

digene® HC2 Sample Conversion Kit

QIAGEN
19300 Germantown Road
Germantown, MD 20874
USA

QIAGEN GmbH,
QIAGEN Strasse 1, 40724
Hilden, GERMANY



REF 5127-1220

1128506 Rev. 01

ÚČEL POUŽITÍ

Souprava digene® Hybrid Capture® 2 (HC2) Sample Conversion Kit je určena pouze pro použití v kombinaci s cervikálními vzorky odebranými do roztoku Hologic PreservCyt® Solution ke zpracování a použití s testem digene HC2 HPV DNA Test a testem digene HC2 High-Risk HPV DNA Test.

Pouze pro použití odborníky.

Před použitím této soupravy si pečlivě a úplně prostudujte tento návod. Před zahájením je také důležité přečíst si pokyny uvedené v návodu k použití testů digene HC2 HPV DNA Test.

Tyto pokyny jsou určeny pouze pro ruční testování. Informace o testování pomocí systému Rapid Capture® System jsou uvedeny v uživatelské příručce systému Rapid Capture System.

SHRnutí A VYSVĚTLENÍ

Souprava digene HC2 Sample Conversion Kit obsahuje pufr pro konverzi alikvotů, přepravní médium pro vzorky, denaturační reagentii a indikátorové barvivo. Tyto reagentie slouží k přípravě pelet, resuspendování a denuraci cervikálních buněk odebraných v roztoku PreservCyt Solution k jejich testování pomocí testů digene HC2 HPV DNA. Podrobné pokyny k postupu a provedení analýz u jednotlivých testů naleznete v návodu k použití testů digene HC2 HPV DNA.

PRINCIP

Použití soupravy digene HC2 Sample Conversion Kit s roztokem PreservCyt Solution umožňuje provádění jak cytologické diagnózy (ThinPrep Pap Test), tak testy digene HC2 HPV DNA ze stejných vzorků.

Po přípravě sklíček testu ThinPrep Pap Test v souladu s pokyny poskytnutými společností Hologic slouží zbývající objem vzorku k provedení testování digene HC2 HPV DNA. Po přípravě sklíček k testu ThinPrep Pap Test musejí zůstat alespoň 4 ml roztoku PreservCyt Solution (z původních 20 ml). V opačném případě je objem vzorku pro testy digene HC2 HPV DNA nedostatečný, a proto by vzorky neměly být testovány.

POSKYTOVANÉ REAGENCIE

1 × 100 ml

Pufr pro konverzi vzorku: Pufrovaný roztok přípravku Eosin Y a 0,05 % (hmotn./objem.) azidu sodného.

1 × 30 ml

Přepravní médium pro vzorky (Specimen Transport Medium, STM): Obsahuje 0,05 % (hmotn./objem.) azidu sodného.

1 × 12 ml

Denaturační reagentie: Naředěný roztok hydroxidu sodného (NaOH).

1 × 0,35 ml

Indikátorové barvivo: Obsahuje 0,05 % (hmotn./objem.) azidu sodného.

GLOSÁŘ SYMBOLŮ

Viz návod k použití

Katalogové číslo

Číslo šarže

Výrobce

Zdravotnický prostředek pro diagnostiku in vitro

Použijte do

Zplnomocněný zástupce pro Evropské společenství

Upozornění: Federální zákon USA omezuje prodej tohoto prostředku na prodej oprávněným lékařem nebo na jeho pokyn.

Globální číslo obchodní položky

Obsahuje dostatečné množství pro <N> alikvotů

POŽADOVANÉ, ALE NEDODÁVANÉ MATERIÁLY A VYBAVENÍ

digene HC2 HPV DNA Test¹

digene HC2 High-Risk HPV DNA Test¹

Výkvná korečková odstředivka, která může dosáhnout otáček 2 900 ± 150 x g a pojme 10 ml nebo 15 ml kónické zkumavky specifikované níže

Opakovací pipetor s pozitivním výtakem, například pipeta Eppendorf® Repeater® nebo ekvivalent

Jednorázové špičky pro pipetu Eppendorf Repeater nebo ekvivalentní

5 ml sérologické pipety nebo přenosové pipety

Vířivý mixér s upevněním misek

Vodní lázeň o teplotě 65 ± 2 °C dostatečné velikosti, aby pojmulu buď 1 konverzní stojan (36 × 21 × 9 cm), nebo stojany na vzorky

Savé papírové ubrousky neuvolňující vlákna

Postup ručního protřepávání

10 ml polypropylenové centrifugační zkumavky značky Sarstedt nebo 15 ml polypropylenové centrifugační zkumavky značky VWR či Corning, všechny s kónickým dnem a s uzávěry

Postup při použití třepačky na více vzorků Multi-Specimen Tube Vortexer 2

15 ml polypropylenové centrifugační zkumavky značky VWR či Corning, s kónickým dnem a s uzávěry

Třepačka na více vzorků Multi-Specimen Tube (MST) Vortexer 2¹

Konverzní stojan a víko (určený pro 15 ml kónické zkumavky)¹

Dávkovač zařízení pro utěsnění zkumavek a řezací zařízení¹

Fólie zařízení pro utěsnění zkumavek DuraSeal® (používá se s třepačkou MST Vortexer 2)¹

¹Tyto položky lze zakoupit od společnosti QIAGEN.

Všechny potřebné, ale nedodávané materiály, uvedené v návodu k použití testů digene HC2 HPV DNA, jsou potřebné k testování těchto vzorků.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Pro komponenty soupravy digene HC2 Sample Conversion Kit platí následující standardní věty označující specifickou rizikovost a pokyny pro bezpečné zacházení:

Denaturační reagentie:

Obsahuje: hydroxid sodný. Nebezpečí! Může způsobovat korozi kovů. Způsobuje vážné popáleniny kůže a poškození očí. Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový

štit. PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Opatrně proplachujte několik minut vodou. Vyměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. Ihned kontaktujte TOXIKOLOGICKÉ CENTRUM nebo lékaře.

Přepravní médium pro vzorky

Varování! Způsobuje mírné podráždění kůže. Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štit.

Další informace

Bezpečnostní listy: www.qiagen.com/safety

2. ROZTOK PRESERVCYT SOLUTION: Obsahuje metanol, který je jedovatý. Prostudujte si varování a bezpečnostní opatření uvedená na štítku výrobku u roztoku PreservCyt Solution.

3. V některých reagentiích se jako konzervační látka používá azid sodný. Bylo zaznamenáno, že azidy mohou reagovat s olověným a měděným potrubím za vzniku výbušných sloučenin. Při likvidaci dekontaminovaných kapalin důkladně propláchněte odpady velkým objemem vody, abyste minimalizovali hromadění sloučenin azidů kovů.

4. Při používání soupravy digene HC2 Sample Conversion Kit dodržujte všechna bezpečnostní preventivní opatření uvedená v návodu k použití testů digene HC2 HPV DNA.

5. VŠECHNY VZORKY je třeba považovat za potenciálně infekční. Žádná známá zkušební metoda nemůže nabídnout úplnou jistotu, že vzorky nebudou přenášet infekci. Doporučujeme, aby se s humánními vzorky zacházelo v souladu s příslušnými národními/místními postupy pro biologickou bezpečnost. Tyto postupy pro biologickou bezpečnost používejte s materiály, které obsahují infekční látky nebo u nichž je na to podezření.

Preventivní opatření pro skladování a manipulaci

1. Noste rukavice neobsahující pudr.

2. Soupravu digene HC2 Sample Conversion Kit skladujte při pokojové teplotě (15–30 °C). Před prvním použitím lze soupravu digene HC2 Sample Conversion Kit použít do uplynutí data expirace uvedeného vedle symbolu na štítku na vnější krabici.

3. Po přidavku indikátorového barviva denaturační reagentii skladujte při teplotě 2–8 °C. Po přípravě je denaturační reagentie stabilní po dobu 3 měsíců při skladování při teplotě 2–8 °C a je třeba ji označit příslušným datem expirace. Pokud v tomto časovém období barva zmizí, přidejte další 3 kapky indikátorového barviva a rukou protřepejte, dokud obsah nezíská jednotné zbarvení.

POSTUP PŘÍPRAVY VZORKU V ROZTOKU PRESERVCYT SOLUTION

Informace o testování pomocí systému Rapid Capture System jsou uvedeny v uživatelské příručce systému Rapid Capture System.

Poznámky:

• Zpracování 4 ml alikvoty roztoku PreservCyt Solution poskytuje dostatek materiálu pro 2 testy, provádí-li se testování ručně. Minimální objem, jenž lze zpracovat, jsou 4 ml.

• Připravte alikvoty roztoku PreservCyt Solution v dávce po 36 nebo méně; v opačném případě se pelety mohou při dekantaci supernatantu vytlačit. To je důležité pro zachování integrity buněčných pelet v průběhu kroku dekantování. Při přípravě dalších lahviček s roztokem PreservCyt Solution je nezačínajte připravovat, dokud nedokončíte přípravu první dávky.

• Jestliže použijete třepačku MST Vortexer 2 nebo RCS, musí se pro tento postup použít zkumavky digene HC2 Sample Conversion nebo 15 ml kónické polypropylenové zkumavky s uzávěrem (značky VWR nebo Corning).

Příprava reagentie

Pro přípravu denaturační reagentie (Denaturation Reagent, DNR) přidejte 3 kapky indikátorového barviva do lahvičky s DNR a dobře promíchejte. Roztok by měl mít jednotnou, tmavě fialovou barvu. Pro stanovení objemových požadavků použijte tabulku 1.

Table 1

Počet testů	Objem PreservCyt	Objem konverzního pufru
1–2	4 ml	0,4 ml
3	6 ml	0,6 ml
4	8 ml	0,8 ml
5	10 ml	1,0 ml
6	12 ml	1,2 ml

1. Označte zkumavku digene HC2 Sample Conversion Tube, 10 ml kónickou zkumavku značky Sarstedt nebo 15 ml kónickou zkumavku značky VWR nebo Corning vhodným identifikačním číslem vzorku.

2. Manipulace vždy jen s jedním vzorkem:

a. Lahvičku s roztokem PreservCyt silně protřepejte rukou, aby se buňky resuspendovaly a zajistila se jejich homogenita, případně každou lahvičku jednotlivě protřepejte vířivým mixérem při nastavení maximálních otáček po dobu přibližně 5 až 10 sekund.

b. Okamžitě, jakmile se buňky velmi rychle usadí, odpipetujte příslušný objem vzorku PreservCyt do zkumavky označené štítkem. Dodejte roztok PreservCyt Solution na dno kónické zkumavky, aby se minimalizovalo ulpívání buněčného materiálu uvnitř zkumavky.

3. Do každé zkumavky přidejte příslušný objem pufru pro konverzi vzorku (viz tabulka 1).

4. Nasadte zpět uzávěr a důkladně promíchejte obsah každé zkumavky pomocí vířivého mixéru s upevněním misek.

5. Odstředivte zkumavky ve výkvném korečkovém rotoru při otáčkách 2 900 ± 150 x g po dobu 15 ± 2 minut.

6. Během odstředování připravte směs přepravního média pro vzorky (Specimen Transport Medium, STM) a denaturační reagentie (Denaturation Reagent, DNR) v poměru 2 : 1 podle tabulky 2.

Poznámka: Roztok musí být připraven čerstvý každý den, kdy se test provádí.

a. Pro stanovení celkového potřebného objemu směsi STM/DNR použijte jako vodítko počáteční objem vzorku roztoku PreservCyt Solution a poté vynásobte objemy STM a DNR „na zkumavku“ počtem vzorků, které mají být zpracovány.

Tabulka 2

Počet testů	Objem PreservCyt	STM Objem na zkumavku pro konečnou směs STM + DNR*	DNR Objem na zkumavku pro konečnou směs STM + DNR*	STM + DNR Směs přidaná do jedné zkumavky
1–2	4 ml	120 µl	60 µl	150 µl
3	6 ml	170 µl	85 µl	225 µl
4	8 ml	220 µl	110 µl	300 µl
5	10 ml	270 µl	135 µl	375 µl
6	12 ml	320 µl	160 µl	450 µl

* Objemy uvedené v těchto sloupcích by se neměly přidávat přímo do zkumavky se vzorkem.

b. Protřepáním důkladně promíchejte roztok.

