

2023. gada jūnijs

QIAscreen[®] HPV PCR Test lietošanas instrukcijas (rokasgrāmata)



1. versija

IVD

Lietošanai in vitro diagnostikā

Lietošanai ar Rotor-Gene[®] Q MDx instrumentu

CE

REF

617005



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

R3 **MAT**

1132289LV

Sample to Insight



Saturs

Paredzētais lietojums	4
Kopsavilkums un skaidrojums	5
Procedūras princips	6
Nodrošinātie materiāli	7
Nepieciešamie materiāli, kas netiek nodrošināti	8
Palīgmateriāli, reaģenti un instrumenti paraugu sagatavošanai	8
Palīgmateriāli Rotor-Gene Q MDx instrumentam	8
Aprīkojums	8
Aprīkojums, kas paredzēts ekstrahēšanai un real-time PCR	9
Brīdinājumi un piesardzības pasākumi	10
Drošības informācija	10
Vispārējie piesardzības pasākumi	10
Reaģentu uzglabāšana un lietošana	12
Paraugu glabāšana un lietošana	13
Paraugu sagatavošana	15
Protokols: QIAscreen HPV PCR Test Rotor-Gene Q MDx instrumentā	18
PCR veikšana Rotor-Gene Q MDx instrumentos ar 72 stobriņu rotoru	20
Rezultātu interpretācija	23
Ierobežojumi	25
Veiktspējas raksturojums	27
Noteikšanas robeža (Limit of Detection, LoD)	27
Analītiskais specifiskums	28

Dzemes kakla paraugu klīniskā veiktspēja (nokasījumi)	28
Atkārtojamība*	29
Pašsavākto (dzemes kakla) maksts paraugu veiktspēja	29
Interferējošas vielas*	29
Atsauces	30
Problēmu novēršanas ceļvedis	32
Simboli	34
Kontaktinformācija	36
Informācija par pasūtīšanu	37
Dokumenta redakciju vēsture	39

Paredzētais lietojums

QIAScreen HPV PCR Test ir *in vitro* real-time PCR analīze, lai kvalitatīvi noteiktu cilvēka papilomas vīrusu (Human Papillomavirus, HPV) DNS no tālāk norādītajiem 15 (iespējams) augsta riska HPV genotipiem, t.i., 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 un 68.

Paraugi, kurus var testēt, izmantojot QIAScreen HPV PCR Test, ietver no tālāk norādītajos veidos savāktiem paraugiem izolētu DNS:

- Dzemdes kakla paraugi, kas savākti, izmantojot otas/sukas tipa savākšanas ierīci (savāc ārsts)
- Maksts paraugi, kas savākti, izmantojot otas/sukas tipa vai skalošanas ierīci (pašsavākti)

Lietošanas indikācijas:

- Kā primārais tests sieviešu skrīningā attiecībā uz dzemdes kakla (pirms)vēža risku, lai noteiktu nepieciešamību pēc nosūtīšanas uz kolposkopiju vai citām plānveida procedūrām
- Kā plānveida pārbaude sievietēm ar Pap testa rezultātiem, kas uzrāda nenoteiktas nozīmes netipiskas plakanšūnas (ASC-US) vai zemas pakāpes plakanšūnu intraepitēlija neoplāziju (Ic1), lai noteiktu vajadzību pēc citu plānveida procedūru kolposkopijas

Šo produktu ir paredzēts lietot profesionāliem lietotājiem, piemēram, tehniķiem un laborantiem, kuri ir apmācīti *in vitro* diagnostikas procedūru veikšanā, molekulāri bioloģisko metožu un sistēmas Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM izmantošanā.

Kopsavilkums un skaidrojums

Cilvēka papilomas vīrusi (HPV) pieder pie *Papillomaviridae* dzimtas un ir mazi divpavedienu DNS vīrusi. Apļveida genoma izmērs ir aptuveni 7,9 kilobāzes. Ir identificēti vairāk nekā 100 HPV veidi, no kuriem daži HPV veidi, kas zināmi kā augsta riska HPV (High-Risk HPV, hrHPV), piemēram, HPV 16 un 18, ir saistīti ar gļotādas bojājumu indukciju, kas var progresēt ļaundabīgā audzējā. Dzemes kakla vēzis un tā prekursoru bojājumi (dzemes kakla intraepiteliāla neoplāzija — Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN) ir vislabāk zināmās ilgstošās infekcijas ar augsta riska HPV (1–3) veida komplikācijām.

Vīrusa genomā ir agrīnie (Early, E) un vēlīnie (Late, L) gēni, kas kodē olbaltumvielas, kuras attiecīgi nepieciešamas HPV dzīves cikla agrīnajai un vēlīnajai stadijai. hrHPV tipa E6 un E7 gēnu produktiem ir kancerogēnas īpašības, un tie ir nepieciešami saimniekšūnas ļaundabīgai transformācijai (4). Ļaundabīga progresēšana bieži ir saistīta ar vīrusa integrāciju saimniekšūnas genomā (5). Integrācijas rezultātā tiek pārtraukts vīrusa genoms reģionā, kas var izstiepties no E1 līdz L1 atvērtajam nolasījuma kadram (6). Tas var ietekmēt vīrusa DNS amplifikāciju ar PCR starpniecību šajos reģionos. Tā kā ne tikai iniciācija, bet arī transformētā fenotipa saglabāšana ir atkarīga no nepārtrauktas vīrusa onkoproteīnu ekspresijas (7, 8), vīrusa E6/E7 reģions vienmēr tiek saglabāts integrētajos vīrusu genomos dzemes kakla vēža gadījumā (6). Analīze QIAScreen HPV PCR Test ir vērsta uz iekonservētu reģionu E7 gēnā. Šī analīze ir klīniski apstiprināta saskaņā ar starptautiskajām vadlīnijām par HPV noteikšanas analīzēm un citos pētījumos (9, 10, 14, 15).

Procedūras princips

QIAscreen HPV PCR Test ir multiplekss, uz real-time PCR balstīta analīze, kas vērsta pret 15 (iespējams) hrHPV tipu E7 gēnu, un tajā tiek izmantotas fluorescējošas zondes, lai noteiktu vienu vai vairākus akumulējošus PCR produktus. Katra PCR cikla laikā fluorescējošais signāls palielinās logaritmiskā veidā, līdz ar to veidojas amplifikācijas līkne. Tiklīdz mērķa amplifikācijas līkne pārsniedz tās sliekšni, paraugs tiek uzskatīts par pozitīvu šim mērķim. Multiplekss formāts ļauj vienlaikus noteikt četras dažādas fluorescējošas krāsvielas katrā reakcijā, ja katra fluorescējošā krāsa apzīmē dažādus mērķus. Šie četri dažādie mērķi ir: **1.** HPV 16, **2.** HPV 18, **3.** 13 citi hrHPV tipi kā kopums un **4.** cilvēka β globīna gēns. QIAscreen HPV PCR Test atsevišķi nosaka HPV 16, HPV 18 un 13 citu hrHPV genotipu kopu. Cilvēka β globīna gēns tiek izmantots kā parauga kontrole, kas nosaka gan parauga DNS kvalitāti, gan iespējamo inhibējošo vielu klātbūtni.

Nodrošinātie materiāli

Komplekta saturs

QIAscreen HPV PCR Test Kit		72 reakcijas
Kataloga Nr.		617005
QIAscreen Master Mix (1 stobriņš)	Caurspīdīga krāsa	1080 µl
QIAscreen Positive Control (1 stobriņš)	Caurspīdīga krāsa	100 µl
QIAscreen Negative Control (1 stobriņš)	Caurspīdīga krāsa	100 µl
<i>QIAscreen HPV PCR Test lietošanas instrukcijas (rokasgrāmata)</i>		1

Nepieciešamie materiāli, kas netiek nodrošināti

Strādājot ar ķīmikālijām, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizlietojamus cimdus un aizsargbrilles. Papildinformāciju skatiet attiecīgajās drošības datu lapās (Safety Data Sheet, SDS), kas ir pieejamas pie produkta piegādātāja.

Palīgmateriāli, reaģenti un instrumenti paraugu sagatavošanai

- Hologic PreservCyt[®] Solution (pašsavāktu paraugu uzglabāšanai)
- Standarta DNS ekstrahēšanas komplekti, piemēram, QIAamp[®] DSP virus spin kit (QIAGEN, kat. Nr. 61704) un QIASymphony[®] DSP Virus/Pathogen Midi Kit (QIAGEN, kat. Nr. 937055), un NucleoMag 96 Tissue kit (Macherey-Nagel, kat. Nr. 744300)
- PBS darbam ar dzemdes kakla paraugiem PreservCyt savākšanas vidē
- AL buffer (QIAGEN, kat. Nr. 19075), paredzēts SurePath savākšanas vidē savāktu dzemdes kakla paraugu priekšapstrādei

Palīgmateriāli Rotor-Gene Q MDx instrumentam

- 0,1 ml Strip Tubes and Caps, izmantošanai ar 72-Well Rotor (QIAGEN, kat. Nr. 981103 vai kat. Nr. 981106)

Aprīkojums

- Īpašas pipetes* (regulējamas), kas paredzētas PCR (1–10 µl; 10–100 µl)
- Īpašie ar filtru savienotie sterilie, DNS nesaturoši pipetes uzgaļi
- Vienreizējās lietošanas cimdi
- Galda centrifūga*
- Virpuļmaisītājs*

* Nodrošiniet, ka instrumenti tiek pārbaudīti un kalibrēti saskaņā ar ražotāja ieteikumiem.

Aprīkojums, kas paredzēts ekstrahēšanai un real-time PCR

- QIASymphony SP Module (kat. Nr. 9001297) (neobligātai ekstrahēšanas automatizēšanai)
- Rotor-Gene Q 5plex HRM System (kat. Nr. 9002033) vai Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM instrument (kat. Nr. 9002032) ar Rotor-Gene Q programmatūras versiju 2.3.1 vai jaunāku*
- QIAScreen izpildes veidne, paredzēta Rotor-Gene Q. Veidnes nosaukums ir **“QIAScreen RGQ profile v1.0.ret”**.
- QIAScreen kanālu analīzes veidnes kanāliem zaļš (HPV 16), dzeltens (HPV citi), oranžs (**β** globīna) un sarkans (HPV 18). Matricu faila paplašinājums ir “.qut”.

* Ja attiecināms, Rotor-Gene Q 5plex HRM instruments, kurš izgatavots 2010. gada janvārī vai vēlāk. Izgatavošanas datumu var uzzināt no sērijas numura instrumenta aizmugurē. Sērijas numura formāts ir “mmyynnn” (mmggnnn), kur “mm” skaitliski norāda izgatavošanas mēnesi, “yy” (gg) norāda izgatavošanas gada pēdējos divus ciparus, bet “nnn” (nnn) norāda unikālo iekārtas identifikatoru.

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

Drošības informācija

Strādājot ar ķīmikālijām, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizlietojamus cimdus un aizsargbrilles. Plašāku informāciju skatiet attiecīgajās drošības datu lapas lapās (SDS, Safety Data Sheet). Tās ērtā un kompaktā PDF formātā ir pieejamas vietnē www.qiagen.com/safety, kur var atrast, apskatīt un izdrukāt katra QIAGEN komplekta un tajā ietvertā komponenta drošības datu lapu (SDS).

- QIAscreen HPV PCR Test pozitīvās un negatīvās kontroles satur nātrija azīdu kā konservantu (0,01%). Nātrija azīds var reaģēt ar svina un vara cauruļvadiem, veidojot sprādzienbīstamus metāla azīdus. Izmetot izlietnē, izskalojiet novadcauruli ar lielu daudzumu auksta ūdens, lai novērstu azīda uzkrāšanos.

Vispārējie piesardzības pasākumi

Lai izmantotu PCR testus, ir nepieciešama laba laboratorijas prakse, tostarp tāda aprīkojuma apkope, kas ir paredzēts molekulārajai bioloģijai un atbilst piemērojamajiem noteikumiem un attiecīgajiem standartiem.

Vienmēr pievērsiet uzmanību tālāk norādītajiem nosacījumiem.

- Strādājot ar paraugiem, valkājiet vienreizējās lietošanas cimdus bez pūdera, laboratorijas halātu un acu aizsargus.
- Nepieļaujiet parauga un komplekta mikrobu un nukleāzes (DNāzes) piesārņojumu. DNāze var izraisīt DNS matricas degradāciju.
- Izvairieties no DNS vai PCR produktu pārnese kontaminācijas, kas var izraisīt viltus pozitīvu signālu.
- Vienmēr izmantojiet vienreizējās lietošanas pipetes uzgaļus ar aerosola barjerām, kas nesatur DNāzi.

- QIAscreen HPV PCR Test reaģenti ir optimāli atšķaidīti. Neatšķaidiet reaģentus vairāk, jo tas var izraisīt veikspējas zudumu.
- Visus reaģentus, kas ir piegādāti ar QIAscreen HPV PCR Test, ir paredzēts lietot tikai kopā ar citiem tā paša komplekta reaģentiem. Neaizvietojiet nevienu reaģentu no viena komplekta ar tādu pašu reaģentu no cita QIAscreen HPV PCR Test kit, pat ne no vienas partijas, jo tas var ietekmēt veikspēju.
- Papildu brīdinājumus, piesardzības pasākumus un procedūras skatiet Rotor-Gene Q MDx instrumenta lietotāja rokasgrāmatā.
- Pirms dienas pirmās procedūras veiciet Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM iesildīšanas procedūru 95 °C temperatūrā 10 minūtes.
- Inkubācijas laika un temperatūras maiņa var radīt kļūdainus vai pretrunīgus datus.
- Neizmantojiet komplekta komponentus, kuru derīguma termiņa datums ir pagājis vai kuri ir nepareizi uzglabāti.
- Līdz minimumam samaziniet komponentu pakļaušanu gaismas iedarbībai: šādas pakļaušanas ietekmē var mainīties reakcijas maisījumi.
- Rīkojieties īpaši uzmanīgi, lai novērstu maisījumu piesārņojumu ar sintētiskiem materiāliem, kas ietverti PCR reaģentos.
- Izmetiet paraugus un analīzes atkritumus atbilstoši vietējām drošības procedūrām.

Reaģentu uzglabāšana un lietošana

Transportēšanas apstākļi

Analīze QIAscreen HPV PCR Test tiek piegādāta uz sausā ledus. Ja kāds no QIAscreen HPV PCR Test komponentiem piegādes brīdī nav sasaldēts, ja ārējais iepakojums ir ticis atvērts transportēšanas laikā vai sūtījumā nav ietverta piezīme par iepakojanu, rokasgrāmata vai reaģenti, lūdzu, sazinieties ar QIAGEN tehniskā atbalsta dienestu vai vietējiem izplatītājiem (apmeklējiet vietni www.qiagen.com).

Uzglabāšanas apstākļi

QIAscreen HPV PCR Test uzreiz pēc saņemšanas jāuzglabā no -30 līdz -15 °C temperatūrā saldētavā, kurā tiek uzturēta nemainīga temperatūra, un jāargā no gaismas.

Stabilitāte


Uzglabājot norādītajos uzglabāšanas apstākļos, analīze QIAscreen HPV PCR Test ir stabila līdz derīguma termiņa datumam, kas norādīts uz kastītes etiķetes.

Pēc atvēršanas reaģentus var uzglabāt oriģinālajā iepakojumā no -30 līdz -15 °C temperatūrā. Jāizvairās no atkārtotas atkausēšanas un sasaldēšanas. Nepārsniedziet maksimālo 5 sasaldēšanas-atkausēšanas ciklu daudzumu.

- Viegli samaisiet, 10 reizes apgriežot stobriņu, un centrifugējiet visus stobriņus pirms atvēršanas.
- Katra reaģenta derīguma termiņa datums ir norādīts uz konkrēto komponentu etiķetēm. Ievērojot pareizos uzglabāšanas apstākļus, produkts saglabās savu veikspēju stabilitātes laikā, ja tiks izmantotas vienas un tās pašas komponentu partijas.
- Kvalitātes kontroles procedūrās uzņēmumā QIAGEN katrai komplekta partijai tiek veikta funkcionālā komplekta izlaišanas pārbaude. Nesajauciet reaģentus no dažādiem komplekšiem, pat ne no vienas partijas.

Pievērsiet uzmanību derīguma termiņa datumam un uzglabāšanas nosacījumiem, kas norādīti uz visu komponentu kastītēm un etiķetēm. Neizmantojiet nederīgus vai nepareizi uzglabātus komponentus.

Paraugu glabāšana un lietošana

UZMANĪBU! 	Visi paraugi ir jāuzskata par potenciāli infekcioziem materiāliem.
---	--

Dzemes kakla paraugi

Analīzi QIAscreen HPV PCR Test ir paredzēts lietot ar genoma DNS paraugiem, kas iegūti no dzemes kakla paraugiem (nokasījumiem). Validēti dzemes kakla paraugu (nokasījumu) savākšanas līdzekļi ir PreservCyt, CellSolutions[®], Pathtezt[®] un Surepath[®] savākšanas vides. Klīnisko paraugu optimālā uzglabāšanas temperatūra pēc nogādāšanas laboratorijā ir 2–8 °C. Šādos uzglabāšanas apstākļos paraugi PreservCyt savākšanas vidē ir stabili 3 mēnešus, bet Surepath savākšanas barotnē ir stabili 2 nedēļas pirms DNS ekstrahēšanas.

PreservCyt vidē savāktos dzemes kakla paraugus var glabāt maks. 210 dienas pēc savākšanas 18–25 °C temperatūrā, maks. divus ar pus gadus 2–8 °C temperatūrā un maks. 2 gadus <20 °C temperatūrā. Surepath vidē savāktos dzemes kakla paraugus var glabāt maks. 10 nedēļas pēc savākšanas 2–30 °C temperatūrā, maks. divus ar pus gadus 2–8 °C temperatūrā un maks. 210 dienas <20 °C temperatūrā.

Pašsavākti ar sukas tipa ierīci iegūti maksts paraugi

Analīzi QIAscreen HPV PCR Test ir paredzēts lietot ar genoma DNS paraugiem, kas iegūti no pašsavāktiem ar sukas tipa ierīci iegūtiem maksts paraugiem un no pašsavāktiem ar skalošanas ierīci iegūtiem dzemes kakla un maksts paraugiem. Pašsavāktos ar sukas tipa ierīci iegūtos maksts paraugus var savākt un nosūtīt sausus vai fizioloģiskajā šķīdumā (0,9%

masas daļas NaCl) un pēc saņemšanas laboratorijā uzglabāt PreservCyt vidē. Pašsavāktos ar skalošanas ierīci iegūtos dzemdes kakla un maksts paraugus savāc un nosūta fizioloģiskajā šķīdumā (0,9% masas daļas NaCl) un pēc saņemšanas laboratorijā uzglabā PreservCyt vidē. PreservCyt vidē pašsavāktos paraugus var glabāt maks. 210 dienas pēc savākšanas 18–25 °C temperatūrā, maks. divus ar pus gadus 2–8 °C temperatūrā un maks. 2 gadus <20 °C temperatūrā.

Genomiskās DNS paraugi

Kad genomiskā DNS ir ekstrahēta, to var glabāt 2–8 °C temperatūrā īslaicīgai uzglabāšanai (\leq 2 dienas) vai no –30 līdz –15 °C temperatūrā maks. 12 mēnešus.

Paraugu sagatavošana

DNS ekstrahēšana

Standarta DNS ekstrahēšanas komplekti (piem., komplekti ar stobriņiem un magnētiskajām lodītēm, tādi kā QIAamp® DSP Virus Spin Kit, QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit un NucleoMag 96 Tissue kit, (Macherey-Nagel)) ir saderīgi ar šo analīzi. Tālāk ir norādīta lietošanas informācija par QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi.

Klīniskie paraugi PreservCyt vai PathTezt savākšanas vidē

Dzemes kakla paraugiem (nokasījumiem), kas suspendēti PreservCyt vai PathTezt savākšanas vidē, DNS daļa, kas jāizmanto kā ievade PCR, ir 0,125% no 20 ml PreservCyt vai PathTezt dzemes kakla nokasījuma parauga. Tas atbilst 25 µl oriģinālo paraugu tipu. Tā kā PCR ievadei var izmantot tikai 5 µl ekstrahētās DNS, DNS ekstrahēšanas procedūras ir jāveic tā, lai 5 µl DNS ekstrakta atbilstu 25 µl dzemes kakla parauga (nokasījuma) materiālam, lai nodrošinātu, ka PCR veikšanā tiek izmantota pareizā dzemes kakla parauga frakcija. Līdzīgi jāapstrādā līdzvērtīga barotne ar (piemēram, Surepath) vai bez (piemēram, PreservCyt) formaldehīda.

Svarīgi! PreservCyt vide var traucēt DNS ekstrahēšanas procesam. To var atrisināt divos dažādos veidos.

1. PreservCyt parauga alikvotu atšķaidīt vienādā tilpumā PBS vai līzes buferšķīduma no DNS ekstrahēšanas komplekta un samaisīt, pirms tiek uzsākta DNS ekstrahēšana. Kopējam parauga tilpumam noteikti ir jābūt saderīgam ar DNS ekstrahēšanas komplektu. Ja kopējais tilpums kļūst pārāk liels lietošanai ar ekstrahēšanas komplektu, ieteicams izmantot tālāk aprakstīto metodi Nr. 2.
2. Centrifugējiet PreservCyt paraugu ($\geq 3400 \times g$ uz 10 min) un noņemiet supernatantu. Granula tiek resuspendēta piemērotā PBS vai līzes buferšķīduma tilpumā, kas ir saderīgs ar DNS ekstrahēšanas komplektu (vai darbam ar QIAamp DSP Virus Spin Kit:

resuspendējiet 200 µl PBS un izpildiet ražotāja instrukcijas par DNS ekstrahēšanu, eluējiet 100 µl tilpumā; darbam ar Margery Nagel Nucleomag96 Tissue Kit: resuspendējiet attiecīgā komplekta 100 µl buferšķīduma T1 un izpildiet ražotāja instrukcijas, eluējiet 100 µl tilpumā)

Līdzvērtīga vide ir jāapstrādā līdzīgi.

Lietošanas informācija par QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit

QSDSP protokols: 500 µl dzemdes kakla parauga PreservCyt vidē ir jāsamaisa ar 500 µl PBS. QIASymphony instrumentā ir jāstartē integrētā izpilde, veicot Complex800_V6_DSP protokolu, ievērojot soļus, kas aprakstīti šeit: “QIASymphony® SP/AS vispārējā lietošanas instrukcija – 12.3. Integrētā izpilde”. DNS tiek eluēta 60 µl tilpumā, un 5 µl tilpums tiek izmantots QIAScreen HPV PCR Test veikšanai. Ja izmantojat tikai QIASymphony SP moduli, paraugu sagatavošanas procedūra, veicot Complex800_V6_DSP protokolu, tiek izpildīta QIASymphony SP instrumentā. Ievērojiet soļus, kas aprakstīti šeit: “QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit komplekta lietošanas instrukcijas (rokasgrāmata) – Vispārīgs izdalīšanas protokols”.

Dzemdes kakla paraugiem (nokasījumiem), kas suspendēti SurePath vai CellSolutions savākšanas vidē, DNS frakcija, kas jāizmanto kā ievade PCR veikšanā, veido 0,25% no 10 ml SurePath vai CellSolutions dzemdes kakla nokasījuma parauga. Tas atbilst 25 µl oriģinālā parauga. Tā kā PCR ievadei var izmantot tikai 5 µl ekstrahētās DNS, parauga tilpums un DNS eluēšanas tilpums ir jāizvēlas tāds, lai 5 µl DNS ekstrakta atbilstu 25 µl dzemdes kakla parauga (nokasījuma) materiālam, lai nodrošinātu, ka PCR veikšanā tiek izmantota pareizā dzemdes kakla parauga frakcija.

SVARĪGI! SurePath un CellSolutions vidē savāktajiem klīniskajiem paraugiem pirms to lietošanas ir jāveic priekšapstrāde, lai likvidētu formaldehīda inducēto krustenisko saistīšanos, izmantojot tālāk aprakstīto protokolu.

SurePath un CellSolutions vidē savākto klīnisko paraugu priekšapstrāde:

3. SurePath vai CellSolutions paraugu samaisiet ar 1:1 tilpumu AL buferšķīduma (QIAGEN) un kārtīgi samaisiet.
4. Inkubējiet 90 °C temperatūrā 20 minūtes un pēc tam nostādiniet istabas temperatūrā, pirms pārejat pie DNS ekstrahēšanas.

Līdzvērtīga formaldehīdu saturoša vide ir satur jāapstrādā līdzīgi.

Pašsavāktiem ar sukas tipa ierīci iegūtiem maksts paraugiem, kas suspendēti Hologic PreservCyt Solution, DNS ekstrahēšanas procedūras ir jāveic tā, lai 5 µl DNS ekstrakta, ko izmanto kā ievadi PCR veikšanā, atbilstu 0,5% maksts parauga. Piemēram, maksts pašparaugs ir jāsuspendē 2 ml PreservCyt Solution, pēc tam 5 µl ievades DNS atbilst 10 µl pašparauga suspensijas.

Pašsavāktajiem ar skalošanas ierīci iegūtajiem dzemdes kakla un maksts paraugiem DNS frakcija, kas jāizmanto kā ievade PCR veikšanā, ir 0,5% skalošanas pašparauga. Tādējādi, ja kopējais skalošanas tilpums ir 3 ml, DNS ekstrahēšanas procedūras ir jāveic tā, lai 5 µl ievades DNS atbilstu 15 µl sākotnējā skalošanas pašparauga.

Protokols: QIAscreen HPV PCR Test Rotor-Gene Q MDx instrumentā

Svarīga informācija pirms darba sākšanas

Pirms sākat protokola izpildi, rūpīgi iepazīstieties ar Rotor-Gene Q MDx instrumentu. Skatiet instrumenta lietotāja rokasgrāmatu.

Pirms dienas pirmās procedūras veiciet Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM iesildīšanas procedūru 95 °C temperatūrā 10 minūtes.

Testa veikšanai ir nepieciešama Rotor-Gene Q sērijas programmatūras veidne. Pārliecinieties, vai tiek izmantota matrica QIAscreen RGQ profīle v1.0.ret.

Lai analizētu testu katram no četriem noteikšanas kanāliem, ir nepieciešama Rotor-Gene Q sērijas programmatūras veidne. Pārliecinieties, vai katram kanālam tiek izmantota pareizā veidne, kā norādīts tālāk:

- “QIAscreen RGQ Green Channel analysis template.qut” ir jāizmanto, lai analizētu signālus kanālā Green (HPV 16).
- “QIAscreen RGQ Orange Channel analysis template.qut” ir jāizmanto, lai analizētu signālus kanālā Orange (β globīns).
- “QIAscreen RGQ Yellow Channel analysis template.qut” ir jāizmanto, lai analizētu signālus kanālā Yellow (HPV citi).
- “QIAscreen RGQ Red Channel analysis template.qut” ir jāizmanto, lai analizētu signālus kanālā Red (HPV 18).

Paraugu apstrādāšana Rotor-Gene Q MDx instrumentos ar 72 stobriņu rotoru

Tajā pašā eksperimentā var testēt līdz 70 genoma DNS paraugiem, turklāt arī pozitīvo un negatīvo kontroli. Shēmā 1. tabulā ir sniegts slodzes bloka vai rotora iestatīšanas piemērs eksperimentam ar QIAscreen HPV PCR Test. Cipari norāda pozīcijas ielādes blokā un rotora beigu pozīciju.

1. tabula. Plates un rotora iestatīšana eksperimentam ar QIAscreen HPV PCR Test veic Rotor-Gene Q MDX instrumentā

Virkne	Stobriņa pozīcija	Parauga nosaukums	Virkne	Stobriņa pozīcija	Parauga nosaukums	Virkne	Stobriņa pozīcija	Parauga nosaukums
1	1	Pozitīva kontrole	7	25	23. paraugs	13	49	47. paraugs
	2	Negatīva kontrole		26	24. paraugs		50	48. paraugs
	3	1. paraugs		27	25. paraugs		51	49. paraugs
	4	2. paraugs		28	26. paraugs		52	50. paraugs
2	5	3. paraugs	8	29	27. paraugs	14	53	51. paraugs
	6	4. paraugs		30	28. paraugs		54	52. paraugs
	7	5. paraugs		31	29. paraugs		55	53. paraugs
	8	6. paraugs		32	30. paraugs		56	54. paraugs
3	9	7. paraugs	9	33	31. paraugs	15	57	55. paraugs
	10	8. paraugs		34	32. paraugs		58	56. paraugs
	11	9. paraugs		35	33. paraugs		59	57. paraugs
	12	10. paraugs		36	34. paraugs		60	58. paraugs
4	13	11. paraugs	10	37	35. paraugs	16	61	59. paraugs
	14	12. paraugs		38	36. paraugs		62	60. paraugs
	15	13. paraugs		39	37. paraugs		63	61. paraugs
	16	14. paraugs		40	38. paraugs		64	62. paraugs
5	17	15. paraugs	11	41	39. paraugs	17	65	63. paraugs
	18	16. paraugs		42	40. paraugs		66	64. paraugs
	19	17. paraugs		43	41. paraugs		67	65. paraugs
	20	18. paraugs		44	42. paraugs		68	66. paraugs
6	21	19. paraugs	12	45	43. paraugs	19	69	67. paraugs
	22	20. paraugs		46	44. paraugs		70	68. paraugs
	23	21. paraugs		47	45. paraugs		71	69. paraugs
	24	22. paraugs		48	46. paraugs		72	70. paraugs

Piezīme. Aizpildiet visas neizmantojās pozīcijas ar tukšiem stobriņiem.

PCR veikšana Rotor-Gene Q MDx instrumentos ar 72 stobriņu rotoru

1. Iestatiet QIAscreen HPV PCR Test.

Piezīme. Lai samazinātu PCR reakcijas piesārņojuma risku, ir ļoti ieteicams izmantot PCR skapi ar UV starojuma iespēju.

Svarīgi! QIAscreen Master Mix izdalīšana jāveic vietā, kas ir nošķirta no vietas, kurā tiek veikta DNS ekstrahēšana.

1a. Pirms lietošanas notīriet stenda laukumu, pipetes un stobriņu statīvu ar DNS noārdošu šķīdumu, lai novērstu matricu vai nukleāzes piesārņojumu.

Piezīme. Nomainiet uzgaļus starp katru stobriņu, lai izvairītos no nespecifiska matricas vai reakcijas maisījuma piesārņojuma, kas var izraisīt kļūdaini pozitīvus rezultātus.

1b. Viegli samaisiet, apvēršot stobriņus 10 reizes, un īslaicīgi centrifugējiet pirms lietošanas, lai savāktu šķīdumu stobriņa apakšā.

1c. Stobriņu virkņu atbilstošajos stobriņos dozējiet 15 µl QIAscreen Master Mix maisījuma (maksimums 72 stobriņi uz Rotor-Gene Q MDx izpildi). Reakcijas iestatīšanu var veikt istabas temperatūrā.

1d. Atkal ievietojiet QIAscreen Master Mix saldētavā, lai izvairītos no materiāla noārdīšanās. Transportējiet stobriņus uz atsevišķu zonu, lai pagatavotu QIAscreen Positive Control un DNS paraugu.

1e. Stobriņa 2. pozīcijā pievienojiet 5 µl negatīvās kontroles, samaisiet, pipetējot uz augšu un uz leju vai uzsitot pa stobriņu, un aizveriet stobriņu, tam uzspiežot vāciņu.

1f. Stobriņa 1. pozīcijai pievienojiet 5 µl QIAscreen Positive Control, samaisiet, pipetējot uz augšu un uz leju vai uzsitot pa stobriņu, un aizveriet stobriņu.

Piezīme. Nomainiet uzgaļus starp katru stobriņu, lai izvairītos no nespecifiska matricas vai reakcijas maisījuma piesārņojuma, kas var izraisīt kļūdaini pozitīvus rezultātus.

- 1g. Atbilstošajiem stobriņiem, kuros ir QIAscreen Master Mix, pievienojiet 5 µl DNS parauga, samaisiet, pipetējiet uz augšu un uz leju vai uzsitot pa stobriņiem, un aizveriet stobriņus, stobriņiem uzspiežot vāciņus.
- 1h. Kad ir uzpildīti 4 stobriņi, aizveriet stobriņus.
Piezīme. PCR stobriņus var uzglabāt 30 minūtes starp paraugu iepilināšanu PCR stobriņus un eksperimenta sākšanu iekārtā 2–8 °C temperatūrā tumsā.
2. Sagatavojiet Rotor-Gene Q MDx un sāciet eksperimentu, kā norādīts tālāk.
- Svarīgi!** Pirms dienas pirmās procedūras veiciet Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM iesildīšanas procedūru 95 °C temperatūrā 10 minūtes.
- 2a. Novietojiet 72-Well Rotor uz Rotor Holder.
- 2b. Piepildiet rotoru ar virknes stobriņiem atbilstoši piešķirtajām pozīcijām, sākot ar 1. pozīciju, kā parādīts 1. tabulā, ar tukšiem aizvākotiem virknes stobriņiem ievietotiem visās neizmantotajās pozīcijās.
Piezīme. Pirmajam stobriņam noteikti ir jābūt ievietotam 1. pozīcijā un virknes stobriņiem ir jāatrodas pareizajā orientācijā un pozīcijās, kā parādīts 1. tabulā.
- 2c. Piestipriniet slēdzējgredzenu.
- 2d. Piekraujiet Rotor-Gene Q MDx instrumentu ar rotoru un slēdzējgredzenu un aizveriet instrumenta vāku.
- 2e. Pārejiet uz logu **New Run** (Jauna izpilde) un noklikšķiniet uz **Open a template in another folder...** (Atvērt veidni citā mapē...).
- 2f. Atlasiet QIAscreen izpildes matricu ar nosaukumu **QIAscreen RGQ profile v1.0.ret**.
- 2g. Atlasiet rotora veidu: **72-well rotor** (72 kanālu rotors) un **Locking ring attached** (Slēdzējgredzens ir piestiprināts) un noklikšķiniet uz **Next** (Tālāk).
- 2h. Pie operatora ievadiet iniciāļus un noklikšķiniet uz **Next** (Tālāk).
- 2i. Nākamajā logā noklikšķiniet uz **Next** (Tālāk).
- 2j. Noklikšķiniet uz **Start run** (Sākt izpildi).
Lai ievadītu paraugu nosaukumus, noklikšķiniet uz **Edit samples** (Rediģēt paraugus) (to var izdarīt arī pēc izpildes pabeigšanas).

2. tabula. Mērķa un kanāla iestatījumi*

Mērķis	Noteikšanas kanāls
β globīns	Orange
HPV 16	Green
HPV 18	Red
HPV citi*	Yellow

* HPV citi ietver 13 HPV tipu kopumu, kas nav 16/18 HPV.

3. Analizējiet datus.

- 3a. Izvēlieties analīzei izmantojamos stobriņus.
 - 3b. Pārejiet uz logu **Analysis tool** (Analīzes rīks), atlasiet **Cycling A. Green** un noklikšķiniet uz **Show** (Rādīt). Sadaļā **Imported Settings** (Importētie iestatījumi) noklikšķiniet uz **Import** (Importēt) (loga apakšējā labajā stūrī) un atlasiet failu **QIAScreen RGQ Green Channel analysis template.qut**. Atlasiet **Cycling A. Green** un noklikšķiniet uz **Hide** (Slēpt).
 - 3c. Atlasiet **Cycling A. Orange** un noklikšķiniet uz **Show** (Rādīt). Sadaļā **Imported Settings** (Importētie iestatījumi) noklikšķiniet uz **Import** (Importēt) un atlasiet failu **QIAScreen RGQ Orange Channel analysis template.qut**. Atlasiet **Cycling A. Orange** un noklikšķiniet uz **Hide** (Slēpt).
 - 3d. Atlasiet **Cycling A. Red** un noklikšķiniet uz **Show** (Rādīt). Sadaļā **Imported Settings** (Importētie iestatījumi) noklikšķiniet uz **Import** (Importēt) un atlasiet failu **QIAScreen RGQ Red Channel analysis template.qut**. Atlasiet **Cycling A. Red** un noklikšķiniet uz **Hide** (Slēpt).
 - 3e. Atlasiet **Cycling A. Yellow** un noklikšķiniet uz **Show** (Rādīt). Sadaļā **Imported Settings** (Importētie iestatījumi) noklikšķiniet uz **Import** (Importēt) un atlasiet failu **QIAScreen RGQ Yellow Channel analysis template.qut**.
 - 3f. Noklikšķiniet uz **Save** (Saglabāt).
 - 3g. PĒC IZVĒLES: rezultātu interpretācijai datus var eksportēt kā .csv failu. Dodieties uz **File** (Fails) > **Save as** (Saglabāt kā) > **Excel Analysis Sheet** (Excel analīzes lapa) un saglabājiet eksporta failu.
4. Iztukšojiet Rotor-Gene Q MDx instrumentu un utilizējiet virknes stobriņus saskaņā ar vietējiem drošības noteikumiem.

Rezultātu interpretācija

Testa un parauga validācijas kritēriji ir norādīti tālāk, attiecīgi sadaļā A un B. Ja nav izpildīts viens (vai vairāki) kritēriji, tiek norādīti atbilstoši pasākumi.

A. QIAscreen HPV PCR Test kontroles kritēriji

QIAscreen Positive Control mērķiem ir jāsniedz C_T vērtības, kas ir zemākas par 29 attiecībā uz β globīnu, zemākas par 30 attiecībā uz HPV 16 un HPV 18 un zemākas par 32 attiecībā uz HPV citi. Ja tas tā nav un analīzes iestatījumi ir pareizi, eksperiments ir jāatkārto.

Nevienam no QIAscreen Negative Control mērķiem nevajadzētu uzrādīt signālu virs sliekšņa līdz PCR darbības beigām (t.i., 40. cikls vai nav definēts). Ja signāls ir redzams pirms 40. cikla un analīzes iestatījumi ir pareizi, eksperiments ir jāatkārto.

Piezīme. Ja kontroles neatbilst noteiktajiem ierobežojumiem un atkārtošana izslēdz tehnikas kļūdas, pārbaudiet šādus elementus:

- Derīguma termiņa datums uz reaģenta iepakojuma
- Reaģentu temperatūra
- PCR sistēmas un programmatūras iestatījumi
- Piesārņojums

Ja kontroles joprojām ir nederīgas, sazinieties ar ražotāja klientu apkalpošanas dienestu vai vietējo izplatītāju.

B. Paraugu rezultātu interpretācija

Rezultāts paraugam tiek noteikts tālāk norādītajā veidā (3. tabula).

3. tabula. Rezultātu interpretācija

	C_T vērtība HPV mērķis(-i)	C_T vērtība β globīns	Interpretācija
1	HPV 16 un/vai HPV 18 <36 un/vai HPV citi <33,5	Jebkāds	HPV pozitīvs
2	HPV 16 un HPV 18 ≥36 vai nav definēts un HPV citi ≥33,5 vai nav definēts	≤30	HPV negatīvs
3	HPV 16 un HPV 18 ≥36 vai nav definēts un HPV citi ≥33,5 vai nav definēts	>30	Nederīgs

1. HPV pozitīvs. Ja HPV 16 un/vai HPV 18 C_T vērtība(-as) ir <36 un/vai HPV citi ir <33,5 (neatkarīgi no β globīna C_T vērtības). Kanāls norāda esošo(-s) veidu(-s). **2. HPV negatīvs.** Ja C_T vērtība β globīnam ir ≤30 un C_T vērtības elementiem HPV 16 un HPV 18 ir ≥36 vai signālu neuzrāda, un vērtība HPV Other ir ≥33,5 vai signālu neuzrāda.

3. Nederīgs. Ja β globīna C_T vērtība ir >30 un C_T vērtības elementiem HPV 16 un HPV 18 ir ≥36 vai signālu neuzrāda, un vērtība Other HPV ir ≥33,5 vai signālu neuzrāda.

Ierobežojumi

- Norādītajam paredzētajam lietojumam ir jāveic dzemdes kakla nokasījumu paraugu vai pašsavākto (dzemdes kakla) maksts paraugu tests. Tomēr analīze QIAScreen HPV PCR Test ir novērtēta arī lietošanai ar DNS, kas ekstrahēta no formalinā fiksētiem parafinā iestrādātiem (Formalin-Fixed Paraffin-Embedded, FFPE) biopsijas paraugiem.
- Paraugu ņemšana, transportēšana un uzglabāšana var ietekmēt mērķa kopiju skaitu paraugā, izraisot iespējamu viltus pozitīvu vai viltus negatīvu rezultātu.
- Šīs instrukcijas attiecas tikai uz Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM instrumentu.
- Slikta DNS ekstrahēšanas kvalitāte var izraisīt nederīgus testa rezultātus. Konsultējieties ar vietējo izplatītāju vai ražotāja klientu apkalpošanas dienestu, lai saņemtu tehniskus padomus par DNS ekstrahēšanas protokolu, ja tas turpinās.
- Paraugus ar neskaidriem rezultātiem mērķa mazā kopiju skaita dēļ var apstiprināt ar atkārtotu analīzi.
- Retos gadījumos dzemdes kakla bojājumus var izraisīt dabiski HPV varianti vai HPV tipi, uz kuriem QIAScreen HPV PCR Test neattiecas.
- QIAScreen HPV PCR Test reaģenti jāizmanto tikai *in vitro* diagnostikā.
- Lai izmantotu PCR testus, ir nepieciešama laba laboratorijas prakse, tostarp tāda aprīkojuma apkope, kas ir paredzēts molekulārajai bioloģijai un atbilst piemērojamajiem noteikumiem un attiecīgajiem standartiem.
- Reaģenti un instrukcijas, kas piegādāti analīzei QIAScreen HPV PCR Test, ir apstiprināti optimālai darbībai.
- Analīzi QIAScreen HPV PCR Test ir paredzēts izmantot laboratorijas speciālistiem, kuri ir apmācīti Rotor-Gene Q MDx instrumentu lietošanā.
- Produkts ir paredzēts tikai personālam, kas ir īpaši apmācīts real-time PCR un *in vitro* diagnostikas procedūru veikšanā. Visi iegūtie diagnostikas rezultāti jāinterpretē kopā ar citiem klīniskām vai laboratoriskām atradnēm.
- Lai nodrošinātu optimālus QIAScreen HPV PCR Test rezultātus, ir stingri jāievēro lietošanas instrukcijas (rokasgrāmata).

- Pievērsiet uzmanību derīguma termiņa datumiem, kas norādīti uz kastītes un visu komponentu etiķetēm. Nedrīkst izmantot komponentus, kam beidzies derīguma termiņš.
- Visus reaģentus, kas ir piegādāti ar QIAscreen HPV PCR Test, ir paredzēts lietot tikai kopā ar citiem tā paša komplekta reaģentiem. Pretējā gadījumā tas var ietekmēt kvalitāti.
- Jebkāda šī produkta izmantošana veidā, kas neatbilst etiķetē sniegtajiem norādījumiem, un/vai komponentu modifikācija anulēs Self-screen B.V. atbildību.
- Lietotāja pienākums ir pārbaudīt sistēmas kvalitāti attiecībā uz visām konkrētajā laboratorijā izmantotajām procedūrām, kas nav ietvertas kvalitātes pētījumos.

Veiktspējas raksturojums

Noteikšanas robeža (Limit of Detection, LoD)

Noteikšanas robeža (Limit of Detection, LoD) tika noteikta, izmantojot gBlocks (t.i., divpavedienu genoma DNS blokus), kas satur daļu no HPV genotipa E7 gēna. 15 mērķa HPV tipiem (t.i., 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 un 68) tika sagatavotas trīskārtīgu gBlock atšķaidījumu sērijas uz 50 ng cilvēka DNS fona, un testēšana tika veikta 8 reizes. LoD β globīnam tika novērtēta ar trīskārtīgu sērijveida atšķaidīšanu gBlock ūdenī, kurš satur daļu β globīna gēna, kas tika testēts 8 reizes.

4. tabula. Analīzes QIAscreen HPV PCR Test noteikšanas robeža (Limit of Detection, LoD) 15 HPV tipiem un β globīna gēnam

Mērķis	LoD (kopijas vienā 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 globīns	617

Analītiskais specifiskums*

Analītiskais specifiskums tika noteikts pret nemērķētu HPV genomu (t.i., HPV 6, 11, 26, 40, 42, 43, 53, 61 un 70) plazmīdu DNS koncentrācijā vismaz 46 000 kopiju/testā un pret 3 potenciāli patogēnākajiem maksts mikroorganismiem *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* un *Candida albicans* koncentrācijā vismaz 10 000 kopiju/testā. Tests neuzrādīja nekādu krustenisku reaktivitāti ar nemērķētiem HPV 6., 11., 26., 40., 42., 43., 53. un 61. tipiem vai mikroorganismiem. Tikai HPV 70 pozitīvs signāls tika novērots kanālā "HPV citi" (t.i., kanālā, kas nosaka 13 HPV tipu kopumu, kas nav 16/18), ko pēc turpmākas atšķaidīšanas varēja noteikt >17 000 kopijām/testā. Pamatojoties uz epidemioloģiskiem, filoģenētiskiem un funkcionāliem pētījumiem, HPV 70 tiek uzskatīts par kancerogēnu (11-13).

Dzemes kakla paraugu klīniskā veiktspēja (nokasījumi)

Testa klīniskā jutība un specifiskums dzemes kakla intraepitēlija neoplāzijas 2. pakāpei vai augstākai (CIN 2+) dzemes kakla paraugos (nokasījumos), kas glabāti PreservCyt vidē, tika apstiprināti divos dažādos pētījumos ar ne-zemākas pakāpes analīzi attiecībā uz augsta riska HPV GP5+/6+ PCR(10) vai Hybrid Capture 2 (14), ievērojot starptautiskās vadlīnijas HPV testa prasībām dzemes kakla vēža skrīningam (9). Klīniskā jutība attiecībā uz CIN 2+ bija 96,8% (61/63) un 92,9% (91/98), un klīniskais specifiskums attiecībā uz CIN 2+ attiecīgi bija 95,1% (783/823) un 94,2% (933/990). Klīniskā jutība un specifiskums nebija zemāki par atsaucēs analīzēm GP5+/6+ PCR (10) vai Hybrid Capture 2 (14), kas liecina par ļoti labu klīnisko veiktspēju. Sievietēm ar ASC-US vai LSIL klīniskās jutības un specifiskuma vērtības attiecībā uz CIN2+ attiecīgi bija 97,4% (37/38; 95% CI 83,5–99,6) un 59,8% (52/87; 95% CI: 49,2–69,5).(14)

* Veiktspējas raksturojums ir norādīts testa versijai ABI7500. Līdzvērtīguma analīze parādīja līdzīgu veiktspēju un apstiprinājumu analīzei QIAscreen HPV PCR Test lietošanai ar Rotor-Gene QMDx 5plex HRM.

Atkārtojamība*

Testa atkārtojamība laboratorijā un sakritība laboratorijā tika apstiprināta saskaņā ar starptautiskajām vadlīnijām par HPV testa prasībām dzemdes kakla vēža skrīningam (9). Atkārtojamība laboratorijā attiecībā uz dzemdes kakla paraugiem (nokasījumiem) laika gaitā bija 99,5% (544/547) ar kapa vērtību 0,99, un sakritība laboratorijā bija 99,2% (527/531) ar kapa vērtību 0,98, kas liecina par ļoti labu sakritību (10).

Pašsavākto (dzemdes kakla) maksts paraugu veikspēja*

Pašsavākto (dzemdes kakla) maksts paraugu testu veikšana ir apstiprināta divām dažādām paraugu ņemšanas metodēm: 1) pašsavākti ar skalošanas ierīci iegūti paraugi, kā arī 2) pašsavākti ar sukas tipa ierīci iegūti paraugi. Pašsavāktajiem ar skalošanas ierīci iegūtajiem paraugiem sakritība ar atsauces analīzi GP5+/6+ PCR bija 96,7% (59/61) ar CIN 2+ jutību 91,4% (21/23) (10). Pašsavāktajiem ar sukas tipa ierīci iegūtajiem paraugiem sakritība ar GP5+/6+ PCR bija 92,9% (104/112) ar CIN 2+ jutību 93,9% (31/34) (10).

Interferējošas vielas*

EDTA (0,5 M), HCl (1 N), silīcija dioksīda lodīšu (1 µl), asiņu (1 µl), urīnvielas (40 g/100 ml) un līzes buferšķīduma pēdas kavēja testa veikspēju. ETOH 96% (1 µl) un DMSO 4% (v/v) neietekmēja testa veikspēju. Inhibīciju uzrauga parauga kontrole (piemēram, β globīna mērķis).

* Veiktspējas raksturojums ir norādīts testa versijai ABI7500. Līdzvērtīguma analīze parādīja līdzīgu veikspēju un apstiprinājumu analīzei QIAscreen HPV PCR Test lietošanai ar Rotor-Gene QMDx 5plex HRM.

Atsauces

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

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

Problēmu novēršanas ceļvedis

Šis problēmu novēršanas ceļvedis var noderēt iespējamo problēmu risināšanā. Plašāku informāciju skatiet arī lapā "Biežāk uzdotie jautājumi" (FAQ, Frequently Asked Questions), kas pieejama mūsu tehniskā atbalsta centra vietnē: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. QIAGEN tehniskā atbalsta dienesta zinātnieki vienmēr labprāt atbildēs uz jūsu jautājumiem gan par informāciju un/vai protokoliem šajā rokasgrāmatā, gan arī par paraugu un analīzes metodēm (kontaktinformāciju skatiet vietnē www.qiagen.com).

Komentāri un ieteikumi

Paraugš ir novērtēts kā nederīgs: β globīna amplifikācija ir pārāk zema vai tās nav

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Pipetēšanas kļūda vai izlaisti reaģenti. Skatiet sadaļu "PCR veikšana Rotor-Gene Q MDx instrumentos ar 72 stobriņu rotoru" 20. lpp. | Pārbaudiet pipetēšanas shēmu un reakcijas iestatījumu. Atkārtojiet paraugu. |
| b) | Pārbaudiet DNS eluātu | Atkārtojiet DNS ekstrahēšanu. |

Pozitīvā kontrole ir novērtēta kā nederīga: vienam vai vairākiem mērķiem amplifikācija ir pārāk zema vai tās nav

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Pipetēšanas kļūda vai izlaisti reaģenti. Skatiet sadaļu "PCR veikšana Rotor-Gene Q MDx instrumentos ar 72 stobriņu rotoru" 20. lpp. | Pārbaudiet pipetēšanas shēmu un reakcijas iestatījumu. Atkārtojiet paraugu. |
| b) | Daļēja degradācija | Uzglabājiet komplekta saturu no -15 līdz -30 °C temperatūrā. Izvairieties no atkārtotas sasaldēšanas un atkausēšanas ne vairāk kā piecus ciklus. |
| c) | PCR reaģenti ir daļēji noārdījušies | Uzglabājiet komplekta saturu no -15 līdz -30 °C temperatūrā un sargājiet reakcijas maisījumus no gaismas. Nesasaldējiet un neatkausējiet atkārtoti. |
| d) | Virknes stobriņa invertēšana | Pārbaudiet pipetēšanas shēmu un reakcijas iestatījumu. |
| e) | Derīguma termiņa datums | Pārbaudiet izlietotā komplekta derīguma termiņa datumu. |
| f) | Laika aizkave starp paraugu pipetēšanu un izpildes sākumu | PCR maisījumus var uzglabāt 30 minūtes starp paraugu pipetēšanu PCR un darba sākšanu iekārtā $2-8$ °C temperatūrā tumsā. |

Komentāri un ieteikumi

Bez matricas kontrole (No Template Control, NTC) nav derīga

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Pipetēšanas kļūda vai izlaisti reaģenti. Skatiet sadaļu "PCR veikšana Rotor-Gene Q MDx instrumentos ar 72 stobriņu rotoru" 20. lpp. | Pārbaudiet pipetēšanas shēmu un reakcijas iestatījumu. Atkārtojiet paraugu. |
|----|---|---|














Paraugā nav signālu, vai tie ir zemi, bet kontroles izpilde ir normāla

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Inhibējoša iedarbība | Vienmēr pārbaudiet, vai DNS ekstrahēšanas laikā nav palikuši buferi.
Atkārtojiet DNS ekstrahēšanu. |
| b) | Pipetēšanas kļūda. Skatiet sadaļu "PCR veikšana Rotor-Gene Q MDx instrumentos ar 72 stobriņu rotoru" 20. lpp. | Pārbaudiet pipetēšanas shēmu un reakcijas iestatījumu. Vēlreiz izpildiet PCR. |

Ja problēma joprojām pastāv, sazinieties ar QIAGEN tehniskā atbalsta dienestu.

Simboli

Uz iepakojuma un marķējuma var būt tālāk norādītie simboli.

Simbols	Simbola definīcija
	Izlietot līdz
	<i>In vitro</i> diagnostikas medicīniskā ierīce
	CE-IVD marķējuma simbols
	Kataloga numurs
	Partijas numurs
	Materiāla numurs
	Komponenti
	Satur
	Numurs
	R attiecas uz lietošanas instrukciju (rokasgrāmatas) versiju, n norāda versijas numuru
	Globālais tirdzniecības identifikācijas numurs
	Temperatūras ierobežojums
	Ražotājs

Simbols

Simbola definīcija



Sargāt no saules gaismas



Skatīt lietošanas instrukcijas



Uzmanību!

Kontaktinformācija

Lai saņemtu tehnisko palīdzību un papildu informāciju, lūdzu, apmeklējiet mūsu tehniskā atbalsta centra vietni www.qiagen.com/Support, zvaniet pa tālruni 00800-22-44-6000 vai sazinieties ar kādu no QIAGEN tehnisko pakalpojumu dienesta nodaļām vai vietējiem izplatītājiem (skatiet aizmugurējo vāku vai apmeklējiet vietni www.qiagen.com).

Informācija par pasūtīšanu

Produkts	Saturs	Kat. Nr.
QIAscreen HPV PCR Test	72 reakcijām, ietver: galveno maisījumu, pozitīvo kontroli, negatīvo kontroli, lietošanas instrukcijas	617005
QIAasymphony SP	QIAasymphony parauga sagatav. modulis (neobligāts ekstrahēšanai)	9001297
Rotor-Gene Q MDx		
Rotor-Gene Q MDx HRM System	Real-time PCR amplifikators un augstas izšķirtspējas kušanas analizators ar 5 kanāliem (zaļš, dzeltens, oranžs, sarkans, sārts) un HRM kanālu, klēpjdators, programmatūra, piederumi: ietver 1 gada garantiju daļām un darbam, instalāciju un apmācību	9002035
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Real-time PCR amplifikators un augstas izšķirtspējas kušanas analizators ar 5 kanāliem (zaļš, dzeltens, oranžs, sarkans, sārts) un HRM kanālu, klēpjdators, programmatūra, piederumi: ietver 1 gada garantiju daļām un darbam, bet instalācija un apmācība nav iekļauta	9002032

Rotor-Gene Q MDx piederumi

Loading Block 72 x 0.1 mL Tubes	Alumīnija bloks manuālai reakcijas sagatavošanai ar viena kanāla pipeti 72 x 0,1 ml stobriņos	9018901
Strip Tubes and Caps, 0.1 mL (250)	250 virknes ar 4 stobriņiem un vāciņiem 1000 reakcijām	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 mL (2500)	10 x 250 virknes ar 4 stobriņiem un vāciņiem 10 000 reakcijām	981106

Jaunāko informāciju par licencēšanu un preču juridiskās atrunas skatiet attiecīgā QIAGEN komplekta rokasgrāmatā vai lietotāja rokasgrāmatā. QIAGEN komplektu rokasgrāmatas un lietotāja rokasgrāmatas ir pieejamas vietnē www.qiagen.com, un tās var pieprasīt arī no QIAGEN tehniskā atbalsta dienesta vai vietējiem preču izplatītājiem.

Dokumenta redakciju vēsture

Datums	Izmaiņas
R2, 2018. gada augusts	Atjaunināta sadaļa Brīdinājumi un piesardzības pasākumi; pievienots CellSolutions® sadaļā Paraugu uzglabāšana un apstrāde un Preču zīmes; pārskatīta paraugu sagatavošanas sadaļa, lai aizstātu daļu attēlojumu ar procentiem; atjaunināts protokols: QIAscreen HPV PCR Test for RGQ MDx; pārskatīta 3. kolonna 1. tabulā protokolā: QIAscreen HPV PCR Test for RGQ MDx; atjaunināts PCR sadaļā par RGQ MDx ar 72 stobriņu rotoru, lai pievienotu svarīgu piezīmi un mainītu New experiment (Jauns eksperiments) uz logu New Run (Jauna izpilde); atjaunināta veikspējas raksturojuma sadaļa; labots QIAscreen HPV PCR Test kataloga numurs; izkārtojuma atjauninājumi
R3, 2023. gada jūnijs	Atjaunināta sadaļa par paraugu glabāšanu un lietošanu; sadaļa par paraugu sagatavošanu atjaunināta ar SurePath vidē glabāto paraugu priekšapstrādi un instrukcijām par DNS ekstrahēšanu ar QIAamp DSP Virus Spin Kit un par DNS ekstrahēšanu ar QIASymphony, izmantojot QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit; atjaunināta informācija par SurePath vidē glabātu paraugu klīnisko veikspēju un pievienota norāde par SurePath vidē glabātu paraugu validēšanu.

Ierobežotais QIAscreen HPV PCR Test licences līgums

Šī produkta izmantošana liecina par katra produkta pircēja vai lietotāja piekrišanu tālāk minētajiem nosacījumiem.

1. Šo produktu drīkst lietot tikai saskaņā ar protokoliem, kuri ir iekļauti šī produkta komplektācijā un šajā rokasgrāmatā, un to drīkst lietot tikai kopā ar šajā komplektā iekļautajiem komponentiem. Uzņēmums QIAGEN nepiešķir nekāda veida licenci uz nevienu no tā intelektuālajiem īpašumiem, lai šajā komplektā ietvertās sastāvdaļas izmantotu kopā ar jebkādam sastāvdaļām, kas neietilpst šajā komplektā, vai ar tām apvienotu, izņemot gadījumus, kas aprakstīti kopā ar produktu piegādātajos protokolos un šajā rokasgrāmatā, kā arī papildu protokolos, kas pieejami tīmekļa vietnē www.qiagen.com. Dažus no šiem papildu protokoliem QIAGEN lietotājiem nodrošina QIAGEN lietotāji. Šiem protokoliem QIAGEN nav veicis rūpīgu testēšanu vai optimizēšanu. Uzņēmums QIAGEN nedz apliecina, nedz garantē, ka tie nepārkāpj trešo personu tiesības.
2. Uzņēmums QIAGEN nesniedz citas garantijas, izņemot skaidri norādītās licences, ka šis panelis un/vai tā lietošana neaizskar trešo personu tiesības.
3. Šis panelis un tā komponenti ir licencēti vienreizējai lietošanai, un tos nedrīkst izmantot atkārtoti, atjaunot vai pārdot tālāk.
4. Uzņēmums QIAGEN īpaši atsakās no jebkādam citām tiesām vai netiesām licencēm, izņemot tās, kuras nav skaidri norādītas.
5. Pabeigta pircējs un lietotājs piekriņ neveikt un neatļaut citiem veikt nekādas darbības, kas varētu izraisīt vai veicināt jebkuras no iepriekš aizliegtajām darbībām. Uzņēmums QIAGEN var pieprasīt šī ierobežotā licences līguma aizliegumu īstenošanu jebkurā tiesā un apņemas atgūt visus savus izmeklēšanas un tiesas izdevumus, ieskaitot advokātu honorārus, kas radušies, īstenojot šo ierobežoto licences līgumu vai jebkuru no uzņēmuma intelektuālā īpašuma tiesībām saistībā ar paneli un/vai tā komponentiem.

Jaunākos licences nosacījumus skatiet vietnē www.qiagen.com.

Preču zīmes: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIASymphony®, MinElute®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); PreservCyt® (Hologic, Inc.); CellSolutions®; Pathtezt™ (Pathtezt); SurePath® (Becton Dickinson and Company). Tiek uzskatīts, ka šajā dokumentā minētie reģistrētie nosaukumi, preču zīmes utt. ir aizsargāti ar likumu arī tad, ja tas nav īpaši norādīts.

Self-screen B.V. ir likumīgais QIAscreen HPV PCR Test ražotājs.

QIAscreen HPV PCR Test uzņēmumam QIAGEN ražo uzņēmums Self-screen B.V.

1132289LV 06/2023 HB-2579-004 © 2023 QIAGEN, visas tiesības aizsargātas.

Pasūtīšana www.qiagen.com/shop | Tehniskais atbalstssupport.qiagen.com |
Tīmekļa vietne www.qiagen.com