

Elokuu 2019

QIAscreen HPV PCR Test - käyttöohje (käsikirja)



72

Versio 1



In vitro -diagnostiikkaan

Käytettäväksi Rotor-Gene® Q MDx -laitteen kanssa



617005



Self-screen B.V., Biothof 15-1, 1098 RX Amsterdam,
Alankomaat



1117669FI

Sisältö

Käyttötarkoitus	4
Yhteenveto ja selitykset.....	5
Menetelmän toimintaperiaate	6
Toimitetut materiaalit.....	7
Tarvittavat materiaalit (jotka eivät kuulu toimitukseen)	7
Tarvikkeet, reagenssit ja välineet näytteiden valmistelua varten.....	7
Rotor-Gene Q MDx -laitteen tarvikkeet.....	8
Välineet	8
Real-time PCR:n välineet	8
Varoitukset ja varotoimet	9
Turvallisuustiedot	9
Yleiset varotoimet	9
Reagenssien säilytys ja käsittely	11
Näytteiden säilytys ja käsittely	12
Näytteen valmistelu	13
Protokolla: QIAScreen HPV PCR Test -testi Rotor-Gene Q MDx -laitteella	14
PCR-ajo Rotor-Gene Q MDx -laitteilla, joissa on 72 putken roottori.....	16
Tulosten tulkinta	19
Rajoitukset	21
Suoritusominaisuudet	23
Havaitsemisraja (LoD)	23
Analyttinen spesifisyys	24

Kliininen suoritustaso kohdunkaulan raaputusnäytteillä	24
Uusittavuus*	25
Suoritustaso itse otetuilla (kohdunkaulan ja) emättimen näytteillä	25
Häiritsevät aineet*	25
Lähdeviitteet	26
Vianmääritys	28
Merkinnät	30
Yhteystiedot.....	31
Tilaustiedot.....	32
Asiakirjan muutoshistoria	34

Käyttötarkoitus

QIAScreen HPV PCR Test -testi on in vitro real-time PCR-testi 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 näytteet, jotka tutkittava on kerännyt itse harjatyypisellä välineellä tai huuhteluvälineellä.

Käyttöindikaatiot:

- ensisijaisena testinä naisten seulontatutkimuksessa kohdunkaulan syövän (esiateen) varalta määrittämään kolposkopian tai muiden jatkotoimenpiteiden tarpeellisuus
- seurantakokeena naisille, joiden Papa-kokeen tuloksissa on ilmennyt merkitykseltään määrittelemättömiä okasoluja (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) tai lievä kohdunkaulan epiteelinsisäinen neoplasia (low-grade squamous intra-epithelial neoplasia, I_{si}) määrittämään kolposkopian tai muiden jatkotoimenpiteiden tarpeellisuus.

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

Yhteenveto ja selitykset

Ihmisen papilloomavirukset (human papillomavirus, HPV) ovat pieniä, kaksijuosteisia Papillomaviridae-ryhmään kuuluvia DNA-virusia. Sirkulaarisen genomien 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 pahanlaatuiseksi muuttumiselle (4). Pahanlaatuiseksi muuttuminen on usein liitetty viruksen integroitumiseen osaksi isäntäsolun genomia (5). Integroituminen aiheuttaa viruksen genomien 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. Testi on validoitu kliinisesti HPV-testien kansainvälisten ohjeiden mukaan (9, 10).

Menetelmän toimintaperiaate

QIAScreen HPV PCR Test -testi on real-time multiplex-PCR-testi, jonka kohteena on viidentoista (todennäköisesti) suuririskisen HPV-tyypin E7-geeni. Testissä käytetään fluoresenssimerkittyjä koettimia yhden tai usean kertyvän PCR-tuotteen osoittamiseen. Fluoresenssisignaali voimistuu jokaisessa PCR-syklissä logaritmisesti, ja tuloksena on monistumiskäyrä. Kun kohteen monistumiskäyrä ylittää kynnyksarvonsa, 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
Tuotenumero		617005
Reaktioiden määrä		72
QIAscreen Master Mix (QIAscreen-pääseos) (1 putki)	Läpinäkyvä väri	1 080 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)

Työkenneltäessä kemikaalien kanssa on aina käytettävä asianmukaista laboratoriotakkia, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja. Lisätietoja saa tuotekohtaisista käyttöturvallisuustiedotteista (safety data sheets, SDSs), jotka ovat saatavana tuotteen toimittajalta.

Tarvikkeet, reagenssit ja välineet näytteiden valmistelua varten

- Hologic PreservCyt® Solution -liuos (itse otettujen näytteiden säilytykseen)
- Tavanomaiset DNA:n uuttosarjat, kuten QIAamp® MinElute® Media Kit -tarvikesarjat ja QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Kit -tarvikesarjat (QIAGEN, tuotenumero 57414 tai 937036)

Rotor-Gene Q MDx -laitteen tarvikkeet

- 0.1 ml Strip Tubes and Caps käytettäväksi 72-kuoppaisen roottorin kanssa (QIAGEN, tuotenumero 981103 tai 981106)

Välineet

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

Real-time PCR:n välineet

- Rotor-Gene Q 5plex HRM System (tuotenumero 9002033) tai Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM -laitte (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.

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

† Mikäli mahdollista, voidaan käyttää Rotor-Gene Q 5plex HRM -laitetta, joka on valmistettu tammikuussa 2010 tai myöhemmin. Valmistuspäivä on nähtävissä laitteen taustapuolella olevasta sarjanumerosta. Sarjanumero on muodossa "kkvnnn", jossa "kk" on valmistuskuukausi, "v" on valmistusvuoden kaksi viimeistä numeroa ja "nn" on laitteen tunnistenumero.

Varoitukset ja varotoimet

Turvallisuustiedot

Työskenneltäessä kemikaalien kanssa on aina käytettävä asianmukaista laboratoriotakkia, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja. Lisätietoa saa tuotekohtaisista käyttöturvatiedoista. Ne ovat saatavana PDF-tiedostoina Internet-osoitteessa www.qiagen.com/safety. Voit hakea, lukea ja tulostaa kaikkien QIAGEN-tarvikesarjojen ja niiden osien käyttöturvallisuustiedotteet.

- 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 laboratoriakäytäntöjen 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 nukleaasi (DNAasi) -kontaminaatio. DNAasi saattaa hajottaa DNA-mallin.
- Vältä DNA:n tai PCR-tuotteen kulkeutumiskontaminaatiota, joka voi aiheuttaa väärää positiivista signaalia.
- Käytä aina kertakäyttöpipettejä, 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 suoritustasoon.
 - Rotor-Gene Q MDx -laitteen käyttöoppaassa on lisätietoja varoituksista, varotoimista ja menettelytavoista.
 - Valmistele Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM ennen päivän ensimmäistä ajoa suorittamalla 10 minuuttia kestävä 95 °C:n lämmitysajo.
 - Inkubaatioajan ja -lämpötilan muuttaminen voi tuottaa virheellisiä tai ristiriitaisia tietoja.
 - Älä käytä sellaisen tarvikesarjan osia, 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 $-30...-15$ °C:n lämpötilassa olevaan pakastimeen valolta suojattuna.

Stabiilius


Kyseysissä olosuhteissa säilytetty QIAScreen HPV PCR Test -testi on stabiili pakkauksen etiketissä ilmoitettuun vanhenemispäivään asti.

Avatut reagenssit voidaan säilyttää alkuperäispakkauksissaan $-30...-15$ °C:n lämpötilassa. Toistuvaa sulattamista ja pakastamista on vältettävä. Pakastamis- ja sulattamisjaksoja saa olla enintään 5.

- Sekoita kääntämällä putkea ylösalaisin 10 kertaa ja käytä kaikkia putkia sentrifugissa ennen avaamista.
- Reagenssien vanhenemispäivät on ilmoitettu kunkin osan etiketissä. Oikein säilytetyn tuotteen suoritusaso säilyy koko stabiiliisuusajan, kunhan osien samoja eriä käytetään.
- 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 tartuntavaarallisenä materiaalina.</p>
--	--

Kohdunkaulan näytteet

QIAScreen HPV PCR Test -testi on tarkoitettu käytettäväksi genomiseen DNA:han, joka on peräisin kohdunkaulan raaputusnäytteistä. Kohdunkaulan raaputusnäytteiden validoituja säilöntänesteitä ovat PreservCyt, CellSolutions®, Pathtez[®] 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.

Itse otetut emättimen harjanäytteet

QIAScreen HPV PCR Test -testi on tarkoitettu käytettäväksi genomiseen DNA:han, joka on peräisin itse otetuista emättimen raaputusnäytteistä sekä kohdunkaulan ja emättimen huuhtelunäytteistä. Itse otetut emättimen raaputusnäytteet 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) suolaliuoksessa ja säilyttää PreservCyt-liuoksessa laboratorioon saapuessa. PreservCyt-liuoksessa olevia näytteitä voidaan säilyttää 2–8 °C:n lämpötilassa enintään 3 kuukautta.

Genomiset DNA-näytteet

Kun genominen DNA on uutettu, sitä voidaan säilyttää lyhytaikaisesti 2–8 °C:n lämpötilassa (≤ 2 vuorokautta) tai –30...–15 °C:n lämpötilassa enintään 12 kuukautta.

Näytteen valmistelu

DNA:n eristäminen

Vakiotyypiset DNA-uuttosarjat (kolonnityypiset ja magneettihelmiin perustuvat sarjat, kuten QIAamp MinElute Media Kit -tarvikesarjat ja QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit -tarvikesarjat) ovat yhteensopivia tämän testin kanssa.

Surepath-, PreservCyt-, CellSolutions- tai PathTezt-säilöntä nesteessä olevilla kohdunkaulan raaputusnäytteillä PCR:n syöteenä käytettävä DNA-osuus on 0,25 % 10 ml:sta Surepath- tai CellSolutions-näytettä tai 0,125 % 20 ml:sta PreservCyt- tai PathTezt-raaputusnäytettä. Tämä vastaa 25 µl kutakin näytetyyppeä. Koska PCR:ssä syöteenä voidaan käyttää enintään 5 µl uutettua DNA:ta, DNA:n uuttaminen tulee tehdä siten, että 5 µl DNA-uutetta vastaa 25 µl kohdunkaulan raaputusnäytettä, jotta PCR:ssä varmasti käytetään oikeaa kohdunkaulanäytteen osuutta. Vastaavat säilöntä nesteet, jotka sisältävät formaldehydiä (kuten Surepath) tai eivät sisällä formaldehydiä (kuten PreservCyt), tulee käsitellä samalla tavalla.

Hologic PreservCyt Solution -liuksessa olevilla itse otetuilla emättimen raaputusnäytteillä DNA:n uuttaminen tulee tehdä siten, että 5 µl PCR:n syöteenä käytettävää DNA-uutetta 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 uuttaminen 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 suorittamista. Tutustu laitteen käyttöoppaaseen.

Valmistele Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM ennen päivän ensimmäistä ajoa suorittamalla 10 minuuttia kestävä 95 °C:n lämmitysajo.

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 QIAscreen HPV PCR Test -testin putkien järjestyksestä. 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	18	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 -testin 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 putkiteline ennen DNA:ta hajottavan liuoksen käyttöä, jotta malli- tai nukleasikontaminaation riski pienenee.
Huomautus: Vaihda pipetin kärki jokaisen putken kohdalla. Näin vältät väärät 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: Valmistele Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM ennen päivän ensimmäistä ajoa suorittamalla 10 minuuttia kestävä 95 °C:n lämmitysajo.

- 2a. Aseta 72-kuoppainen roottori roottoripidikkeeseen.
- 2b. Aseta liuskaputket paikoilleen roottoriin: aloita paikasta 1 kuvan Taulukko 1 esittämällä tavalla. Aseta kaikkiin käyttämättömiin paikkoihin tyhjä, korkilla suljettu putki.
Huomautus: varmista, että ensimmäinen putki on asetettu sijaintiin 1, ja että liuskaputket on asetettu oikeisiin suuntiin ja sijainteihin kuvan Taulukko 1 esittämällä tavalla.
- 2c. Kiinnitä lukitusrengas.
- 2d. Lataa roottori ja lukitusrengas 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 (Lukitusrengas 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	Oranssi
HPV 16	Vihreä
HPV 18	Punainen
HPV Muut*	Keltainen

* 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 seuraavasti (Taulukko 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 tyyppin olevan näytteessä. 2. HSV-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 näytteille. 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 väärän positiivisen tai väärän 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 uuttoon koskevia teknisiä ohjeita.
- 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 suoritusolosuhteiden optimaaliksi.

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 suoritustasoa.

Tämän tuotteen off label -käyttö ja/tai osien muokkaaminen mitätöi Self-screen B.V:n vastuun.

Käyttäjän vastuulla on validoida järjestelmän suoritustaso kaikissa niissä laboratoriossa käytetyissä menetelmissä, joita suoritustasoa koskevat tutkimukset eivät kata.

Suoritusominaisuudet

Havaitsemisraja (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-tyypin (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 ja 68) 3-kertaiset gBlock-sarjalaimennokset valmistettiin 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-tyypin ja β -globiinigeenin QIAScreen HPV PCR Test -testin 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

Analyyttinen spesifisyys*

Analyyttinen 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-tyypin 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 suoritustaso kohdunkaulan raaputusnäytteillä

Kohdunkaulan epiteelin atypian vähintään gradus kahta (CIN 2+) koskevan, kohdunkaulan raaputusnäytteitä tutkivan testin kliininen herkkyys ja spesifisyys validoitiin samanveroisessa analyysissä suhteessa suuririskisen HPV:n GP5+/6+ PCR -ajoon kohdunkaulan syövän HPV-seulontatestien edellytyksiä koskevien kansainvälisten ohjeiden mukaan (9). CIN 2+:n kliininen herkkyys oli 96,8% (61/63) ja CIN 2+:n kliininen spesifisyys oli 95,1% (783/823). Kliininen herkkyys ja spesifisyys olivat samanveroisia vertailuanalyysin GP5+/6+ PCR -ajoon nähden (10), mikä osoittaa, että kliininen suoritustaso 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⁾

* Suoritustason ominaisuudet on määritetty testiversiolle ABI7500. Ekvivalenssianalyysissä osoitettiin samanlainen suoritustaso ja validointi Rotor-Gene Q MDx Splex HRM -laitteen QIAScreen HPV PCR Test -testille.

Uusittavuus*

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

Suoritustaso itse otetuilla (kohdunkaulan ja) emättimen näytteillä*

Testin suoritustaso itse otetuilla (kohdunkaulan ja) emättimen näytteillä on validoitu kahdelle eri näytteenottotavalle: 1) itse otetut huuhtelunäytteet ja 2) itse otetut raaputusnäytteet. Itse otettujen huuhtelunäytteiden yhtäpitävyys vertailuanalyysin GP5+/6+ PCR -ajon kanssa oli 96,7% (59/61) ja CIN 2+-herkkyys 91,4 % (21/23) (10). Itse otettujen raaputusnäytteiden 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), Silica-helmien (1 µl), veren (1 µl), urean (40 g / 100 ml) ja lyysauspuskurin jäämät heikensivät testin suoritustasoa. ETOH 96 % (1 µl) ja DMSO 4 % (v/v) eivät heikentäneet testin suoritustasoa. Heikentymistä valvotaan näytteen kontrollilla (β-globiinilla).

* Suoritustason ominaisuudet on määritetty testiversiolle ABI7500. Ekvivalenssianalysissä osoitettiin samanlainen suoritustaso 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.

Vianmääritys

Tämä ongelmien ratkaisuopas voi auttaa mahdollisissa esiin tulevissa ongelmissa. Lisätietoja on saatavissa myös teknisen tuen sivustostamme usein kysytyjen kysymysten osiosta: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. QIAGENin tukikeskuksen asiantuntijat vastaavat mielellään kysymyksiisi joko tähän käsikirjaan liittyvistä tiedoista ja/tai protokollista tai näyte- ja analyysitekniikoista (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 Tarkista pipetointijärjestys ja reaktion järjestely. Toista näyte.
puuttuu. Katso "PCR-ajo Rotor-Gene
Q MDx -laitteilla, joissa on 72
putken roottori", sivu 16

- 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 Tarkista pipetointijärjestys ja reaktion järjestely. Toista näyte.
puuttuu. Katso "PCR-ajo Rotor-Gene
Q MDx -laitteilla, joissa on 72
putken roottori", sivu 16

- b) Osittainen hajoaminen Säilytä sarjan sisältöä $-15...-30$ °C:n lämpötilassa.
Vältä toistuvaa jäätymistä ja sulamista. Pakastamis- ja sulattamisjaksoja 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) Viimeinen käyttöpäivä 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. Katso PCR-ajo Rotor-Gene Q MDx -laitteilla, joissa on 72 putken roottori, sivu 16 Tarkista pipetointijärjestys ja reaktion järjestely. Toista näyte.
- b) Ristikontaminaatio Vaihda kaikki kriittisen tärkeät reagenssit.
Käsittele näytteitä, sarjan osia ja kulutusosia yleisesti hyväksytyjen menettelytapojen mukaisesti, jotta kulkeutumiskontaminaatiota ei tapahtuisi.
- c) Reagenssit ovat kontaminoituneet Vaihda kaikki kriittisen tärkeät reagenssit.
Käsittele näytteitä, sarjan osia ja kulutusosia yleisesti hyväksytyjen menettelytapojen mukaisesti, jotta kulkeutumiskontaminaatiota ei tapahtuisi.
- d) Liuskaputket ovat vaihtuneet keskenään Tarkista pipetointijärjestys ja reaktion järjestely.
- e) Viive näytteiden pipetoinnin ja ajon alkamisen välillä PCR-seoksia voidaan säilyttää pimeässä, 2–8 °C:n lämpötilassa 30 minuuttia seosten valmistamisen ja koneen ajon käynnistämisen välillä.
- f) Koettimen hajoaminen Suojaa reaktioseokset valolta.
Tarkista fluoresenssikäyrä väärän positiivisen varalta.













Näytteen signaaleja puuttuu tai ne ovat heikkoja, mutta kontrolliajo on ok

- a) Haittavaikutuksia Tarkista aina, ettei DNA:n uutossa ole jäämiä puskureista.
Toista DNA:n uutto.
- b) Pipetointivirhe. Katso PCR-ajo Rotor-Gene Q MDx -laitteilla, joissa on 72 putken roottori, sivu 16 Tarkista pipetointijärjestys ja reaktion järjestely. Suorita PCR-ajo uudelleen.

Jos ongelma ei poistu, ota yhteyttä QIAGENin tekniseen tukipalveluun.

Merkinnät

Pakkauksessa ja etiketeissä saattaa näkyä seuraavia symboleita:

Merkintä	Symbolin määritelmä
	Viimeinen käyttöpäivämäärä
	Diagnostinen in vitro -lääkintälaite
	CE-IVD-merkitty symboli
	Tuotenumero
	Eränumero
	Materiaalinumero
	Komponentit
	Sisältö
	Numero
Rn	R tarkoittaa käsikirjan versiota ja n on versionumero
	GTIN-numero
	Lämpötilarajoitus
	Valmistaja

Merkintä

Symbolin määritelmä



Säilytettävä auringonvalolta suojattuna



Katso käyttöohjeet



Huomio

Yhteystiedot

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

Tilaustiedot

Tuote	Sisältö	Tuotenumero
QIAscreen HPV PCR Test	72 reaktiota varten, sisältö: Pääseos, positiivinen kontrolli, negatiivinen kontrolli, käyttöohje	617005
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 löytyvät osoitteesta www.qiagen.com, tai niitä voi tiedustella QIAGENin teknisestä palvelusta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

Asiakirjan muutoshistoria

Päivämäärä	Muutokset
R2, elokuu 2019	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 sarakke 3 Protokollassa: QIAScreen HPV PCR Test for RGQ MDx, päivitetty PCR 72-kuoppaisella rootorilla 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, asettelumuutoksia

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 asiakirjojen ja tämän käyttöoppaan ohjeiden mukaan, ja sen kanssa saa käyttää vain sarjan sisältämiä komponentteja. QIAGEN ei myönnä lisenssiä mihinkään aineellomaan omaisuuteensa, eikä tämän sarjan oheisia komponentteja saa käyttää tai liittää muihin komponentteihin, jotka eivät sisälly tähän sarjaan, kuten tuotteen mukana toimitetuissa asiakirjoissa, tässä käyttöoppaassa ja lisämateriaalissa mainitaan. Ne ovat saatavilla osoitteesta www.qiagen.com. Osa lisämateriaalista on QIAGEN-käyttäjien toisille QIAGEN-käyttäjille laatimaa. QIAGEN ei ole testannut tai tarkistanut kyseistä materiaalia. 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(i) 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 toimitusmuutoksissa. QIAGEN perii kaikki tutkimus- ja toimeenpanemisesta 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®; PathTezi® (PathTezi); 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.

1117669FI 08/2019 HB-2579-003 © 2019 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään.

