä menetelmissä, joita suorituskykyä koskevat tutkimukset eivät kata.

Suorituskykyominaisuudet

Havaitsemisraja (Limit of Detection, LoD)

Havaitsemisraja (Limit of Detection, LoD) on määritetty gBlock-fragmenteilla (eli kaksisäikeisen genomisen DNA:n fragmenteilla), jotka sisältävät osan HPV-genotyypin E7-geenistä. 15 kohteena olevan HPV-tyyppin (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 ja 68) 3-kertaiset gBlock-sarjalaimennokset valmisteltiin 50 ng:ssa ihmisen DNA:ta ja testattiin kahdeksan kertaa. β -globiinilla havaitsemisraja (Limit of Detection, LoD) arvioitiin sellainen gBlock-fragmentin 3-kertaisella sarjalaimennoksella vedessä, joka sisälsi osan 8-kertaisesti testattua β -globiinigeeniä.

Taulukko 4. 15 HPV-tyyppin ja β -globiinigeenin QIAscreen HPV PCR Test -määrityksen havaitsemisraja

Kohde	Havaitsemisraja (kopiota/PCR)
HPV 16	206
HPV 18	69
HPV 39, 45	617
HPV 31, 33, 35, 51, 56, 59, 66, 67	1852
HPV 52, 58, 68	5556
β -globiini	617

Analyttinen spesifisyys*

Analyttinen spesifisyys määritettiin muiden kuin kohteena olevien HPV-genomien (eli HPV 6, 11, 26, 40, 42, 43, 53, 61 ja 70) plasmidi-DNA:n perusteella pitoisuudella, jossa oli vähintään 46 000 kopiota/testi, ja emättimen kolmen potentiaalisesti patogeenisimman mikrobin (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* ja *Candida albicans*) perusteella pitoisuudella, jossa oli vähintään 10 000 kopiota/testi. Testi ei osoittanut ristireaktiivisuutta kohteisiin kuulumattomien HPV-tyyppien 6, 11, 26, 40, 42, 43, 53 ja 61 eikä mikrobin kanssa. Vain HPV 70:n HPV Muut -kanavalla (eli kanavalla, joka havaitsee kolmentoista HPV-tyyppiä kokoelman, johon 16 ja 18 eivät sisälly), havaittiin positiivinen signaali, joka voitiin havaita lisälaimennoksen jälkeen pitoisuudella > 17 000 kopiota/testi. HPV 70:n katsotaan olevan todennäköisesti karsinogeeninen epidemiologisten, fylogeneettisten ja toiminnallisten tutkimusten perusteella (11-13).

Kliininen suorituskyky kohdunkaulan irstosolunäytteillä

Kohdunkaulan intraepiteliaalisen neoplasian vähintään gradus kahta (CIN 2+) koskevan, PreservCyt-säilöntäaineeseen säilöttyjä kohdunkaulan irstosolunäytteitä tutkivan testin kliininen herkkyys ja spesifisyys validoitiin kahdessa tutkimuksessa samanveroisessa analyysissä suhteessa suuririskisen HPV:n GP5+/6+ PCR -ajoon (10) tai Hybrid Capture 2:een (14) kohdunkaulan syövän HPV-seulontatestien edellytyksiä koskevien kansainvälisten ohjeiden mukaan (9). CIN 2+:n kliiniset herkkyydet olivat 96,8 % (61/63) ja 92,9 % (91/98) ja CIN 2+:n kliiniset spesifisyydet olivat 95,1 % (783/823) ja 94,2 % (933/990) tässä järjestyksessä. Kliininen herkkyys ja spesifisyys olivat samanveroisia vertailumäärityksen GP5+/6+ PCR -ajoon (10) tai Hybrid Capture 2:een (14) nähden, mikä osoittaa, että kliininen suorituskyky on erittäin hyvä. Naisilla, joilla on ASC-US tai LSIL, CIN2+:n kliinisen herkkyyden ja analyttisen spesifisyyden arvot olivat 97,4 % (37/38; 95 %:n CI 83,5–99,6) ja 59,8 % (52/87; 95 %:n CI: 49,2–69,5), tässä järjestyksessä.⁽¹⁴⁾

* Suorituskykyominaisuudet on määritetty testiversiolle ABI7500. Ekvivalenssianalyysissä osoitettiin samanlainen suorituskyky ja validointi Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM -laitteen QIAscreen HPV PCR Test -testille.

Uusittavuus*

Testin laboratorion sisäinen uusittavuus ja laboratorioden välinen yhtäpitävyys validoitiin kohdunkaulan syövän HPV-seulontatestien edellytyksiä koskevien kansainvälisten ohjeiden mukaan (9). Kohdunkaulan irtosolunäytteitä koskeva laboratorion sisäinen uusittavuus pitkällä aikavälillä oli 99,5 % (544/547) ja kappa-arvo 0,99, ja laboratorioden välinen yhtäpitävyys oli 99,2 % (527/531) ja kappa-arvo 0,98, mikä osoittaa, että yhtäpitävyys on erittäin hyvä (10).

Suorituskyky itse otetuilla (kohdunkaulan ja) emättimen irtosolunäytteillä*

Testin suorituskyky itse otetuilla (kohdunkaulan ja) emättimen irtosolunäytteillä on validoitu kahdelle eri näytteenototavalle: 1) itse otetut huuhtelunäytteet ja 2) itse otetut harjanäytteet. Itse otettujen huuhtelunäytteiden yhtäpitävyys vertailumäärityksen GP5+/6+ PCR -ajon kanssa oli 96,7% (59/61) ja CIN 2+-herkkyys 91,4 % (21/23) (10). Itse otettujen harjanäytteiden yhtäpitävyys GP5+/6+ PCR -ajon kanssa oli 92,9% (104/112) ja CIN 2+-herkkyys 93,9% (31/34) (10).

Häiritsevät aineet*

EDTA:n (0,5 M), HCl:n (1 N), piioksidirakeiden (1 µl), veren (1 µl), urean (40 g / 100 ml) ja lysauspuskurin jäämät heikensivät testin suorituskykyä. ETOH 96 % (1 µl) ja DMSO 4 % (v/v) eivät vaikuttaneet inhiboivasti testin suorituskykyyn. Heikentymistä valvotaan näytteen kontrollilla (β-globiinilla).

* Suorituskykyominaisuudet on määritetty testiversiolle ABI7500. Ekvivalenssianalyyssissä osoitettiin samanlainen suorituskyky ja validointi Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM -laitteen QIAscreen HPV PCR Test -testille.

Lähdeviitteet

1. Walboomers, J.M., et al. (1999) Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J. Pathol.* 189 (1), 12.
2. Munoz, N., et al. (2003) Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N. Engl. J. Med.* 348, 518.
3. Bosch, F.X., Lorincz, A., Munoz, N., Meijer, C.J., Shah, K.V. (2002) The casual relationship between human papillomavirus and cervical cancer. *J. Clin. Pathol.* 55, 244.
4. Snijders, P.J., Steenbergen, R.D., Heideman, D.A., Meijer, C.J. (2006) HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J. Pathol.* 208(2), 152.
5. Vinokurova, S., et al. (2008) Type-dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions. *Cancer Res.* 68(1), 307.
6. Kraus, I., Driesch, C., Vinokurova, S., Hovig, E., Schneider, A., von Knebel, D.M., Durst, M. (2008) The majority of viral-cellular fusion transcripts in cervical carcinomas cotranscribe cellular sequences of known or predicted genes. *Cancer Res.* 68(7), 2514.
7. Horner, S.M., DeFilippis, R.A., Manuelidis, L., DiMaio, D. (2004) Repression of the human papillomavirus E6 gene initiates p53-dependent, telomerase-independent senescence and apoptosis in HeLa cervical carcinoma cells. *J. Virol.* 78, 4063.
8. Butz, K., Ristriani, T., Hengstermann, A., Denk, C., Scheffner, M., Hoppe-Seyler, F. (2003) siRNA targeting of the viral E6 oncogene efficiently kills human papillomavirus-positive cancer cells. *Oncogene* 22(38), 5938.
9. Meijer, C.J., et al. (2009) Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int. J. Cancer* 124(3), 516.
10. Hesselink, A. et al. (2014) Clinical validation of the HPV-Risk assay: a novel, real-time PCR assay for the detection of high-risk human papillomavirus DNA by targeting the E7 region. *J. Clin. Microbiol.* 52, 890.

11. De Sanjose, S. et al. (2010) Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol.* 11, 1048.
12. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. (2012) Biological agents. Volume 100 B. A review of human carcinogens. IARC Mongr. Eval. Carcinog. Risks Hum. **100(Pt B)**, 1.
13. Hiller, T., Poppelreuther, S., Stubenrauch, F., Iftner, T. (2006) Comparative analysis of 19 genital human papillomavirus types with regard to p53 degradation, immortalization, phylogeny, and epidemiologic risk classification. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **15**, 1262.
14. Polman, N. et al. (2017) Evaluation of the Clinical Performance of the HPV-Risk Assay Using the VALGENT-3 Panel. *J. Clin Microbiol.* 2017 Dec;55(12):3544-3551.
15. Heideman, D. et al. (2019) Clinical performance of the HPV-Risk assay on cervical samples in SurePath medium using the VALGENT-4 panel. *J Clin Virol.*;121:104201.

Vianmääritysopas

Tämä vianmääritysopas voi auttaa mahdollisissa esiin tulevissa ongelmissa. Katso myös usein kysytyjä kysymyksiä (Frequently Asked Questions, FAQ) teknisen tuen sivulta: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. QIAGENin teknisen palvelun asiantuntijat vastaavat mielellään kysymyksiisi joko tähän käsikirjaan liittyvistä tiedoista ja/tai protokollista tai näyte- ja määritystekniikoista (katso yhteystiedot osoitteesta www.qiagen.com).

Huomautuksia ja ehdotuksia

Näyte hylätään: β -globiinin monistuminen ei riitä tai sitä ei ole lainkaan

- | | | |
|----|--|--|
| a) | Pipetointivirhe tai reagensseja puuttuu. Katso "PCR-ajo Rotor-Gene Q MDx -laitteilla, joissa on 72 putken roottori", sivu 21 | Tarkista pipetointijärjestys ja reaktion järjestely. Toista näyte. |
| b) | Tarkista DNA-eluatti | Toista DNA:n uutto. |

Positiivinen kontrolli hylätään: vähintään yhden kohteen monistuminen ei riitä tai sitä ei ole lainkaan

- | | | |
|----|--|--|
| a) | Pipetointivirhe tai reagensseja puuttuu. Katso "PCR-ajo Rotor-Gene Q MDx -laitteilla, joissa on 72 putken roottori", sivu 21 | Tarkista pipetointijärjestys ja reaktion järjestely. Toista näyte. |
| b) | Osittainen hajoaminen | Säilytä sarjan sisältöä -15...-30 °C:n lämpötilassa.
Vältä toistuvaa jäätymistä ja sulamista. Pakastamis- ja sulattamiskertoja saa olla enintään viisi. |
| c) | PCR-reagenssien osittainen hajoaminen | Säilytä sarjan sisältöä -15...-30 °C:n lämpötilassa ja suojaa reaktioseokset valolta.
Vältä toistuvaa jäätymistä ja sulamista. |
| d) | Liuskaputket ovat vaihtuneet keskenään | Tarkista pipetointijärjestys ja reaktion järjestely. |
| e) | Vanhenemispäivä | Tarkista käytetyn sarjan viimeinen käyttöpäivä. |
| f) | Viive näytteiden pipetoinnin ja ajon alkamisen välillä | PCR-seoksia voidaan säilyttää pimeässä, 2–8 °C:n lämpötilassa 30 minuuttia näytteiden pipetoinnin ja koneen ajon käynnistämisen välillä. |

Huomautuksia ja ehdotuksia

Malliton kontrolli (No template control, NTC) hylätään

- a) Pipetointivirhe tai reagensseja puuttuu. Tarkista pipetointijärjestys ja reaktion järjestely. Toista näyte.
Katso "PCR-ajo Rotor-Gene Q MDx -laitteilla, joissa on 72 putken roottori", sivu 21














Näytteen signaaleja puuttuu tai ne ovat heikkoja, mutta kontrolliajo onnistuu




- a) Inhiboivia vaikutuksia Tarkista aina, ettei DNA:n uutossa ole jäämiä puskureista.
Toista DNA:n uutto.
- b) Pipetointivirhe. Tarkista pipetointijärjestys ja reaktion järjestely. Suorita PCR-ajo uudelleen.
Katso "PCR-ajo Rotor-Gene Q MDx -laitteilla, joissa on 72 putken roottori", sivu 21

Jos ongelma ei poistu, ota yhteyttä QIAGENin tekniseen tukipalveluun.

Merkinnät

Pakkauksessa ja etiketeissä saattaa näkyä seuraavia symboleita:

Symboli	Selitys
	Viimeinen käyttöpäivämäärä
	In vitro -diagnostinen lääketieteellinen laite
	CE-IVD-merkintä
	Tuotenumero
	Eränumero
	Materiaalinumero
	Komponentit
	Sisältö
	Numero
	R tarkoittaa käyttöohjeen (käsikirja) versiota, ja n on versionumero
	GTIN-numero
	Lämpötilarajoitus
	Valmistaja

Symboli	Selitys
	Säilytettävä auringonvalolta suojattuna
	Katso käyttöohjeet
	Huomio

Yhteystiedot

Jos tarvitset teknistä neuvontaa tai lisätietoja, käy teknisen tuen sivuilla osoitteessa www.qiagen.com/Support, soita ilmaisnumeroon 00800-22-44-6000 tai ota yhteyttä johonkin QIAGENin teknisen palvelun osastoon tai paikalliseen jälleenmyyjään (ks. takakansi tai käy osoitteessa www.qiagen.com).

Tilaustiedot

Tuote	Sisältö	Tuotenro
QIAscreen HPV PCR Test	72 reaktiota varten, sisältö: Pääseos, positiivinen kontrolli, negatiivinen kontrolli, käyttöohje	617005
QIAasymphony SP	QIAasymphony-näytteenvalmistelumuodi (valinnainen eristämässä)	9001297
Rotor-Gene Q MDx		
Rotor-Gene Q MDx HRM System	Real-time PCR-sykleri ja tarkka sulamisanalysaattori, jossa 5 kanavaa (vihreä, keltainen, oranssi, punainen, karmiini) sekä HRM-kanava, kannettava tietokone, ohjelmisto, lisävarusteet: sisältää 1-vuotisen takuun osille ja työlle, asennuksen ja koulutuksen.	9002035
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Real-time PCR-sykleri ja tarkka sulamisanalysaattori, jossa 5 kanavaa (vihreä, keltainen, oranssi, punainen, karmiini) sekä HRM-kanava, kannettava tietokone, ohjelmisto, lisävarusteet: Sisältää 1-vuotisen takuun osille ja työlle. Ei sisällä asennusta ja koulutusta.	9002032
Rotor-Gene Q MDx:n tarvikkeet		
Loading Block 72 x 0.1 mL Tubes	Alumiininen levy manuaaliseen reaktion valmisteluun yksikanavaisella pipetillä 72 kpl:ssa 0,1 ml:n putkia	9018901

Strip Tubes and Caps, 0.1 mL (250)	250 neljän putken ja korkin liuskaa, 1 000 reaktioon	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 mL (2500)	10 x 250 neljän putken ja korkin liuskaa, 10 000 reaktioon	981106

Voimassa olevat lisenssitiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet ovat saatavilla tuotekohtaisista QIAGEN-sarjojen käyttöoppaista tai käsikirjoista. QIAGEN-sarjojen käsikirjat ja käyttöoppaat ovat saatavilla osoitteesta www.qiagen.com, tai niitä voi tiedustella QIAGENin teknisestä palvelusta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

Asiakirjan muutoshistoria

Päiväys

Muutokset

R2, Elokuu 2018

Päivitetty Varoitukset ja varoimet -osio, lisätty CellSolutions® Näytteiden säilytys ja käsittely -osioon ja Tavaramerkit-osioon, tarkistettu Näytteen valmistelu -osio, jossa murtolukumäärät vaihdettu prosentteihin, päivitetty Protokolla: QIAScreen HPV PCR Test for RGQ MDx, tarkistettu taulukon 1 sarake 3 Protokollassa: QIAScreen HPV PCR Test for RGQ MDx, päivitetty PCR 72-kuoppaisella roottorilla varustetun RGQ MDx -laitteen osiossa, johon lisätty tärkeä huomautus ja vaihdettu New experiment (Uusi tutkimus) -ikkuna New Run (Uusi ajo) -ikkunaan, päivitetty Suoritusominaisuudet -osio, korjattu QIAScreen HPV PCR Test -testin tuotenumero, asetellumuutoksia

R3, heinäkuu 2023

Päivitetty näytteiden säilytys- ja käsittelyosio; päivitetty näytteiden valmisteluosio SurePathiin säilytettävien näytteiden esikäsittelyn ja QIAamp DSP Virus Spin -sarjalla tehtävän DNA:n eristämisen ohjeet ja QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi -sarjalla tehtävän DNA:n eristämisen ohjeet; päivitetty SurePathiin säilytettävien näytteiden klininen suorituskyky ja lisätty viite SurePathiin säilytettävien näytteiden validoinnista.

QIAScreen HPV PCR Test -testin rajoitettu käyttöoikeussopimus

Tämän tuotteen käyttö tarkoittaa ostajan tai käyttäjän suostumusta noudattaa seuraavia ehtoja:

- Tuotetta saa käyttää ainoastaan tuotteen mukana toimitettujen protokollien ja tämän käsikirjan ohjeiden mukaan, ja sen kanssa saa käyttää vain sarjan sisältämiä komponentteja. QIAGEN ei myönnä lisenssiä mihinkään aineettomaan omaisuuteensa, eikä tämän sarjan oheisia komponentteja saa käyttää tai liittää muihin komponentteihin, jotka eivät sisälly tähän sarjaan, kuten tuotteen mukana toimitetuissa protokollissa, tässä käsikirjassa ja lisäprotokollissa mainitaan. Ne ovat saatavilla osoitteesta www.qiagen.com. Osa lisäprotokollista on QIAGEN-käyttäjien toisille QIAGEN-käyttäjille laitamia. QIAGEN ei ole testannut tai tarkistanut kyseisiä protokollia. QIAGEN ei anna takuuta lisämateriaalille eikä takaa, ettei se loukkaa kolmansien osapuolten oikeuksia.
- Muutoin kuin selvästi ilmoitettujen lisenssin osalta QIAGEN ei takaa, että tämä paneeli ja/tai sen käyttäjä(t) ei (eivät) loukkaa kolmansien osapuolten oikeuksia.
- Tämä paneeli ja sen osat on lisensoitu kertakäyttöön, ja niiden uudelleenkäyttö, kunnostaminen tai edelleenmyynti ovat kiellettyjä.
- QIAGEN kiistää nimenomaisesti kaikki käyttöoikeudet, suorat tai epäsuorat, joita ei ole tässä nimenomaisesti ilmoitettu.
- Paneelin ostaja tai käyttäjä suostuu siihen, ettei hän suorita tai anna muiden suorittaa toimenpiteitä, jotka voisivat johtaa edellä mainittuihin kiellettyihin tapahtumiin tai edesauttaa niiden syntymistä. QIAGEN saattaa vedota tämän rajoitetun lisenssisopimuksen kieltoihin tuomioistuimessa. QIAGEN perii kaikki tutkinta- ja oikeuskulut asiantajajan palkkiot mukaan lukien, jotka aiheutuvat tämän rajoitetun lisenssisopimuksen tai sen henkistä omaisuutta koskevien oikeuksien toimenpanemisesta paneelin ja/tai sen osien osalta.

Katso päivitetty käyttöoikeusehdot osoitteesta www.qiagen.com.

Tavaramerkit: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIASymphony®, MinElute®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); PreservCyt® (Hologic, Inc.); CellSolutions®; PathTeztr® (PathTeztr); SurePath® (Becton Dickinson and Company). Tässä asiakirjassa mainittuja rekisteröityjä nimiä, tavaramerkkejä jne. on pidettävä lain suojaamina, vaikkei niitä olisi erityisesti sellaisiksi merkitty.

[Self-screen B.V. on QIAScreen HPV PCR Test -testin lainmukainen valmistaja.](#)

[QIAScreen HPV PCR Test -testin valmistuttaja on QIAGEN by Self-screen B.V.](#)

1132289FI 06/2023 HB-2579-004 © 2023 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään.

