

Ιούλιος 2023

Οδηγίες χρήσης (Εγχειρίδιο) του QIAscreen[®] HPV PCR Test



Έκδοση 1



Για in vitro διαγνωστική χρήση

Για χρήση με το όργανο Rotor-Gene[®] Q MDx



617005



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



1132289EL

Περιεχόμενα

Προβλεπόμενη χρήση	4
Σύνοψη και επεξήγηση	5
Αρχή της διαδικασίας.....	6
Υλικά που παρέχονται	7
Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται	8
Αναλώσιμα, αντιδραστήρια και όργανα για την προετοιμασία του δείγματος	8
Αναλώσιμα για το όργανο Rotor-Gene Q MDx.....	8
Εξοπλισμός	8
Εξοπλισμός για εκχύλιση και real-time PCR	9
Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις.....	10
Πληροφορίες ασφάλειας.....	10
Γενικές προφυλάξεις	10
Φύλαξη και χειρισμός αντιδραστηρίων	12
Φύλαξη και χειρισμός δοκιμίων	13
Προετοιμασία δειγμάτων	16
Πρωτόκολλο: Δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test στο όργανο Rotor-Gene Q MDx	20
PCR σε όργανα Rotor-Gene Q MDx με στροφέα 72 σωληναρίων	23
Ερμηνεία αποτελεσμάτων	27
Περιορισμοί	29
Χαρακτηριστικά απόδοσης	31
Όριο ανίχνευσης (Limit of Detection, LoD)	31
Ειδικότητα ανάλυσης.....	32

Κλινική απόδοση σε τραχηλικά δοκίμια (υλικό απόξεσης).....	32
Αναπαραγωγικότητα*.....	33
Απόδοση σε αυτολαμβανόμενα (τραχηλικά-)κολπικά δοκίμια	33
Παρεμβαλλόμενες ουσίες*.....	33
Βιβλιογραφία	34
Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων.....	36
Σύμβολα	38
Στοιχεία επικοινωνίας	40
Πληροφορίες παραγγελίας	41
Ιστορικό αναθεώρησης εγγράφου	43

Προβλεπόμενη χρήση

Η δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test είναι ένας in vitro προσδιορισμός που βασίζεται στη μέθοδο real-time PCR (Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης πραγματικού χρόνου) για την ποιοτική ανίχνευση των ακόλουθων 15 (πιθανών) γονοτύπων DNA του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων (human papillomavirus, HPV) υψηλού κινδύνου, δηλ. των 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 και 68.

Τα δείγματα που μπορούν να εξεταστούν με το QIAscreen HPV PCR Test περιλαμβάνουν DNA απομονωμένο από δοκίμια που συλλέγονται με τους παρακάτω τρόπους:

- Τραχηλικά δοκίμια που συλλέγονται με συσκευή συλλογής τύπου βούρτσας/σαρώθρου (συλλέγονται από ιατρό)
- Κολπικά δοκίμια που συλλέγονται με βούρτσα-σάρωθρο ή συσκευή έκπλυσης (αυτολαμβανόμενα)

Ενδείξεις χρήσης:

- Ως αρχική εξέταση στον προληπτικό έλεγχο γυναικών για τον κίνδυνο ανάπτυξης (προ)καρκίνου του τραχήλου, προκειμένου να καθοριστεί η ανάγκη παραπομπής για κολποσκόπηση ή άλλες συμπληρωματικές επεμβάσεις
- Ως συμπληρωματικός έλεγχος σε γυναίκες που έχουν λάβει αποτελέσματα τεστ Παπανικολάου με άτυπα πλακώδη κύτταρα απροσδιορίστου σημασίας (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) ή χαμηλού βαθμού πλακώδη ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (low-grade squamous intra-epithelial neoplasia, I_{sil}), προκειμένου να προσδιοριστεί η ανάγκη παραπομπής για κολποσκόπηση ή άλλες συμπληρωματικές επεμβάσεις

Αυτό το προϊόν προορίζεται για χρήση από επαγγελματίες, όπως τεχνικούς και υπευθύνους εργαστηρίων, που έχουν εκπαιδευτεί σε in vitro διαγνωστικές διαδικασίες, σε τεχνικές μοριακής βιολογίας και στη χρήση του συστήματος Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM.

Σύνοψη και επεξήγηση

Οι τύποι του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων (human papillomavirus, HPV) ανήκουν στην οικογένεια των Papillomaviridae και είναι μικροί ιοί δίκλωνου DNA. Το μέγεθος του κυκλικού γονιδιώματος είναι περίπου 7,9 Kb. Έχουν προσδιοριστεί περισσότεροι από 100 τύποι HPV, εκ των οποίων ορισμένοι τύποι HPV, γνωστοί ως HPV υψηλού κινδύνου (high-risk HPV, hrHPV), όπως οι HPV 16 και 18, σχετίζονται με την πρόκληση βλεννογονικών αλλοιώσεων που μπορούν να εξελιχθούν σε κακοήγη νόσο. Ο καρκίνος του τραχήλου και οι πρόδρομες αλλοιώσεις του (τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (cervical intraepithelial neoplasia, CIN)) είναι οι πλέον γνωστές επιπλοκές επίμονης λοίμωξης από τύπους υψηλού κινδύνου HPV (1-3).

Το ιικό γονιδίωμα περιέχει πρώιμα (early, E) και όψιμα γονίδια (late, L), τα οποία κωδικοποιούν πρωτεΐνες απαραίτητες για το πρώιμο και όψιμο στάδιο του κύκλου ζωής του HPV, αντίστοιχα. Τα προϊόντα των γονιδίων E6 και E7 των τύπων hrHPV επιδεικνύουν καρκινογόνες ιδιότητες και είναι απαραίτητες για τον κακοήγη μετασχηματισμό του κυττάρου-ξενιστή (4). Η εξέλιξη κακοήθειας συνδέεται συχνά με την ενσωμάτωση του ιού στο γονιδίωμα του κυττάρου-ξενιστή (5). Η ενσωμάτωση οδηγεί στην διακοπή του ιικού γονιδιώματος σε μια περιοχή η οποία μπορεί να εκτείνεται από το ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης του E1 έως το ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης του L1 (6). Κάτι τέτοιο ενδέχεται να έχει επιπτώσεις για την PCR-μεσολαβούμενη ενίσχυση του ιικού DNA σε αυτές τις περιοχές. Δεδομένου ότι τόσο η έναρξη όσο και η διατήρηση του μετασχηματισμένου φαινοτύπου εξαρτώνται από τη συνεχή έκφραση των ιικών ογκοπρωτεϊνών (7, 8), η περιοχή E6/ E7 του ιού διατηρείται στα ενσωματωμένα ιικά γονιδιώματα στον καρκίνο του τραχήλου (6). Η δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test στοχεύει την περιοχή που διατηρείται εντός του γονιδίου E7. Ο προσδιορισμός έχει επικυρωθεί κλινικά σύμφωνα με τις διεθνείς οδηγίες για τους προσδιορισμούς ανίχνευσης του HPV και σε άλλες μελέτες (9, 10, 14, 15).

Αρχή της διαδικασίας

Η δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test είναι ένας πολυπαραγοντικός προσδιορισμός που βασίζεται στη μέθοδο real-time PCR και στοχεύει το γονίδιο E7 σε 15 (πιθανούς) τύπους hrHPV, με χρήση ανιχνευτών φθορισμού για την ανίχνευση ενός ή περισσότερων PCR-συσσωρευμένων προϊόντων. Κατά τη διάρκεια κάθε κύκλου PCR, το σήμα φθορισμού ενισχύεται με λογαριθμικό τρόπο, με αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας καμπύλης ενίσχυσης. Όταν η καμπύλη ενίσχυσης του στόχου επιτύχει τιμή μεγαλύτερη από την αντίστοιχη τιμή κατώτατου ορίου, το δείγμα θεωρείται θετικό για τον συγκεκριμένο στόχο. Η πολυπαραγοντική μορφή επιτρέπει την ταυτόχρονη ανίχνευση τεσσάρων διαφορετικών φθοριζουσών χρωστικών που αντιπροσωπεύουν διαφορετικούς στόχους. Οι τέσσερις διαφορετικοί στόχοι είναι οι εξής: **1.** HPV 16, **2.** HPV 18, **3.** οι υπόλοιποι 13 τύποι hrHPV ως δεξαμενή και **4.** το γονίδιο της ανθρώπινης β-σφαιρίνης. Η δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test ανιχνεύει χωριστά τους HPV 16, HPV 18 και τη δεξαμενή των υπόλοιπων 13 γονοτύπων hrHPV. Το γονίδιο ανθρώπινης β-σφαιρίνης χρησιμοποιείται ως μάρτυρας δείγματος για τον καθορισμό τόσο της ποιότητας του δείγματος DNA όσο και της παρουσίας πιθανών ανασταλτικών ουσιών.

Υλικά που παρέχονται

Περιεχόμενα του ΚΙΤ

QIAscreen HPV PCR Test Kit		72 αντιδράσεις
Αρ. καταλόγου		617005
QIAscreen Master Mix (Κύριο μείγμα QIAscreen) (1 σωληνάριο)	Διαφανές χρώμα	1080 μL
QIAscreen Positive Control (Θετικός μάρτυρας QIAscreen) (1 σωληνάριο)	Διαφανές χρώμα	100 μL
QIAscreen Negative Control (Αρνητικός μάρτυρας QIAscreen) (1 σωληνάριο)	Διαφανές χρώμα	100 μL
<i>Δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test Οδηγίες χρήσης (Εγχειρίδιο)</i>		1

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Όταν εργάζεστε με χημικές ουσίες, θα πρέπει να φοράτε πάντα κατάλληλη προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφαλείας (Safety Data Sheets, SDS), που διατίθενται από τον προμηθευτή του προϊόντος.

Αναλώσιμα, αντιδραστήρια και όργανα για την προετοιμασία του δείγματος

- Διάλυμα Hologic PreservCyt® Solution (για την αποθήκευση του αυτοληφθέντος δείγματος)
- Τυπικά κιτ εκχύλισης DNA, όπως το QIAamp® DSP virus spin kit (QIAGEN, αρ. καταλ. 61704) και το QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit (QIAGEN, αρ. καταλ. 937055) και το NucleoMag 96 Tissue kit (Macherey-Nagel, αρ. καταλ. 744300)
- PBS για χειρισμό τραχηλικών δοκιμών σε μέσο συλλογής PreservCyt
- Ρυθμιστικό διάλυμα AL (QIAGEN, αρ. καταλ. 19075) για προκαταρκτική επεξεργασία τραχηλικών δοκιμών που συλλέγονται σε μέσο συλλογής SurePath και CellSolutions

Αναλώσιμα για το όργανο Rotor-Gene Q MDx

- 0,1 mL Strip Tubes and Caps, για χρήση σε στροφέα 72-well rotor (QIAGEN, αρ. καταλ. 981103 ή αρ. καταλ. 981106)

Εξοπλισμός

- Ειδικές πιπέτες* (ρυθμιζόμενες) για PCR (1–10 µL, 10–100 µL)
- Ειδικά, αποστειρωμένα ρύγχη πιπέτας με φίλτρο χωρίς DNAση
- Γάντια μίας χρήσης
- Επιτραπέζια φυγόκεντρος*
- Αναδευτήρας Vortex*

* Βεβαιωθείτε ότι τα όργανα έχουν ελεγχθεί και βαθμονομηθεί σύμφωνα με τις συστάσεις του κατασκευαστή.

Εξοπλισμός για εκχύλιση και real-time PCR

- Μονάδα QIASymphony SP (αρ. καταλ. 9001297) (για προαιρετική αυτοματοποίηση της εκχύλισης)
- Σύστημα Rotor-Gene Q 5plex HRM (αρ. καταλ. 9002033) ή όργανο Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (αρ. καταλ. 9002032) με Rotor-Gene Q έκδοση λογισμικού 2.3.1 ή ανώτερη*
- Πρότυπο ανάλυσης QIAScreen για το Rotor-Gene Q. Το πρότυπο φέρει την ονομασία «**QIAScreen RGQ profile v1.0.ret**».
- Πρότυπα ανάλυσης καναλιών QIAScreen για το πράσινο (HPV 16), κίτρινο (HPV υπόλοιπα), πορτοκαλί (β-σφαιρίνη) και κόκκινο (HPV 18) κανάλι. Τα πρότυπα φέρουν την επέκταση αρχείου «.qut».

* Εάν ισχύει, όργανο Rotor-Gene Q 5plex HRM με ημερομηνία παραγωγής Ιανουαρίου 2010 ή μεταγενέστερη. Η ημερομηνία παραγωγής μπορεί να προσδιοριστεί από τον αριθμό σειράς στο πίσω μέρος του οργάνου. Ο αριθμός σειράς αναγράφεται σε μορφή «μμεεααα», όπου το «μμ» υποδεικνύει τον μήνα παραγωγής σε ψηφία, το «εε» υποδεικνύει τα δύο τελευταία ψηφία του έτους παραγωγής και το «ααα» υποδεικνύει το μοναδικό αναγνωριστικό του οργάνου.

Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

Πληροφορίες ασφάλειας

Όταν εργάζεστε με χημικές ουσίες, θα πρέπει να φοράτε πάντα κατάλληλη προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας (safety data sheets, SDS). Διατίθενται στο διαδίκτυο σε εύχρηστη και συμπιεσμένη μορφή PDF, στην ιστοσελίδα www.qiagen.com/safety, όπου μπορείτε να βρείτε, να εμφανίσετε και να εκτυπώσετε τα SDS για όλα τα κιτ της QIAGEN καθώς και για τα συστατικά τους.

- Οι θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες της δοκιμασίας QIAscreen HPV PCR Test περιέχουν αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό (0,01%). Το αζίδιο του νατρίου μπορεί να αντιδράσει με τον μόλυβδο και τον χαλκό των σωληνώσεων και να σχηματίσει εκρηκτικά αζίδια μετάλλου. Κατά την απόρριψη στον νεροχύτη, ξεπλύνετε τις σωληνώσεις με άφθονη ποσότητα κρύου νερού για να αποφευχθεί η συσσώρευση αζιδίου.

Γενικές προφυλάξεις

Η χρήση δοκιμασιών PCR απαιτεί καλές εργαστηριακές πρακτικές, συμπεριλαμβανομένης της συντήρησης του εξοπλισμού, οι οποίες είναι αποκλειστικές για τη μοριακή βιολογία, και πρέπει να συμμορφώνεται με τους ισχύοντες κανονισμούς και τα σχετικά πρότυπα.

Πάντα να λαμβάνετε υπόψη τα εξής:

- Φοράτε προστατευτικά γάντια μίας χρήσης χωρίς επικάλυψη πούδρας, ποδιά εργαστηρίου και προστατευτικά γυαλιά κατά τον χειρισμό των δοκιμών.
- Αποτρέψτε τη μικροβιακή επιμόλυνση και την επιμόλυνση από νουκλεάση (DNάση) των δοκιμών και του κιτ. Η DNάση ενδέχεται να προκαλέσει αποδόμηση της μήτρας DNA.

- Αποφεύγετε την επιμόλυνση λόγω μεταφοράς DNA ή προϊόντος PCR, το οποίο θα μπορούσε να οδηγήσει σε ψευδώς θετικό σήμα.
- Χρησιμοποιείτε πάντα αναλώσιμα ρύγχη πιπέτας με φραγμό αερολυμάτων χωρίς DNAση.
- Η αραίωση των αντιδραστηρίων της δοκιμασίας QIAscreen HPV PCR Test είναι η βέλτιστη. Μην εκτελείτε περαιτέρω αραίωση των αντιδραστηρίων, καθώς ενδέχεται να προκληθεί υποβάθμιση της απόδοσης.
- Όλα τα αντιδραστήρια που παρέχονται στη δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test προορίζονται για χρήση αποκλειστικά με τα άλλα αντιδραστήρια που παρέχονται στο ίδιο κιτ. Μην αντικαθιστάτε αντιδραστήριο από ένα κιτ με το ίδιο αντιδραστήριο από ένα άλλο κιτ δοκιμασίας QIAscreen HPV PCR Test Kit, ακόμη και από την ίδια παρτίδα παραγωγής, καθώς κάτι τέτοιο ενδέχεται να επηρεάσει την απόδοση.
- Για περισσότερες προειδοποιήσεις, προφυλάξεις και διαδικασίες, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήστη του οργάνου Rotor-Gene Q MDx.
- Πριν από την πρώτη ανάλυση της ημέρας, εκτελέστε μια ανάλυση προθέρμανσης για το Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM στους 95°C για 10 λεπτά.
- Η τροποποίηση των χρόνων και των θερμοκρασιών επώασης μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένα ή ασυνεπή δεδομένα.
- Μη χρησιμοποιείτε τα συστατικά του κιτ αν έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης, ή δεν έχουν ληφθεί τα σωστά μέτρα φύλαξης.
- Ελαχιστοποιείτε την έκθεση των συστατικών στο φως: υπάρχει το ενδεχόμενο αλλοίωσης των μειγμάτων αντίδρασης λόγω έκθεσης.
- Απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή ώστε να αποφευχθεί η επιμόλυνση των μειγμάτων με συνθετικά υλικά που περιέχονται στα αντιδραστήρια PCR.
- Τα απόβλητα των δειγμάτων και των προσδιορισμών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες ασφάλειας.

Φύλαξη και χειρισμός αντιδραστηρίων

Συνθήκες μεταφοράς

Η δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test αποστέλλεται σε ξηρό πάγο. Εάν οποιοδήποτε συστατικό της δοκιμασίας QIAscreen HPV PCR Test δεν είναι κατεψυγμένο κατά την παραλαβή, η εξωτερική συσκευασία έχει ανοίξει κατά τη μεταφορά ή στο κιβώτιο αποστολής δεν περιλαμβάνονται το δελτίο συσκευασίας, το εγχειρίδιο ή τα αντιδραστήρια, επικοινωνήστε με κάποιο από τα τμήματα τεχνικής υποστήριξης της QIAGEN ή με τους τοπικούς αντιπροσώπους (επισκεφτείτε την ιστοσελίδα www.qiagen.com).

Συνθήκες αποθήκευσης

Η δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test πρέπει να αποθηκεύεται αμέσως μετά την παραλαβή σε θερμοκρασία -30°C έως -15°C σε καταψύκτη σταθερής θερμοκρασίας, σε σκοτεινό χώρο.

Σταθερότητα


Όταν φυλάσσεται υπό τις καθορισμένες συνθήκες αποθήκευσης, η δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test είναι σταθερή έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα της συσκευασίας.

Μετά το άνοιγμα, τα αντιδραστήρια μπορούν να αποθηκευτούν στην αρχική τους συσκευασία σε θερμοκρασία -30°C έως -15°C . Η επανειλημμένη απόψυξη και κατάψυξη θα πρέπει να αποφεύγεται. Μην υπερβαίνετε το μέγιστο όριο 5 κύκλων κατάψυξης-απόψυξης.

- Αναμίξτε ελαφρώς αναστρέφοντας 10 φορές το σωληνάριο και εκτελέστε φυγοκέντρηση όλων των σωληναρίων πριν από το άνοιγμα.
- Οι ημερομηνίες λήξης για κάθε αντιδραστήριο υποδεικνύονται στις ετικέτες των επιμέρους συστατικών. Στις σωστές συνθήκες αποθήκευσης, το προϊόν διατηρεί την απόδοση ως προς το χρόνο σταθερότητας, εφόσον χρησιμοποιούνται οι ίδιες παρτίδες των συστατικών.
- Οι διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου στην QIAGEN χρησιμοποιούν δοκιμασίες για τη λειτουργία των kit για κάθε επιμέρους παρτίδα του kit. Μην αναμιγνύετε αντιδραστήρια από διαφορετικά kit, ακόμη και εάν προέρχονται από την ίδια παρτίδα.

Επιστάται η προσοχή στις ημερομηνίες λήξης και τις συνθήκες αποθήκευσης που αναγράφονται στα κουτιά και τις ετικέτες όλων των συστατικών. Μη χρησιμοποιείτε το περιεχόμενο της συσκευασίας εάν έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης ή δεν έχουν ληφθεί τα σωστά μέτρα αποθήκευσης.

Φύλαξη και χειρισμός δοκιμών

<p>ΠΡΟΣΟΧΗ</p> 	<p>Όλα τα δοκίμια πρέπει να αντιμετωπίζονται ως εν δυνάμει μολυσματικό υλικό.</p>
--	---

Τραχηλικά δοκίμια

Η δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test προορίζεται για χρήση με δείγματα γονιδιωματικού DNA που λαμβάνονται από τραχηλικά δοκίμια (υλικό απόξεσης). Τα επικυρωμένα μέσα συλλογής των τραχηλικών δοκιμίων (υλικό απόξεσης) είναι τα μέσα συλλογής PreservCyt, CellSolutions®, Pathtezt® και Surepath®. Η βέλτιστη θερμοκρασία αποθήκευσης των κλινικών δειγμάτων είναι 2–8°C κατά την παραλαβή στο εργαστήριο. Σε αυτές τις συνθήκες αποθήκευσης, τα δείγματα που έχουν συλλεχθεί σε μέσο συλλογής PreservCyt είναι σταθερά για 3 μήνες, ενώ σε μέσο συλλογής Surepath είναι σταθερά για 2 εβδομάδες πριν από την εκχύλιση DNA.

Τα τραχηλικά δείγματα που έχουν συλλεχθεί σε PreservCyt μπορούν να φυλαχθούν έως και για 210 ημέρες μετά τη συλλογή δειγμάτων στους 18–25°C, έως και για δυόμισι έτη στους 2–8°C και έως και για 2 έτη στους <20°C. Τραχηλικά δοκίμια που έχουν συλλεχθεί σε Surepath μπορούν να αποθηκεύονται για έως και 10 εβδομάδες μετά τη συλλογή του δοκιμίου στους 2–30°C, για έως και δυόμισι έτη στους 2–8°C και για έως και 210 ημέρες σε θερμοκρασίες <20°C.

Αυτολαμβανόμενα κολπικά δοκίμια με χρήση τραχηλικής βούρτσας

Η δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test προορίζεται για χρήση με δοκίμια γονιδιωματικού DNA που εκχυλίζεται από αυτολαμβανόμενα με βούρτσα κολπικά δοκίμια και αυτολαμβανόμενα μέσω έκπλυσης τραχηλικά και κολπικά δοκίμια. Τα αυτολαμβανόμενα μέσω βούρτσας κολπικά δοκίμια μπορούν να συλλεχθούν και να αποσταλούν σε ξηρή μορφή ή σε διάλυμα φυσιολογικού ορού (0,9% κ.ό. NaCl) και κατά την παραλαβή στο εργαστήριο, να αποθηκευτούν σε διάλυμα PreservCyt. Τα αυτολαμβανόμενα μέσω έκπλυσης τραχηλικά και κολπικά δοκίμια συλλέγονται και αποστέλλονται σε διάλυμα φυσιολογικού ορού (0,9% κ.ό. NaCl) και, κατά την παραλαβή στο εργαστήριο, αποθηκεύονται σε διάλυμα PreservCyt. Αυτολαμβανόμενα τραχηλικά δοκίμια που έχουν συλλεχθεί σε PreservCyt μπορούν να αποθηκεύονται για έως και 210 ημέρες μετά τη συλλογή του δοκιμίου στους 18–25°C, για έως και δυόμισι έτη στους 2–8°C και για έως και 2 έτη σε θερμοκρασίες <20°C.

Δείγματα γονιδιωματικού DNA

Μετά την εκχύλιση του γονιδιωματικού DNA, το δείγμα μπορεί να αποθηκευτεί στους 2–8°C για βραχεία αποθήκευση (≤2 ημέρες) ή στους –30°C έως –15°C έως και για 12 μήνες.

Προετοιμασία δειγμάτων

Εκχύλιση DNA

Τα πρότυπα κιτ εκχύλισης DNA (π.χ. κιτ χρήσης στηλών και μαγνητικών σφαιριδίων, όπως το QIAamp® DSP Virus spin kit, το QIAasymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit και το NucleoMag 96 Tissue kit, (Macherey-Nagel) είναι συμβατά με τον συγκεκριμένο προσδιορισμό. Στη συνέχεια υποδεικνύονται λεπτομέρειες για τη λειτουργία του QIAasymphony® DSP Virus/Pathogen Midi.

Κλινικά δοκίμια σε μέσο συλλογής PreservCyt ή PathTezt

Για εναιωρήματα τραχηλικών δοκιμίων (υλικό απόξεσης) σε μέσο συλλογής PreservCyt ή PathTezt, το κλάσμα DNA που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί ως υλικό προσθήκης στη δοκιμασία PCR αναλογεί σε 0,125% των 20 ml του τραχηλικού δοκιμίου απόξεσης PreservCyt ή PathTezt. Αυτό αντιστοιχεί σε 25 μL των αρχικών τύπων δείγματος. Δεδομένου ότι ο μέγιστος όγκος του εκχυλιζόμενου DNA που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υλικό προσθήκης στη διαδικασία PCR είναι μόνο 5 μL, οι διαδικασίες εκχύλισης DNA θα πρέπει να εκτελούνται με τρόπο τέτοιο ώστε τα 5 μL εκχυλίσματος DNA να αντιστοιχούν σε 25 μL τραχηλικού δοκιμίου (υλικό απόξεσης), προκειμένου να διασφαλίζεται ότι χρησιμοποιείται το σωστό κλάσμα τραχηλικού δείγματος στην PCR. Η επεξεργασία ισοδύναμων μέσων με φορμαλδεΰδη (π.χ. Surepath) ή χωρίς φορμαλδεΰδη (π.χ. PreservCyt) θα πρέπει να είναι παρόμοια.

Σημαντικό: Το μέσο PreservCyt μπορεί να παρεμποδίσει τη διαδικασία εκχύλισης DNA. Αυτό μπορεί να αντιμετωπιστεί με δύο διαφορετικούς τρόπους.

1. Αραιώστε το κλάσμα του δοκιμίου PreservCyt σε ίσο όγκο PBS ή ρυθμιστικού διαλύματος λύσης από το κιτ εκχύλισης DNA και αναμίξτε πριν ξεκινήσετε την εκχύλιση DNA. Βεβαιωθείτε ότι ο συνολικός όγκος του δείγματος είναι συμβατός με το κιτ εκχύλισης DNA. Εάν ο συνολικός όγκος είναι υπερβολικά υψηλός για το κιτ εκχύλισης, συνιστάται να εφαρμόσετε τη μέθοδο 2 που περιγράφεται παρακάτω.
 2. Φυγοκεντρήστε το δείγμα PreservCyt ($\geq 3400 \times g$ για 10 λεπτά) και αφαιρέστε το υπερκείμενο υγρό. Το ίζημα επανεναιωρείται σε κατάλληλο όγκο PBS ή ρυθμιστικού διαλύματος λύσης που είναι συμβατός με το κιτ εκχύλισης DNA (για το QIAamp DSP Virus spin kit: επανεναιωρήστε σε 200 μL PBS και ακολουθήστε τις οδηγίες του κατασκευαστή για την εκχύλιση DNA, εκλούστε σε 100 μL , για το Margery Nagel Nucleomag96 tissue kit: επανεναιωρήστε σε 100 μL ρυθμιστικού διαλύματος T1 του συγκεκριμένου κιτ και ακολουθήστε τις οδηγίες του κατασκευαστή, εκλούστε σε 100 μL)
- Η επεξεργασία ισοδύναμων μέσων θα πρέπει να γίνεται παρόμοια.

Λεπτομέρειες για τη λειτουργία του QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit

Πρωτόκολλο QSDSP: 500 μL τραχηλικού δείγματος σε PreservCyt αναμειγνύονται με 500 μL PBS. Μια ενοποιημένη εκτέλεση που πραγματοποιεί το πρωτόκολλο Complex800_V6_DSP ξεκινά στο QIASymphony σύμφωνα με τα βήματα που περιγράφονται στον «Ενοποιημένο οδηγό λειτουργίας του QIASymphony® SP/AS – 12.3 Ενοποιημένη εκτέλεση». Το DNA εκλούεται σε 60 μL και τα 5 μL χρησιμοποιούνται για το QIAScreen HPV PCR Test. Εάν χρησιμοποιείτε μόνο τη μονάδα QIASymphony SP, η εκτέλεση προετοιμασίας δείγματος που εφαρμόζει το πρωτόκολλο Complex800_V6_DSP εκτελείται με τη χρήση του οργάνου QIASymphony SP. Ακολουθήστε τα βήματα που περιγράφονται στις «Οδηγίες χρήσης του QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit (εγχειρίδιο) – Γενικό πρωτόκολλο καθαρισμού».

Για εναιώρημα τραχηλικών δοκιμών (υλικό απόξεσης) σε μέσο συλλογής SurePath ή CellSolutions, το κλάσμα DNA που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί ως υλικό προσθήκης στη δοκιμασία PCR αναλογεί σε 0,25% του τραχηλικού δείγματος απόξεσης σε 10 mL SurePath ή CellSolutions. Αυτό αντιστοιχεί σε 25 µL του αρχικού δείγματος. Δεδομένου ότι ο μέγιστος όγκος του εκχυλιζόμενου DNA που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υλικό προσθήκης στην PCR είναι μόνο 5 µL, ο όγκος δείγματος και ο όγκος έκλουσης DNA πρέπει να επιλέγονται έτσι ώστε τα 5 µL εκχυλίσματος DNA αντιστοιχούν σε 25 µL τραχηλικού δοκιμίου (υλικό απόξεσης) προκειμένου να διασφαλίζεται ότι χρησιμοποιείται το σωστό κλάσμα τραχηλικού δείγματος στην PCR.

ΣΗΜΑΝΤΙΚΟ: Τα κλινικά δοκίμια που συλλέγονται σε μέσο SurePath και CellSolutions πρέπει να έχουν υποβληθεί σε προκαταρκτική επεξεργασία πριν από τη χρήση προκειμένου να αντιμετωπιστεί η διασταυρούμενη σύνδεση λόγω της φορμαλδεΐδης με το παρακάτω περιγραφόμενο πρωτόκολλο.

Κλινικά δοκίμια από προκαταρκτική επεξεργασία που έχουν συλλεχθεί σε μέσο SurePath και CellSolutions:

3. Αναμίξτε πλήρως το δοκίμιο SurePath ή CellSolutions με όγκο ρυθμιστικού διαλύματος AL (QIAGEN) σε αναλογία 1:1.
4. Επωάστε στους 90°C για 20 λεπτά ύστερα από εξισορρόπηση σε θερμοκρασία δωματίου πριν προχωρήσετε σε εκχύλιση DNA.

Η επεξεργασία ισοδύναμων μέσων με φορμαλδεΐδη πρέπει να είναι παρόμοια.

Για εναιώρημα σε διάλυμα Hologic PreservCyt Solution των αυτολαμβανόμενων κολπικών δοκιμών με χρήση βούρτσας, οι διαδικασίες εκχύλισης DNA θα πρέπει να εκτελούνται με τρόπο τέτοιο ώστε 5 µL εκχυλίσματος DNA που θα χρησιμοποιηθεί ως υλικό προσθήκης στη διαδικασία PCR να αναλογούν σε 0,5% του κολπικού δείγματος. Για παράδειγμα, εάν το αυτολαμβανόμενο κολπικό δείγμα θα εναιωρηθεί σε 2 mL διαλύματος PreservCyt Solution, ο όγκος 5 µL υλικού προσθήκης DNA θα αντιστοιχεί σε 10 µL του εναιωρήματος αυτολαμβανόμενου δείγματος.

Για αυτολαμβανόμενα με χρήση έκπλυσης τραχηλικά-κολπικά δοκίμια, το κλάσμα DNA που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί ως υλικό προσθήκης στη διαδικασία PCR αντιστοιχεί στο 0,5% του αυτολαμβανόμενου δείγματος έκπλυσης. Επομένως, σε περίπτωση συνολικού όγκου έκπλυσης 3 mL, οι διαδικασίες εκχύλισης DNA θα πρέπει να εκτελούνται με τρόπο τέτοιο ώστε 5 μL υλικού προσθήκης DNA να αντιστοιχούν σε 15 μL του αρχικού αυτολαμβανόμενου δείγματος έκπλυσης.

Πρωτόκολλο: Δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test στο όργανο Rotor-Gene Q MDx

Σημαντικές πληροφορίες πριν από την έναρξη

Αφιερώστε χρόνο για να εξοικειωθείτε με το όργανο Rotor-Gene Q MDx πριν προχωρήσετε στην εκκίνηση του πρωτοκόλλου. Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήστη του οργάνου.

Πριν από την πρώτη ανάλυση της ημέρας, προθερμάνετε το Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM στους 95°C για 10 λεπτά.

Για την εκτέλεση της δοκιμασίας, απαιτείται το πρότυπο του λογισμικού της σειράς Rotor-Gene Q. Βεβαιωθείτε ότι χρησιμοποιείται το πρότυπο QIAscreen RGQ profile v1.0.ret.

Για την ανάλυση της δοκιμασίας και για κάθε ένα από τα τέσσερα κανάλια ανίχνευσης, απαιτείται πρότυπο λογισμικού της σειράς Rotor-Gene Q. Βεβαιωθείτε ότι για κάθε κανάλι χρησιμοποιείται το σωστό πρότυπο, όπως υποδεικνύεται ακολούθως:

- Για την ανάλυση των σημάτων στο Πράσινο κανάλι (HPV 16) πρέπει να χρησιμοποιηθεί το πρότυπο «QIAscreen RGQ Green Channel analysis template.qut».
- Για την ανάλυση των σημάτων στο Πορτοκαλί κανάλι (β-σφαιρίνη) πρέπει να χρησιμοποιηθεί το πρότυπο «QIAscreen RGQ Orange Channel analysis template.qut».
- Για την ανάλυση των σημάτων στο Κίτρινο κανάλι (υπόλοιποι HPV) πρέπει να χρησιμοποιηθεί το πρότυπο «QIAscreen RGQ Yellow Channel analysis template.qut».
- Για την ανάλυση των σημάτων στο Κόκκινο κανάλι (HPV 18) πρέπει να χρησιμοποιηθεί το πρότυπο «QIAscreen RGQ Red Channel analysis template.qut».

Επεξεργασία δειγμάτων σε όργανα Rotor-Gene Q MDx με στροφέα 72 σωληναρίων

Εκτός του θετικού και αρνητικού μάρτυρα, εντός του ιδίου πειράματος, υπάρχει η δυνατότητα εξέτασης έως και 70 δειγμάτων γονιδιωματικού DNA. Η σχηματική αναπαράσταση στον Πίνακα 1 παρέχει ένα παράδειγμα του μπλοκ φόρτωσης ή της ρύθμισης στροφέα για την εκτέλεση πειράματος με τη δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test. Οι αριθμοί υποδηλώνουν τις θέσεις στο μπλοκ φόρτωσης και υποδεικνύουν την τελική θέση του στροφέα.

Πίνακας 1. Προετοιμασία αντικειμενοφόρων πλακών και στροφέα για την εκτέλεση πειράματος με τη δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test σε όργανο Rotor-Gene Q MDx

Σειρά	Θέση σωληναρίου	Όνομα δείγματος	Σειρά	Θέση σωληναρίου	Όνομα δείγματος	Σειρά	Θέση σωληναρίου	Όνομα δείγματος
1	1	Positive Control (Θετικός μάρτυρας)	7	25	Δείγμα 23	13	49	Δείγμα 47
	2	Negative Control (Αρνητικός μάρτυρας)		26	Δείγμα 24		50	Δείγμα 48
	3	Δείγμα 1		27	Δείγμα 25		51	Δείγμα 49
	4	Δείγμα 2		28	Δείγμα 26		52	Δείγμα 50
2	5	Δείγμα 3	8	29	Δείγμα 27	14	53	Δείγμα 51
	6	Δείγμα 4		30	Δείγμα 28		54	Δείγμα 52
	7	Δείγμα 5		31	Δείγμα 29		55	Δείγμα 53
	8	Δείγμα 6		32	Δείγμα 30		56	Δείγμα 54
3	9	Δείγμα 7	9	33	Δείγμα 31	15	57	Δείγμα 55
	10	Δείγμα 8		34	Δείγμα 32		58	Δείγμα 56
	11	Δείγμα 9		35	Δείγμα 33		59	Δείγμα 57
	12	Δείγμα 10		36	Δείγμα 34		60	Δείγμα 58
4	13	Δείγμα 11	10	37	Δείγμα 35	16	61	Δείγμα 59
	14	Δείγμα 12		38	Δείγμα 36		62	Δείγμα 60
	15	Δείγμα 13		39	Δείγμα 37		63	Δείγμα 61
	16	Δείγμα 14		40	Δείγμα 38		64	Δείγμα 62
5	17	Δείγμα 15	11	41	Δείγμα 39	17	65	Δείγμα 63
	18	Δείγμα 16		42	Δείγμα 40		66	Δείγμα 64
	19	Δείγμα 17		43	Δείγμα 41		67	Δείγμα 65
	20	Δείγμα 18		44	Δείγμα 42		68	Δείγμα 66
6	21	Δείγμα 19	12	45	Δείγμα 43	19	69	Δείγμα 67
	22	Δείγμα 20		46	Δείγμα 44		70	Δείγμα 68
	23	Δείγμα 21		47	Δείγμα 45		71	Δείγμα 69
	24	Δείγμα 22		48	Δείγμα 46		72	Δείγμα 70

Σημείωση: Τοποθετήστε κενά σωληνάρια σε όλες τις μη χρησιμοποιημένες θέσεις.

PCR σε όργανα Rotor-Gene Q MDx με στροφέα 72 σωληναρίων

1. Ρυθμίστε τη δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test.

Σημείωση: Για να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος για την επιμόλυνση της αντίδρασης PCR, συνιστάται ιδιαίτερα η χρήση θαλάμου PCR με δυνατότητα ακτινοβόλησης UV.

Σημαντικό: Η διανομή του QIAscreen Master Mix πρέπει να εκτελείται σε χώρο διαφορετικό από εκείνον στον οποίο εκτελείται η εκχύλιση DNA.

1a. Πριν τη χρήση, καθαρίστε τον χώρο εργασίας, τις πιπέτες και τη θήκη σωληναρίων με διάλυμα αποδόμησης DNA για την πρόληψη επιμόλυνσης μήτρας ή νουκλεάσης.

Σημείωση: Αλλάζετε ρύγχη από κάθε σωληνάριο σε άλλο για την αποφυγή μη ειδικής επιμόλυνσης μήτρας ή μείγματος αντίδρασης, η οποία ενδέχεται να οδηγήσει στην απόδοση ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων.

1b. Αναμίξτε ελαφρώς αναστρέφοντας 10 φορές και εκτελέστε σύντομη φυγοκέντρηση πριν από τη χρήση για τη συλλογή του διαλύματος στον πυθμένα του σωληναρίου.

1c. Διανείμετε 15 μL του QIAscreen Master Mix στα κατάλληλα σωληνάκια των σειρών σωληναρίου (έως και 72 σωληνάκια ανά σειρά ανάλυσης στο Rotor-Gene Q MDx). Η προετοιμασία της αντίδρασης μπορεί να πραγματοποιηθεί σε θερμοκρασία δωματίου.

1d. Επανατοποθετήστε το QIAscreen Master Mix στον καταψύκτη για την αποφυγή τυχόν αποδόμησης υλικού. Μεταφέρετε τα σωληνάκια σε χωριστό χώρο για τη διανομή του QIAscreen Positive Control και του δείγματος DNA.

1e. Προσθέστε 5 μL αρνητικού μάρτυρα στη θέση σωληναρίου 2, αναμίξτε με επαναλαμβανόμενη αναρρόφηση/εξώθηση με πιπέτα ή αναστρέφοντας το σωληνάριο και κλείστε το σωληνάριο πιέζοντας το πώμα επάνω στο σωληνάριο.

1f. Προσθέστε 5 μL QIAscreen Positive Control στη θέση σωληναρίου 1, αναμίξτε με επαναλαμβανόμενη αναρρόφηση/εξώθηση με πιπέτα ή αναστρέφοντας το σωληνάριο και κλείστε το σωληνάριο.

Σημείωση: Αλλάζετε ρύγχος από κάθε σωληνάριο σε άλλο για την αποφυγή μη ειδικής επιμόλυνσης μήτρας ή μείγματος αντίδρασης, η οποία ενδέχεται να οδηγήσει στην απόδοση ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων.

- 1g. Προσθέστε 5 μ L δείγματος DNA στα κατάλληλα σωληνάρια που περιέχουν το QIAscreen Master Mix, αναμίξτε με επαναλαμβανόμενη αναρρόφηση/εξώθηση με πιπέτα ή αναστρέφοντας τα σωληνάρια και κλείστε το σωληνάριο πιέζοντας τα πώματα επάνω στα σωληνάρια.
 - 1h. Αφού ολοκληρωθεί η πλήρωση 4 σωληναρίων, πωματίστε τα σωληνάρια.
Σημείωση: Τα σωληνάρια PCR μπορούν να αποθηκευτούν για 30 λεπτά σε θερμοκρασία 2-8°C σε σκοτεινό χώρο, μεταξύ του χρόνου διανομής δειγμάτων με πιπέτα στα σωληνάρια PCR και της έναρξης του πειράματος στο μηχάνημα.
2. Προετοιμάστε το Rotor-Gene Q MDx και εκκινήστε το πείραμα ως εξής:

Σημαντικό: Πριν από την πρώτη ανάλυση της ημέρας, προθερμάνετε το Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM στους 95°C για 10 λεπτά.

- 2a. Τοποθετήστε έναν στροφέα 72 βοθρίων στη βάση στήριξης του στροφέα.
- 2b. Γεμίστε τον στροφέα με σωληνάρια ανάλογα με τις αντιστοιχισμένες θέσεις, ξεκινώντας από τη θέση 1, όπως παραθέτει ο Πίνακας 1, τοποθετώντας κενά, πωματισμένα σωληνάρια σε όλες τις θέσεις που δεν χρησιμοποιούνται.

Σημείωση: Βεβαιωθείτε ότι το πρώτο σωληνάριο είναι τοποθετημένο στη θέση 1 και ότι τα σωληνάρια είναι τοποθετημένα με τον σωστό προσανατολισμό και στις σωστές θέσεις, όπως φαίνεται στον Πίνακα 1.

- 2c. Προσαρτήστε τον δακτύλιο ασφάλισης.
- 2d. Φορτώστε τον στροφέα και τον δακτύλιο ασφάλισης στο όργανο Rotor-Gene Q MDx και κλείστε το καπάκι του οργάνου.
- 2e. Μεταβείτε στο παράθυρο **New Run** (Νέα ανάλυση) και κάντε κλικ στην επιλογή **Open a template in another folder...** (Άνοιγμα προτύπου σε έναν άλλο φάκελο...).
- 2f. Επιλέξτε το QIAscreen run template (Πρότυπο ανάλυσης QIAscreen) με το όνομα **QIAscreen RGQ profile v1.0.ret**.

- 2g. Επιλέξτε Rotor type (Τύπος στροφέα): **72-well rotor** (Στροφέας 72 βοθρίων) και **Locking ring attached** (Προσαρτημένος δακτύλιος ασφάλισης) και κάντε κλικ στην επιλογή **Next** (Επόμενο).
- 2h. Σε ρόλο Operator (Χειριστή), εισαγάγετε τα αρχικά και κάντε κλικ στην επιλογή **Next** (Επόμενο).
- 2i. Στο επόμενο παράθυρο, κάντε κλικ στην επιλογή **Next** (Επόμενο).
- 2j. Κάντε κλικ στην επιλογή **Start Run** (Έναρξη ανάλυσης).
Για να καταχωρήσετε ονόματα δειγμάτων, κάντε κλικ στην επιλογή **Edit samples** (Επεξεργασία δειγμάτων) (η ενέργεια αυτή μπορεί επίσης να πραγματοποιηθεί και μετά την ολοκλήρωση της ανάλυσης).

Πίνακας 2. Ρυθμίσεις στόχου και καναλιών*

Στόχος	Κανάλι ανίχνευσης
β-σφαιρίνη	Orange
HPV 16	Green
HPV 18	Red
Υπόλοιποι HPV*	Yellow

* Το κανάλι Υπόλοιπων HPV αποτελείται από τη δεξαμενή των 13 τύπων HPV, εκτός των τύπων HPV 16/18.

3. Αναλύστε τα δεδομένα.

- 3a. Επιλέξτε τα σωληνάρια που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν για ανάλυση.
- 3b. Μεταβείτε στο παράθυρο **Analysis tool** (Εργαλείο ανάλυσης), επιλέξτε **Cycling A. Green** και κάντε κλικ στην επιλογή **Show** (Εμφάνιση). Κάντε κλικ στην επιλογή **Import** (Εισαγωγή) κάτω από την εντολή **Imported Settings** (Ρυθμίσεις εισαγωγής) (κάτω δεξιά πλευρά του παραθύρου) και επιλέξτε το αρχείο **QIAScreen RGQ Green Channel analysis template.qut**. Επιλέξτε **Cycling A. Green** και κάντε κλικ στην επιλογή **Hide** (Απόκρυψη).

- 3c. Επιλέξτε **Cycling A. Orange** και κάντε κλικ στην επιλογή **Show** (Εμφάνιση). Κάντε κλικ στην επιλογή **Import** (Εισαγωγή) κάτω από την εντολή **Imported Settings** (Ρυθμίσεις εισαγωγής) και επιλέξτε το αρχείο **QIAScreen RGQ Orange Channel analysis template.qut**. Επιλέξτε **Cycling A. Orange** και κάντε κλικ στην επιλογή **Hide** (Απόκρυψη).
- 3d. Επιλέξτε **Cycling A. Red** και κάντε κλικ στην επιλογή **Show** (Εμφάνιση). Κάντε κλικ στην επιλογή **Import** (Εισαγωγή) κάτω από την εντολή **Imported Settings** (Ρυθμίσεις εισαγωγής) και επιλέξτε το αρχείο **QIAScreen RGQ Red Channel analysis template.qut**. Επιλέξτε **Cycling A. Red** και κάντε κλικ στην επιλογή **Hide** (Απόκρυψη).
- 3e. Επιλέξτε **Cycling A. Yellow** και κάντε κλικ στην επιλογή **Show** (Εμφάνιση). Κάντε κλικ στην επιλογή **Import** (Εισαγωγή) κάτω από την εντολή **Imported Settings** (Ρυθμίσεις εισαγωγής) και επιλέξτε το αρχείο **QIAScreen RGQ Yellow Channel analysis template.qut**.
- 3f. Κάντε κλικ στην επιλογή **Save** (Αποθήκευση).
- 3g. ΠΡΟΑΙΡΕΤΙΚΑ: Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, τα δεδομένα μπορούν να εξαχθούν σε αρχείο .csv. Μεταβείτε στη διαδρομή **File** (Αρχείο) > **Save as** (Αποθήκευση ως) > **Excel Analysis Sheet** (Φύλλο ανάλυσης Excel) και αποθηκεύστε το αρχείο εξαγωγής.
4. Εκφορτώστε το όργανο Rotor-Gene Q MDx και απορρίψτε τα σωληνάρια σύμφωνα με τις τοπικές διατάξεις για την ασφάλεια.

Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Τα κριτήρια επικύρωσης της ανάλυσης και των δειγμάτων υποδεικνύονται ακολούθως, στις υποενότητες Α και Β, αντίστοιχα. Σε περίπτωση που δεν ικανοποιείται ένα (ή περισσότερα) κριτήρια, υποδεικνύονται τα κατάλληλα μέτρα.

Α. Κριτήρια επικύρωσης μαρτύρων της δοκιμασίας QIAscreen HPV PCR Test

Οι στόχοι στο QIAscreen Positive Control θα πρέπει να αποδίδουν τιμές C_T που είναι μικρότερες από 29 για β-σφαιρίνη, μικρότερες από 30 για τους HPV 16 και HPV 18 και μικρότερες από 32 για τους υπόλοιπους τύπους HPV. Στην αντίθετη περίπτωση και εφόσον οι ρυθμίσεις της ανάλυσης είναι ορθές, το πείραμα θα πρέπει να επαναληφθεί.

Κανένας στόχος στο QIAscreen Negative Control δεν πρέπει να επιδεικνύει σήμα μεγαλύτερο από την τιμή κατώτατου ορίου έως τη λήξη της ανάλυσης PCR (δηλ. στον κύκλο 40 ή σε μη καθορισμένο κύκλο). Εάν παρατηρηθεί σήμα πριν από τον κύκλο 40, και οι ρυθμίσεις ανάλυσης είναι ορθές, το πείραμα θα πρέπει να επαναληφθεί.

Σημείωση: Εάν οι μάρτυρες δεν συμμορφώνονται με τα καθιερωμένα όρια και η επανάληψη της ανάλυσης εξαιρεί σφάλματα στην τεχνική, ελέγξτε τα παρακάτω σημεία:

- Ημερομηνία λήξης στη συσκευασία αντιδραστηρίου
- Θερμοκρασία των αντιδραστηρίων
- Ρυθμίσεις του συστήματος PCR και του λογισμικού
- Επιμόλυνση

Εάν οι μάρτυρες εξακολουθούν να μην είναι έγκυροι, επικοινωνήστε με το τμήμα εξυπηρέτησης πελατών του κατασκευαστή ή τον τοπικό αντιπρόσωπο.

B. Ερμηνεία των αποτελεσμάτων των δειγμάτων

Το αποτέλεσμα για ένα δείγμα καθορίζεται ως εξής (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. Ερμηνεία αποτελεσμάτων

	Τιμή C _T στόχου(ων) HPV	Τιμή C _T β-σφαιρίνης	Ερμηνεία
1	HPV 16 ή/και HPV 18 <36 ή/και υπόλοιποι HPV <33,5	Οποιοδήποτε	Θετικό για HPV
2	HPV 16 και HPV 18 ≥36 ή απροσδιόριστο και υπόλοιποι HPV ≥33,5 ή απροσδιόριστο	≤30	Αρνητικό για HPV
3	HPV 16 και HPV 18 ≥36 ή απροσδιόριστο και υπόλοιποι HPV ≥33,5 ή απροσδιόριστο	>30	Μη έγκυρο

1. Θετικό για HPV. Όταν οι τιμές C_T του HPV 16 ή/και του HPV 18 είναι <36 ή/και των υπόλοιπων τύπων HPV είναι <33,5 (ανεξάρτητα από την τιμή C_T β-σφαιρίνης). Το κανάλι υποδεικνύει την παρουσία του/των τύπου/τύπων.

2. Αρνητικό για HPV. Όταν η τιμή C_T για τη β-σφαιρίνη είναι ≤30 και οι τιμές C_T για HPV 16 και HPV 18 είναι ≥36 ή δεν εμφανίζουν σήμα και η τιμή των υπόλοιπων τύπων HPV είναι ≥33,5 ή δεν εμφανίζουν σήμα. **3. Μη έγκυρο.** Όταν η τιμή C_T της β-σφαιρίνης είναι >30 και οι τιμές C_T των HPV 16 και HPV 18 είναι ≥36 ή δεν εμφανίζουν σήμα και η τιμή των υπόλοιπων τύπων HPV είναι ≥33,5 ή δεν εμφανίζουν σήμα.

Περιορισμοί

- Για την ενδεικνυόμενη προβλεπόμενη χρήση, η δοκιμασία πρέπει να πραγματοποιείται σε τραχηλικά δείγματα απόξεσης ή σε αυτολαμβανόμενα (τραχηλικά) κολπικά δοκίμια. Ωστόσο, η δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test έχει επίσης αξιολογηθεί για χρήση με εκχύλιση DNA από μονιμοποιημένα σε φορμαλίνη και εγκλεισμένα σε παραφίνη (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE) δοκίμια βιοψίας.
- Η συλλογή, η μεταφορά και η αποθήκευση των δοκιμών ενδέχεται να επηρεάσει τον αριθμό αντιγράφων ενός στόχου στο δοκίμιο, οδηγώντας στην απόδοση δυνητικά ψευδώς θετικών ή ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων.
- Οι συγκεκριμένες οδηγίες ισχύουν μόνο για το όργανο Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM.
- Η χαμηλή απόδοση εκχύλισης DNA ενδέχεται να οδηγήσει σε μη έγκυρα αποτελέσματα δοκιμασίας. Σε περίπτωση που το πρόβλημα επιμένει, απευθυνθείτε στον τοπικό αντιπρόσωπο ή στο τμήμα εξυπηρέτησης πελατών του κατασκευαστή για τεχνική υποστήριξη σχετικά με το πρωτόκολλο εκχύλισης DNA.
- Δείγματα με αμφίβολα αποτελέσματα λόγω του χαμηλού αριθμού αντιγράφων των στόχων μπορούν να επιβεβαιωθούν με επανάληψη της ανάλυσης.
- Σε σπάνιες περιπτώσεις, οι αλλοιώσεις τραχήλου μπορούν να προκληθούν από φυσικές παραλλαγές του HPV ή τύπους HPV που δεν αποτελούν στόχο της δοκιμασίας QIAscreen HPV PCR Test.
- Η χρήση των αντιδραστηρίων της δοκιμασίας QIAscreen HPV PCR Test επιτρέπεται αποκλειστικά για in vitro διαγνωστικούς σκοπούς.
- Η χρήση δοκιμασιών PCR απαιτεί καλές εργαστηριακές πρακτικές, συμπεριλαμβανομένης της συντήρησης του εξοπλισμού, οι οποίες είναι αποκλειστικές για τη μοριακή βιολογία, και πρέπει να συμμορφώνεται με τους ισχύοντες κανονισμούς και τα σχετικά πρότυπα.
- Τα αντιδραστήρια και οι οδηγίες που παρέχονται για τη δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test έχουν επικυρωθεί για βέλτιστη απόδοση.

- Η δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test πρέπει να χρησιμοποιείται από επαγγελματικό προσωπικό εργαστηρίου που έχει λάβει εκπαίδευση στη χρήση των οργάνων Rotor-Gene Q MDx.
- Το προϊόν πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο από ειδικά εκπαιδευμένο και καταρτισμένο προσωπικό σε τεχνικές real-time PCR και αποκλειστικά σε in vitro διαγνωστικές διαδικασίες. Οποιαδήποτε διαγνωστικά αποτελέσματα προκύπτουν πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με άλλα κλινικά ή εργαστηριακά ευρήματα.
- Για βέλτιστα αποτελέσματα της δοκιμασίας QIAscreen HPV PCR Test απαιτείται αυστηρή τήρηση των οδηγιών χρήσης (εγχειρίδιο).
- Πρέπει να δίνεται προσοχή στις ημερομηνίες λήξης που αναγράφονται στα κουτιά και τις ετικέτες όλων των συστατικών. Μη χρησιμοποιείτε ληγμένα συστατικά.
- Όλα τα αντιδραστήρια που παρέχονται στη δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test προορίζονται για χρήση αποκλειστικά με τα άλλα αντιδραστήρια που παρέχονται στο ίδιο κιτ. Σε διαφορετική περίπτωση, η απόδοση ενδέχεται να επηρεαστεί.
- Οποιαδήποτε μη προβλεπόμενη χρήση αυτού του προϊόντος ή/και τροποποίηση των συστατικών θα επισύρει ακύρωση της ευθύνης της Self-screen B.V.
- Αποτελεί ευθύνη του χρήστη να επικυρώνει την απόδοση του συστήματος για οποιεσδήποτε διαδικασίες χρησιμοποιούνται στο εργαστήριο και δεν καλύπτονται από τις μελέτες απόδοσης.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Όριο ανίχνευσης (Limit of Detection, LoD)

Το όριο ανίχνευσης (limit of detection, LoD) προσδιορίστηκε με χρήση gBlock (δηλ. μπλοκ δίκλωνου γονιδιωματικού DNA) που περιέχουν μέρος του γονιδιώματος E7 ενός γονότυπου HPV. Προετοιμάστηκαν σειρές τριπλής αραίωσης gBlock για τους 15 στοχευμένους τύπους HPV (δηλ. 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 και 68) σε υπόβαθρο 50 ηg ανθρώπινου DNA και υποβλήθηκαν σε ανάλυση 8-πλασίως. Για τη β-σφαιρίνη, το όριο ανίχνευσης (limit of detection, LoD) εκτιμήθηκε σε σειρά τριπλής αραίωσης σε νερό ενός gBlock που περιείχε μέρος του γονιδίου β-σφαιρίνης που υποβλήθηκε σε ανάλυση 8-πλασίως.

Πίνακας 4. Όριο ανίχνευσης (limit of detection, LoD) του προσδιορισμού QIAscreen HPV PCR Test 15 τύπων HPV και του γονιδίου β-σφαιρίνης

Στόχος	Όριο ανίχνευσης (LoD) (αντίγραφα ανά 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-σφαιρίνη	617

Ειδικότητα ανάλυσης*

Καθορίστηκε η ειδικότητα ανάλυσης έναντι DNA πλασμιδίων μη στοχευμένων γονιδιωμάτων του HPV (δηλ. HPV 6, 11, 26, 40, 42, 43, 53, 61 και 70) σε συγκέντρωση τουλάχιστον 46.000 αντίγραφα/δοκιμασία και έναντι των 3 πλέον δυνητικά παθογόνων μικροοργανισμών του κόλπου *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* και *Candida albicans* σε συγκέντρωση τουλάχιστον 10.000 αντίγραφα/δοκιμασία. Η δοκιμασία δεν κατέδειξε διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με τους μη στοχευμένους τύπους HPV 6, 11, 26, 40, 42, 43, 53 και 61, ή τους μικροοργανισμούς. Μόνο για τον τύπο HPV 70 παρατηρήθηκε θετικό σήμα στο κανάλι «Άλλος τύπος HPV» (δηλ. το κανάλι ανίχνευσης της δεξαμενής των 13 HPV τύπων, εκτός των τύπων 16/18), του οποίου η ανίχνευση ήταν εφικτή, μετά από περαιτέρω αραίωση, σε >17.000 αντίγραφα/δοκιμασία. Ο τύπος HPV 70 θεωρείται ενδεχομένως καρκινογόνος τύπος βάσει επιδημιολογικών, φυλογενετικών και λειτουργικών μελετών (11-13).

Κλινική απόδοση σε τραχηλικά δοκίμια (υλικό απόξεσης)

Η κλινική ευαισθησία και ειδικότητα της δοκιμασίας για τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία βαθμού 2 ή υψηλότερου (CIN 2+) σε τραχηλικά δοκίμια (υλικό απόξεσης) αποθηκευμένα σε PreservCyt επικυρώθηκαν σε δύο διαφορετικές μελέτες μέσω ανάλυσης μη κατωτερότητας σε σχέση με υψηλού κινδύνου HPV GP5+/6+ PCR (10) ή Hybrid Capture 2 (14), σύμφωνα με τις διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες για τις απαιτήσεις των δοκιμασιών HPV για τον προληπτικό έλεγχο καρκίνου του τραχήλου (9). Η κλινική ευαισθησία για το CIN 2+ ήταν 96,8% (61/63) και 92,9% (91/98) και η κλινική ειδικότητα για το CIN 2+ ήταν 95,1% (783/823) και 94,2% (933/990), αντίστοιχα. Η κλινική ευαισθησία και ειδικότητα επέδειξαν μη κατωτερότητα ως προς τις αντίστοιχες παραμέτρους του προσδιορισμού αναφοράς GP5+/6+ PCR (10) ή Hybrid Capture 2 (14) υποδεικνύοντας μια ιδιαίτερα καλή κλινική απόδοση. Για τις γυναίκες με ASC-US ή LSIL, οι τιμές κλινικής ευαισθησίας και ειδικότητας για το CIN2+ ήταν 97,4% (37/38, 95%CI 83,5–99,6) και 59,8% (52/87, 95%CI: 49,2–69,5), αντίστοιχα. (14)

* Τα χαρακτηριστικά απόδοσης υποδεικνύονται για την έκδοση δοκιμασίας ABI7500. Η ανάλυση ισοδυναμίας επέδειξε παρόμοια απόδοση και επικύρωση για τη δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test για το όργανο Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM.

Αναπαραγωγιμότητα*

Η αναπαραγωγιμότητα εντός του εργαστηρίου και η συμφωνία μεταξύ εργαστηρίων της δοκιμασίας επικυρώθηκαν σύμφωνα με τις διεθνείς οδηγίες για τις απαιτήσεις των δοκιμασιών HPV για τον προληπτικό έλεγχο καρκίνου του τραχήλου (9). Η αναπαραγωγιμότητα εντός του εργαστηρίου σε τραχηλικά δοκίμια (υλικό απόξεσης) με την πάροδο του χρόνου ήταν 99,5% (544/547) με τιμή κάππτα 0,99 και η συμφωνία μεταξύ εργαστηρίων ήταν 99,2% (527/531) με τιμή κάππτα 0,98, υποδεικνύοντας πολύ καλή συμφωνία (10).

Απόδοση σε αυτολαμβανόμενα (τραχηλικά-)κολπικά δοκίμια*

Η απόδοση της δοκιμασίας σε αυτολαμβανόμενα (τραχηλικά-)κολπικά δοκίμια έχει επικυρωθεί για δύο διαφορετικές μεθόδους δειγματοληψίας: 1) αυτολαμβανόμενα δοκίμια έκπλυσης, και 2) αυτολαμβανόμενα δοκίμια με χρήση βούρτσας. Για τα αυτολαμβανόμενα δοκίμια έκπλυσης, η συμφωνία με τον προσδιορισμό αναφοράς GP5+/6+ PCR ήταν 96,7% (59/61) με ευαισθησία για CIN 2+ 91,4% (21/23) (10). Για τα αυτολαμβανόμενα δοκίμια με χρήση βούρτσας, η συμφωνία με την GP5+/6+ PCR ήταν 92,9% (104/112) με ευαισθησία για CIN 2+ 93,9% (31/34) (10).

Παρεμβαλλόμενες ουσίες*

Ίχνη EDTA (0,5M), HCl (1N), σφαιριδίων διοξειδίου του πυριτίου (1 μL), αίματος (1 μL), ουρίας (40 g/100 mL) και ρυθμιστικού διαλύματος λύσης ανέστειλαν την απόδοση της δοκιμασίας. Τα ΕΤΟΗ 96% (1 μL) και DMSO 4% (v/v) δεν είχαν ανασταλτική επίδραση στην απόδοση της δοκιμασίας. Η αναστολή ελέγχεται μέσω του μάρτυρα δείγματος (π.χ. στόχος β-σφαιρίνης).

* Τα χαρακτηριστικά απόδοσης υποδεικνύονται για την έκδοση δοκιμασίας ABI7500. Η ανάλυση ισοδυναμίας επέδειξε παρόμοια απόδοση και επικύρωση για τη δοκιμασία QIAscreen HPV PCR Test για το όργανο Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM.

Βιβλιογραφία

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 Monogr. 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.

Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων

Αυτός ο οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων μπορεί να σας βοηθήσει στην επίλυση ενδεχόμενων προβλημάτων. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε επίσης στη σελίδα Frequently Asked Questions (Συχνές ερωτήσεις) του Κέντρου Τεχνικής Υποστήριξης της εταιρείας μας: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Οι επιστήμονες των τμημάτων Τεχνικής Υποστήριξης της QIAGEN είναι πάντοτε πρόθυμοι να απαντήσουν σε τυχόν ερωτήσεις σχετικά με τις πληροφορίες ή/και τα πρωτόκολλα που περιέχονται στο παρόν εγχειρίδιο ή τις τεχνολογίες προετοιμασίας δειγμάτων και προσδιορισμού (για πληροφορίες επικοινωνίας επισκεφθείτε τον ιστότοπο www.qiagen.com).

Παρατηρήσεις και προτάσεις

Επισημάνση δείγματος ως μη έγκυρου: η ενίσχυση της β-σφαιρίνης είναι ιδιαίτερα χαμηλή ή δεν υπάρχει

- | | | |
|----|---|--|
| a) | Σφάλμα διανομής με πιπέτα ή παράλειψη αντιδραστηρίων. Βλ. «PCR σε όργανα Rotor-Gene Q MDx με στροφέα 72 σωληναρίων» στη σελίδα 23 | Ελέγξτε το σχήμα διανομής με πιπέτα και την προετοιμασία της αντίδρασης. Επαναλάβετε την προετοιμασία δείγματος. |
| b) | Ελέγξτε το παράγωγο έκλουσης DNA | Επαναλάβετε την εκχύλιση DNA. |

Επισημάνση θετικού μάρτυρα ως μη έγκυρου: η ενίσχυση είναι ιδιαίτερα χαμηλή ή δεν υπάρχει για έναν ή περισσότερους στόχους

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Σφάλμα διανομής με πιπέτα ή παράλειψη αντιδραστηρίων. Βλ. «PCR σε όργανα Rotor-Gene Q MDx με στροφέα 72 σωληναρίων» στη σελίδα 23 | Ελέγξτε το σχήμα διανομής με πιπέτα και την προετοιμασία της αντίδρασης. Επαναλάβετε την προετοιμασία δείγματος. |
| b) | Μερική αποικοδόμηση | Αποθηκεύστε το περιεχόμενο του κιτ στους -15 έως -30°C. Αποφεύγετε την επαναλαμβανόμενη απόψυξη και κατάψυξη σε μέγιστο αριθμό πέντε κύκλων. |
| c) | Μερική αποικοδόμηση των αντιδραστηρίων PCR | Αποθηκεύστε το περιεχόμενο του κιτ στους -15 έως -30°C και φυλάσσετε τα μείγματα αντίδρασης σε σκοτεινό χώρο. Αποφεύγετε την επαναλαμβανόμενη κατάψυξη και απόψυξη. |
| d) | Αναστροφή σωληναρίων | Ελέγξτε το σχήμα διανομής με πιπέτα και την προετοιμασία της αντίδρασης. |
| e) | Ημερομηνία λήξης | Ελέγξτε την ημερομηνία λήξης του κιτ που χρησιμοποιείται. |
| f) | Χρονική καθυστέρηση μεταξύ της διανομής των δειγμάτων με πιπέτα και της έναρξης της ανάλυσης | Τα σωληνάρια PCR μπορούν να αποθηκευτούν για 30 λεπτά σε θερμοκρασία 2–8°C σε σκοτεινό χώρο, μεταξύ του χρόνου διανομής δειγμάτων με πιπέτα στην PCR και της έναρξης της ανάλυσης στο μηχάνημα. |

Παρατηρήσεις και προτάσεις

Μη έγκυρος μάρτυρας χωρίς μήτρα (No template control, NTC)

- | | | |
|----|---|--|
| a) | Σφάλμα διανομής με πιπέτα ή παράλειψη αντιδραστηρίων. Βλ. «PCR σε όργανα Rotor-Gene Q MDx με στροφέα 72 σωληναρίων» στη σελίδα 23 | Ελέγξτε το σχήμα διανομής με πιπέτα και την προετοιμασία της αντίδρασης. Επαναλάβετε την προετοιμασία δείγματος. |
|----|---|--|














Απουσία σήματος ή χαμηλά σήματα στο δείγμα, αλλά η ανάλυση μαρτύρων είναι εντάξει

- | | | |
|----|--|--|
| a) | Ανασταλτικές επιδράσεις | Ελέγχετε πάντα εάν δεν υπάρχουν υπολείμματα ρυθμιστικών διαλυμάτων κατά την εκχύλιση DNA.
Επαναλάβετε την εκχύλιση DNA. |
| b) | Σφάλμα διανομής με πιπέτα. Βλ. «PCR σε όργανα Rotor-Gene Q MDx με στροφέα 72 σωληναρίων» στη σελίδα 23 | Ελέγξτε το σχήμα διανομής με πιπέτα και την προετοιμασία της αντίδρασης. Επαναλάβετε την ανάλυση PCR. |

Εάν το πρόβλημα παραμένει, επικοινωνήστε με το τμήμα Τεχνικής Υποστήριξης της QIAGEN.

Σύμβολα

Τα παρακάτω σύμβολα ενδέχεται να εμφανίζονται στη συσκευασία και την επισήμανση:

Σύμβολο	Ορισμός συμβόλου
	Ημερομηνία λήξης
	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Σύμβολο σήμανσης CE-IVD
	Αριθμός καταλόγου
	Αριθμός παρτίδας
	Αριθμός υλικού
	Συστατικά
	Περιεχόμενα
	Αριθμός
	Η ένδειξη R αφορά στην αναθεώρηση των οδηγιών χρήσης (εγχειρίδιο) και n είναι ο αριθμός αναθεώρησης
	Παγκόσμιος κωδικός μονάδων εμπορίας
	Περιορισμός θερμοκρασίας
	Κατασκευαστής

Σύμβολο

Ορισμός συμβόλου



Διατηρήστε το προϊόν μακριά από την ηλιακή ακτινοβολία



Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης



Προσοχή

Στοιχεία επικοινωνίας

Για τεχνική υποστήριξη και περισσότερες πληροφορίες, επισκεφθείτε το κέντρο τεχνικής υποστήριξης στην ιστοσελίδα www.qiagen.com/Support, καλέστε στο 00800-22-44-6000 ή απευθυνθείτε σε κάποιο από τα τμήματα τεχνικής υποστήριξης της QIAGEN ή τους κατά τόπους αντιπροσώπους (δείτε το οπισθόφυλλο ή επισκεφθείτε την ιστοσελίδα www.qiagen.com).

Πληροφορίες παραγγελίας

Προϊόν	Περιεχόμενα	Αριθ. καταλ.
QIAscreen HPV PCR Test	Για 72 αντιδράσεις, περιλαμβάνονται: Κύριο Μείγμα, Θετικός Μάρτυρας, Αρνητικός Μάρτυρας, Οδηγίες χρήσης	617005
QIASymphony SP	Μονάδα παρασκευής δειγμάτων QIASymphony (προαιρετικό για εκχύλιση)	9001297
Rotor-Gene Q MDx		
Rotor-Gene Q MDx HRM System	Κυκλοποιητής real-time PCR και αναλυτής Melt υψηλής ανάλυσης με 5 κανάλια (πράσινο, κίτρινο, πορτοκαλί, κόκκινο, μπροντώ) και κανάλι HRM, φορητός υπολογιστής, λογισμικό, παρελκόμενα: περιλαμβάνει εγγύηση 1 έτους στα εξαρτήματα και την εργασία, εγκατάσταση και κατάρτιση	9002035
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Κυκλοποιητής real-time PCR και αναλυτής Melt υψηλής ανάλυσης με 5 κανάλια (πράσινο, κίτρινο, πορτοκαλί, κόκκινο, μπροντώ) και κανάλι HRM, φορητός υπολογιστής, λογισμικό, παρελκόμενα: περιλαμβάνει εγγύηση 1 έτους στα εξαρτήματα και την εργασία, δεν περιλαμβάνεται εγκατάσταση και κατάρτιση	9002032

Παρελκόμενα Rotor-Gene Q MDx

Loading Block 72 x 0.1 mL Tubes	Μονάδα αλουμινίου για χειροκίνητη προετοιμασία αντίδρασης με μονοκάναλη πιπέτα σε σωληνάρια 72 × 0,1 mL	9018901
Strip Tubes and Caps, 0.1 mL (250)	250 ταινίες των 4 σωληναρίων και πωμάτων για 1000 αντιδράσεις	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 mL (2500)	10 × 250 ταινίες των 4 σωληναρίων και πώματα για 10.000 αντιδράσεις	981106

Για ενημερωμένες πληροφορίες σχετικά με τις άδειες χρήσης και για δηλώσεις αποποίησης ευθύνης σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στο αντίστοιχο εγχειρίδιο κιτ ή εγχειρίδιο χρήστη της QIAGEN. Οι οδηγίες και τα εγχειρίδια χρήσης των κιτ QIAGEN διατίθενται στον ιστότοπο www.qiagen.com. Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από το τμήμα Τεχνικής Εξυπηρέτησης της QIAGEN ή τον τοπικό διανομέα σας.

Ιστορικό αναθεώρησης εγγράφου

Ημερομηνία

Αλλαγές

R2, Αύγουστος 2018

Ενημέρωση ενότητας «Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις», προσθήκη του CellSolutions® στην ενότητα «Φύλαξη και χειρισμός των δοκιμών» και στα Εμπορικά σήματα, αναθεώρηση ενότητας «Προετοιμασία δειγμάτων ως αντικατάσταση των παραστάσεων κλάσματος με ποσοστά», ενημέρωση Πρωτοκόλλου: QIAAscreen HPV PCR Test για το RGQ MDx, Αναθεώρηση της στήλης 3 του Πίνακα 1 στο πρωτόκολλο: QIAAscreen HPV PCR Test για το RGQ MDx, ενημέρωση ενότητας PCR στο RGQ MDx με στροφέα 72-σωληναρίων για την προσθήκη του στοιχείου «Σημαντική σημείωση» και για την αλλαγή του παραθύρου «New experiment (Νέο πείραμα) σε New Run (Νέα ανάλυση)», ενημέρωση ενότητας «Χαρακτηριστικά απόδοσης», διόρθωση αριθμού καταλόγου για το QIAAscreen HPV PCR Test, ενημερώσεις διάταξης

R3, Ιούνιος 2023

Ενημερώθηκε η ενότητα για την αποθήκευση και τον χειρισμό δειγμάτων, ενημερώθηκε η ενότητα παρασκευής δειγμάτων με την προεπεξεργασία δειγμάτων που έχουν αποθηκευτεί σε SurePath και με οδηγίες για την εκχύλιση DNA με το QIAamp DSP Virus Spin kit και για την εκχύλιση DNA με το QIAAsymphony με χρήση του QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi kit. Ενημερώθηκε η κλινική απόδοση για δείγματα που έχουν αποθηκευτεί σε SurePath και προστέθηκε η αναφορά για την επικύρωση δειγμάτων που έχουν αποθηκευτεί σε SurePath.

Άδεια Περιορισμένης Χρήσης για τη δοκιμασία QIAAscreen HPV PCR Test

Η χρήση του προϊόντος αυτού συνεπάγεται την αποδοχή των παρακάτω όρων εκ μέρους του αγοραστή ή του χρήστη του προϊόντος:

1. Το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποκλειστικά και μόνο όπως ορίζεται στα πρωτόκολλα που παρέχονται μαζί με το προϊόν και όπως ορίζεται στο παρόν εγχειρίδιο και μόνο με τα συστατικά που περιλαμβάνονται στο kit. Η QIAGEN δεν παρέχει άδεια χρήσης υπό οποιαδήποτε πνευματική ιδιοκτησία της για τη χρήση ή ενσωμάτωση των παρεχόμενων συστατικών αυτού του kit σε οποιαδήποτε συστατικά που δεν περιλαμβάνονται σε αυτό το kit, παρά μόνον όπως περιγράφεται στα πρωτόκολλα που παρέχονται μαζί με το προϊόν, στο παρόν εγχειρίδιο και στα συμπληρωματικά πρωτόκολλα που διατίθενται στον ιστότοπο www.qiagen.com. Ορισμένα από αυτά τα επιπλέον πρωτόκολλα έχουν δοθεί από χρήστες της QIAGEN για χρήστες της QIAGEN. Αυτά τα πρωτόκολλα δεν έχουν ελεγχθεί διεξοδικά ή βελτιστοποιηθεί από την QIAGEN. Η QIAGEN δεν παρέχει εγγυήσεις για αυτά και δεν παρέχει καμία διασφάλιση ότι δεν παραβιάζουν δικαιώματα τρίτων.
2. Εκτός από τις άδειες που αναφέρονται ρητά, η QIAGEN δεν εγγυάται ότι αυτό το σετ ή/και η χρήση(εις) του δεν παραβιάζουν δικαιώματα τρίτων.
3. Αυτό το σετ και τα συστατικά του παραχωρούνται με άδεια για μία μόνο χρήση και δεν επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση, η επανπεξεργασία, η ανακατασκευή ή η μεταπώλησή τους.
4. Η QIAGEN αποποιείται ειδικά οποιοσδήποτε άλλες άδειες, ρητές ή σιωπηρές, εκτός από αυτές που αναφέρονται ρητά.
5. Ο αγοραστής και ο χρήστης του σετ συμφωνούν να μην προβούν και να μην επιτρέψουν σε άλλο πρόσωπο να προβεί σε ενέργειες οι οποίες θα μπορούσαν να προκαλέσουν ή να διευκολύνουν τυχόν ενέργειες που απαγορεύονται σύμφωνα με τα προαναφερθέντα. Η QIAGEN διατηρεί το δικαίωμα να επιβάλλει τις απαγορεύσεις της παρούσας Συμφωνίας άδειας περιορισμένης χρήσης σε οποιοδήποτε δικαστήριο και πρέπει να αποζημιώνεται για όλες τις ερευνητικές και δικαστικές δαπάνες της, συμπεριλαμβανομένων των δικηγορικών αμοιβών, στο πλαίσιο οποιασδήποτε ενέργειας για την επιβολή της παρούσας Συμφωνίας άδειας περιορισμένης χρήσης ή οποιοσδήποτε εκ των δικαιωμάτων πνευματικής της ιδιοκτησίας σχετικά με το σετ ή/και τα συστατικά του.

Για τους ενημερωμένους όρους της άδειας, βλ. www.qiagen.com.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAAsymphony®, MinElute®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group), PreservCyt® (Hologic, Inc.), CellSolutions®, Pathtezt® (Pathtezt), SurePath® (Becton Dickinson and Company). Οι καταθεθείσες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα κ.λπ. που χρησιμοποιούνται σε αυτό το έγγραφο δεν θα πρέπει να θεωρούνται μη προστατευόμενα από τον νόμο, ακόμα κι αν αυτό δεν υποδεικνύεται ρητά.

H Self-screen B.V. είναι ο νόμιμος κατασκευαστής της δοκιμασίας QIAAscreen HPV PCR Test.

H δοκιμασία QIAAscreen HPV PCR Test κατασκευάζεται για λογαριασμό της QIAGEN από την Self-screen B.V.

1132289EL 06/2023 HB-2579-004 © 2023 QIAGEN, με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

