

Červen 2023

QIAscreen[®] HPV PCR Test, návod k použití (příručka)



Verze 1



Pro diagnostické použití in vitro

K použití s přístrojem Rotor-Gene[®] Q MDx



617005



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



1132289CS

Obsah

Účel použití	4
Shrnutí a vysvětlení	5
Princip postupu	6
Dodávané materiály	7
Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky	8
Spotřební materiály, činidla a přístroje pro přípravu vzorků	8
Spotřební materiál pro přístroj Rotor-Gene Q MDx	8
Vybavení	8
Vybavení pro extrakci a real-time PCR	9
Varování a bezpečnostní opatření	10
Informace o bezpečnosti	10
Všeobecná bezpečnostní opatření	10
Skladování činidel a manipulace s nimi	12
Uchovávání vzorku a manipulace s ním	14
Příprava vzorku	16
Protokol: QIAscreen HPV PCR Test v přístroji Rotor-Gene Q MDx	19
PCR na přístrojích Rotor-Gene Q MDx s rotorem na 72 zkumavek	21
Interpretace výsledků	24
Omezení	26
Charakteristika funkčních vlastností	28
Limit detekce (Limit of Detection, LoD)	28
Analytická specifita	29

Klinická účinnost na vzorky z děložního čípku (stěry)	29
Reprodukovatelnost*	30
Účinnost na (cerviko)vaginálních vzorcích získaných samoodběrem	30
Interferující látky*	30
Literatura	31
Návod na řešení potíží.....	33
Symboly.....	35
Kontaktní údaje	37
Informace pro objednání.....	38
Historie revizí dokumentu	40

Účel použití

QIAScreen HPV PCR Test je test na bázi real-time PCR určen pro kvalitativní detekci DNA lidského papilomaviru (human papillomavirus, HPV) následujících 15 (pravděpodobně) vysoce rizikových genotypů HPV, tj. 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 a 68.

K vzorkům, které lze testovat produktem QIAScreen HPV PCR Test, patří DNA izolovaná ze zkušebních vzorků odebraných těmito způsoby:

- vzorky z děložního čípku odebrané kartáčkovým odběrovým zařízením (odběr provádí lékař),
- vaginální vzorky odebrané kartáčkovým zařízením nebo zařízením pro výplach (samoodběr).

Indikace k použití:

- jako primární test při screeningu žen na riziko rakoviny děložního čípku (včetně přednádorového stavu) pro rozhodnutí o nutnosti doporučení ke kolposkopii nebo na jiné kontrolní výkony,
- jako kontrolní test u žen s výsledky testu Pap s atypickými dlaždicovitými buňkami nestanovené významnosti (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, ASC-US) nebo intraepiteliální neoplazií nízkého stupně (Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion, LSIL) pro rozhodnutí o nutnosti doporučení ke kolposkopii nebo na jiné kontrolní výkony.

Tento produkt je určen k použití profesionálními uživateli, jako jsou technici a laboranti, kteří jsou vyškoleni v diagnostických postupech in-vitro, technikách molekulární biologie a systému Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System.

Shrnutí a vysvětlení

Lidské papilomaviry (human papillomavirus, HPV) patří do čeledi Papillomaviridae a jedná se o malé viry s dvouvláknovou DNA. Kruhový genom má velikost přibližně 7,9 kilobází. Identifikováno bylo více než 100 typů HPV, z nichž některé typy HPV, známé jako vysoce rizikové HPV (high-risk HPV, hrHPV), jako jsou HPV 16 a 18, jsou spojeny se vznikem slizničních lézí, které mohou progredovat do malignity. Rakovina děložního čípku a její přednádorové léze (cervikální intraepiteliální neoplazie (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN)) jsou nejznámějšími komplikacemi přetrvávající infekce vysoce rizikového typu HPV (1-3).

Virový genom obsahuje rané (early, E) a pozdní (late, L) geny, které kódují bílkoviny nezbytné pro raná, resp. pozdní stádia životního cyklu HPV. Produkty genů E6 a E7 typů hrHPV mají karcinogenní vlastnosti a pro maligní přeměnu hostitelské buňky jsou nezbytné (4). Maligní progresi je často spojena s integrací viru do genomu hostitelské buňky (5). Integrace má za následek přerušení genomu viru v oblasti, která může mít rozsah od E1 do L1 otevřeného čtecího rámce (6). To může mít následky pro amplifikaci DNA viru zprostředkované PCR v těchto oblastech. Jelikož nejen zahájení, ale i udržování transformovaného fenotypu závisí na neustálé expresi onkoproteinů viru (7, 8), oblast viru E6/E7 je u rakovin děložního čípku v integrovaných genomech viru trvale zachována (6). QIAscreen HPV PCR Test se zaměřuje na konzervovanou oblast v rámci genu E7. Test byl klinicky validován podle mezinárodních směrnic pro testy na detekci HPV a v dalších studiích (9, 10, 14, 15).

Princip postupu

QIAscreen HPV PCR Test je mnohočetný test na bázi real-time PCR zaměřený proti genu E7 z 15 (pravděpodobně) hrHPV typů, který pro detekci jednoho nebo více kumulujících se PCR produktů používá fluorescenční sondu. Během každého cyklu PCR se fluorescenční signál logaritmicky zvyšuje, čím se vytvoří amplifikační křivka. Jakmile amplifikační křivka cíle přesáhne svoji mezní hodnotu, vzorek se považuje pro daný cíl za pozitivní. Vícečetný formát umožňuje současnou detekci čtyř různých fluorescenčních barviv na každou reakci, přičemž každé fluorescenční barvivo představuje jiný cíl. Mezi čtyři různé cíle patří: **1.** HPV 16, **2.** HPV 18, **3.** 13 dalších typů hrHPV jako pool a **4.** lidský β -globinový gen. QIAscreen HPV PCR Test detekuje samostatně HPV 16, HPV 18 a pool 13 dalších genotypů hrHPV. Lidský β -globinový gen se používá jako kontrola vzorku, která stanovuje jak kvalitu DNA vzorku, tak přítomnost potenciálních inhibičních látek.

Dodávané materiály

Obsah soupravy

QIAscreen HPV PCR Test Kit		72 reakcí
Katalogové č.		617005
QIAscreen Master Mix (hlavní směs QIAscreen) (1 zkumavka)	Transparentní barva	1080 µl
QIAscreen Positive Control (pozitivní kontrola QIAscreen) (1 zkumavka)	Transparentní barva	100 µl
QIAscreen Negative Control (negativní kontrola QIAscreen) (1 zkumavka)	Transparentní barva	100 µl
<i>QIAscreen HPV PCR Test , návod k použití (příručka)</i>		1

Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky

Při manipulaci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní pracovní oděv, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Další informace si vyhledejte v příslušných bezpečnostních listech (BL), které obdržíte od dodavatele výrobku.

Spotřební materiály, činidla a přístroje pro přípravu vzorků

- Roztok Hologic PreservCyt® Solution (pro skladování vzorků po samoodběru)
- Standardní soupravy pro extrakci DNA, například QIAamp® DSP Virus Spin Kit (QIAGEN, kat. č. 61704) a QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit (QIAGEN, kat. č. 937055) a NucleoMag 96 Tissue Kit (Macherey-Nagel, kat. č. 744300)
- PBS pro manipulaci s cervikálními vzorky v odběrovém médiu PreservCyt
- Pufř AL (QIAGEN, kat. č. 19075) pro předběžnou přípravu cervikálních vzorků odebraných do odběrového média SurePath a CellSolutions

Spotřební materiál pro přístroj Rotor-Gene Q MDx

- 0,1 ml Strip Tubes and Caps pro použití s rotorem 72-Well Rotor o 72 jamkách (QIAGEN, kat. č. 981103 nebo kat. č. 981106)

Vybavení

- Pipety* (nastavitelné) určené výhradně pro PCR (1–10 µl; 10–100 µl)
- Příslušné sterilní pipetové špičky se zasunutým filtrem bez DNázy
- Jednorázové rukavice
- Stolní odstředivka*
- Vířivý mixér*

* Zajistěte, aby byly přístroje zkontrolovány a kalibrovány podle doporučení výrobce.

Vybavení pro extrakci a real-time PCR

- Modul QIASymphony SP (kat. č. 9001297) (pro volitelnou automatizaci extrakce)
- Rotor-Gene Q 5plex HRM System (kat. č. 9002033) nebo přístroj Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (kat. č. 9002032) se softwarem Rotor-Gene Q verze 2.3.1 nebo vyšší*
- Templát cyklu QIAScreen přístroje Rotor-Gene Q. Templát se nazývá „**QIAScreen RGQ profil v1.0.ret**“.
- Templáty QIAScreen pro analýzu kanálu pro zelený (HPV 16), žlutý (HPV ostatní), oranžový (β-globin) a červený (HPV 18) kanál. Templáty mají koncovku souboru „.qut“.

* Dle potřeby může být použit přístroj Rotor-Gene Q 5plex HRM s datem výroby v lednu 2010 nebo později. Datum výroby lze zjistit ze sériového čísla uvedeného na zadní straně přístroje. Sériové číslo je ve formátu „mmrrnnn“, kde „mm“ číslky označuje měsíc výroby, „rr“ označuje poslední dvě číslice roku výroby a „nnn“ označuje jedinečný identifikátor přístroje.

Varování a bezpečnostní opatření

Informace o bezpečnosti

Při manipulaci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní pracovní oděv, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Bližší informace jsou uvedeny v příslušných bezpečnostních listech (BL). Ty jsou k dispozici také online v PDF formátu na stránkách www.qiagen.com/safety, kde můžete najít, přečíst a vytisknout bezpečnostní listy (BL) všech sad a součástí sad QIAGEN.

- Pozitivní a negativní kontrola produktu QIAScreen HPV PCR Test obsahuje azid sodný jako konzervační látku (0,01 %). Azid sodný může reagovat s olověným nebo měděným potrubím za vzniku výbušných azidů kovů. Po likvidaci ve dřezu propláchněte odpady velkým množstvím studené vody, aby se zamezilo hromadění azidu.

Všeobecná bezpečnostní opatření

Použití testů PCR vyžaduje správnou laboratorní praxi, včetně údržby vybavení, které je určeno pro molekulární biologii a splňuje příslušné předpisy a normy.

Vždy věnujte pozornost následujícím okolnostem:

- Při manipulaci se vzorky vždy používejte jednorázové rukavice bez pudru, laboratorní plášť a ochranné brýle.
- Zamezte mikrobiální a nukleázové (DNázové) kontaminaci vzorku a soupravy. DNáza může způsobit poškození templátu DNA.
- Zamezte přenosové kontaminaci produktu DNA nebo PCR, která může mít za následek falešně pozitivní signál.
- Vždy používejte jednorázové pipetové špičky bez DNázy s aerosolovými bariérami.
- Činidla produktu QIAScreen HPV PCR Test jsou optimálně naředěna. Činidla dále neředte. Může to mít za následek zhoršení kvality provedení testu.

- Všechna reakční činidla dodávaná v testu QIAscreen HPV PCR Test jsou určena k použití výhradně s ostatními činidly dodanými ve stejné soupravě. Žádné činidlo z jedné soupravy nenahrazujte stejným činidlem z jiné testovací soupravy QIAscreen HPV PCR Test Kit, ani ze stejné šarže. Může to mít vliv na funkční vlastnosti.
- Viz uživatelská příručka přístroje Rotor-Gene Q MDx, kde naleznete další varování, bezpečnostní opatření a postupy.
- Před prvním cyklem dne přístroje Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM zahřejte přístroj při teplotě 95 °C po dobu 10 minut.
- Změna inkubačních dob a teplot může mít za následek chybné nebo nesouhlasné údaje.
- Nepoužívejte součásti soupravy, které exspirovaly nebo byly nesprávně skladovány.
- Minimalizujte vystavení součástí světlu: reakční směsi se mohou vlivem světla měnit.
- Dbejte maximální opatrnosti, aby se zabránilo kontaminaci směsí syntetickými materiály, které jsou obsaženy v činidlech PCR.
- Alikvoty a odpad z analýzy zlikvidujte v souladu s místními bezpečnostními předpisy.

Skladování činidel a manipulace s nimi

Podmínky pro přepravu

QIAscreen HPV PCR Test je dodáván na suchém ledu. Pokud není jakákoliv součást produktu QIAscreen HPV PCR Test při dodání zmrzlá, během přepravy došlo k otevření vnějšího obalu nebo zásilka neobsahuje balicí list, příručku nebo činidla, obraťte se na oddělení technických služeb QIAGEN nebo místní prodejce (navštivte stránky www.qiagen.com).

Podmínky skladování

Produkt QIAscreen HPV PCR Test uložte po dodání bez prodlení do mrazničky a skladujte v temnu při konstantní teplotě $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Stabilita


Při skladování dle stanovených podmínek je produkt QIAscreen HPV PCR Test stabilní do data expirace uvedeného na štítku krabičky.

Po otevření lze činidla skladovat v původních obalech při teplotě $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Zabraňte opakovanému rozmrazení a zmrazení. Nepřekračujte maximální počet 5 cyklů zmrazení/rozmrazení.

- Všechny zkumavky před otevřením jemně promíchejte tím, že je 10krát otočíte dnem vzhůru, a všechny je odstředíte.
- Datum expirace pro každé činidlo je uvedeno na jednotlivém štítku dané součásti. Při použití stejných šarží součástí si za správných podmínek skladování výrobek zachová své vlastnosti po dobu stability.
- Postupy kontroly jakosti ve společnosti QIAGEN popisují funkční testování soupravy před vydáním pro každou jednotlivou šarží soupravy. Nemíchejte činidla z různých souprav, ani když jsou ze stejné šarže.

Je třeba věnovat odpovídající pozornost datům expirace a podmínkám skladování vytištěným na obalu a štítcích všech součástí. Nepoužívejte součásti s prošlým datem expirace ani nesprávně skladované součásti.

Uchovávání vzorku a manipulace s ním

UPOZORNĚNÍ 	Se všemi vzorky se musí zacházet jako s potenciálně infekčními.
--	---

Vzorky z děložního čípku

QIAscreen HPV PCR Test je určen pro použití se vzorky genomové DNA získanými ze vzorků z děložního čípku (stěrů). Validovanými odběrovými médii pro vzorky z děložního čípku (stěry) jsou odběrová média PreservCyt, CellSolutions®, Pathtest® a Surepath®. Optimální teplota skladování klinického vzorku při doručení do laboratoře je 2–8 °C. Za těchto podmínek skladování jsou vzorky v odběrovém médiu PreservCyt stabilní po dobu 3 měsíců a v odběrovém médiu Surepath jsou stabilní po dobu 2 týdnů před extrakcí DNA.

Vzorky z děložního čípku odebrané do média PreservCyt lze skladovat až 210 dnů po odběru vzorku při teplotě 18–25 °C, až dva a půl roku při teplotě 2–8 °C a až 2 roky při teplotě <20 °C. Cervikální alikvoty odebrané do média SurePath lze skladovat až 10 týdnů po odběru alikvoty při teplotě 2–30 °C, až dva a půl roku při teplotě 2–8 °C a až 210 dní při teplotě < 20 °C.

Vlastní vzorky z odběru vaginálním kartáčkem (samoodběr)

QIAscreen HPV PCR Test je určen pro použití se vzorky genomové DNA extrahovanými ze vzorků odebraných samoodběrem vaginálním kartáčkem a samoodběrem cervikovaginálním výplachem. Vzorky ze samoodběru vaginálním kartáčkem lze odebrat a odeslat suché nebo ve fyziologickém roztoku (0,9 % hm./obj. NaCl) a po doručení do laboratoře se musí skladovat v médiu PreservCyt. Vzorky ze samoodběru z cervikovaginálního výplachu se

odebírají a odesílají ve fyziologickém roztoku (0,9% hm./obj. NaCl) a po doručení do laboratoře se musejí skladovat v médiu PreservCyt. Alikvoty ze samoodběru v médiu PreservCyt lze skladovat až 210 dnů po odběru alikvoty při teplotě 18–25 °C, až dva a půl roku při teplotě 2–8 °C a až 2 roky při teplotě < 20 °C.

Vzorky genomové DNA

Jakmile je genomová DNA extrahována, lze ji skladovat při teplotě 2–8 °C při krátkodobém skladování (≤ 2 dny) nebo při teplotě –30 °C až –15 °C po dobu až 12 měsíců.

Příprava vzorku

Extrakce DNA

S tímto testem jsou kompatibilní standardní soupravy na extrakci DNA (např. soupravy kolonové nebo na bázi magnetických kuliček, jako jsou soupravy QIAamp® DSP Virus Spin Kit, QIAAsymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit a NucleoMag 96 Tissue Kit, (Macherey-Nagel)) Pokyny pro použití soupravy QIAAsymphony® DSP Virus/Pathogen Midi jsou uvedeny níže.

Klinické vzorky v odběrovém médiu PreservCyt nebo PathTezt

Pro cervikální vzorky (stěry) suspendované v odběrovém médiu PreservCyt nebo PathTezt představuje podíl DNA, který bude použit jako vstup pro PCR, 0,125 % alikvotu cervikálního stěru ve 20 ml média PreservCyt nebo PathTezt. To odpovídá 25 µl původních typů vzorků. Jelikož lze jako vstup do PCR použít maximálně jen 5 µl extrahované DNA, musí se postupy extrakce DNA provádět tak, aby 5µl extrakt DNA odpovídal 25µl vzorku z děložního čípku (stěru), aby se zajistilo, že bude v PCR použit správný podíl vzorku z děložního čípku. Ekvivalentní média s formaldehydem (např. Surepath) nebo bez něj (např. PreservCyt) se musí zpracovávat podobně.

Důležité: Médium PreservCyt může narušit proces extrakce DNA. To lze vyřešit dvěma různými způsoby.

1. Před zahájením extrakce DNA zředte alikvot vzorku v médiu PreservCyt ve stejném objemu PBS nebo lyzačního pufru ze soupravy pro extrakci DNA a promíchejte. Ujistěte se, že celkový objem vzorku je kompatibilní se soupravou pro extrakci DNA. Pokud je celkový objem pro extrakční soupravu příliš velký, doporučuje se použít metodu 2 popsanou níže.
2. Odstředějte vzorek v médiu PreservCyt ($\geq 3400 \times g$ po dobu 10 minut) a odstraňte supernatant. Peleta se resuspenduje v příslušném objemu PBS nebo lyzačního pufru,

který je kompatibilní se soupravou pro extrakci DNA (pro soupravu QIAamp DSP Virus Spin Kit: resuspenduje se ve 200 µl PBS a postupuje se podle pokynů výrobce pro extrakci DNA, eluuje se ve 100 µl; pro soupravu Margery Nagel Nucleomag96 Tissue Kit: resuspenduje se ve 100 µl pufru T1 této soupravy a postupuje se podle pokynů výrobce, eluuje se ve 100 µl).

Ekvivalentní média zpracovávejte podobně.

Pokyny pro použití soupravy QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit

Protokol QSDSP: 500 µl vzorku z děložního čípku v médiu PreservCyt se smíchá s 500 µl PBS. Na QIASymphony se spustí integrované zpracování protokolem Complex800_V6_DSP podle kroků popsaných v „Konsolidované provozní příručce systému QIASymphony® SP/AS – 12.3 Integrované zpracování“. DNA je eluována v 60 µl a pro test QIAScreen HPV PCR Test se použije 5 µl. Pokud používáte pouze modul QIASymphony SP, zpracování přípravy alikvotu s protokolem Complex800_V6_DSP se provádí pomocí přístroje QIASymphony SP. Postupujte podle kroků popsaných v „návodu k použití soupravy QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit (příručka) – obecný protokol purifikace“.

Pro cervikální vzorky (stěry) suspendované v odběrovém médiu SurePath nebo CellSolutions představuje podíl DNA, který bude použit jako vstup pro PCR, 0,25 % vzorku cervikálního stěru v 10 ml média SurePath nebo CellSolutions. To odpovídá 25 µl původního vzorku. Jelikož lze jako vstup do PCR použít maximálně jen 5 µl extrahované DNA, musí se objem vzorku a eluční objem DNA volit tak, aby 5µl extrakt DNA odpovídal 25µl vzorku z děložního čípku (stěru), aby se zajistilo, že bude v PCR použit správný podíl vzorku z děložního čípku.

DŮLEŽITÉ: Klinické vzorky odebrané do média SurePath a CellSolutions musí být před použitím předběžně upraveny pomocí níže popsaného protokolu, aby se odstranilo zesíťování způsobené formaldehydem.

Předběžná úprava klinických vzorků odebraných do média SurePath a CellSolutions:

3. Vzorek v médiu SurePath nebo CellSolutions smíchejte s AL pufrém (QIAGEN) v poměru 1 : 1 a důkladně promíchejte.
4. Inkubujte při 90 °C po dobu 20 minut a poté proveďte ekvilibraci na pokojovou teplotu, než přistoupíte k extrakci DNA.

S ekvivalentními médii obsahujícími formaldehyd je třeba zacházet podobně.

U vzorků ze samoodběrového vaginálního kartáčku suspendovaných v roztoku Hologic PreservCyt Solution musí být provedeny postupy extrakce DNA tak, aby 5µl extrakt DNA použitý jako vstup do PCR představoval 0,5 % vaginálního vzorku. Jestli bude vaginální vzorek samoodběru bude například suspendován do 2 ml roztoku PreservCyt Solution; potom 5 µl vstup DNA odpovídá 10 µl suspenze vzorku odebraného samoodběrem.

U vzorků odebraných samoodběrem z cervikovaginálního výplachu představuje podíl DNA, který bude použit jako vstup do PCR, 0,5 % vzorku výplachu odebraného samoodběrem. Proto se musí v případě celkového objemu výplachu 3 ml postupy extrakce DNA provést tak, aby 5µl vstup DNA odpovídal 15 µl původního vzorku výplachu odebraného samoodběrem.

Protokol: QIAscreen HPV PCR Test v přístroji Rotor-Gene Q MDx

Důležité body před zahájením používání

Před zahájením protokolu věnujte dostatek času seznámení s přístrojem Rotor-Gene Q MDx. Viz uživatelská příručka k přístroji.

Před prvním cyklem dne přístroje Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM zahřejte přístroj při teplotě 95 °C po dobu 10 minut.

Pro provedení testu je nutný templát softwaru řady Rotor-Gene Q. Vždy používejte templát QIAscreen RGQ, profil v1.0.ret.

Pro analýzu testu v každém ze čtyř detekčních kanálů se vyžaduje templát softwaru řady Rotor-Gene Q. Zajistěte, aby se pro každý kanál použil správný templát, jak je uvedeno níže:

- Templát „QIAscreen RGQ Green Channel analysis template.qut“ musí být použit pro analýzu signálů v zeleném kanálu (HPV 16).
- Templát „QIAscreen RGQ Orange Channel analysis template.qut“ musí být použit pro analýzu signálů v oranžovém kanálu (β -globin).
- Templát „QIAscreen RGQ Yellow Channel analysis template.qut“ musí být použit pro analýzu signálů v žlutém kanálu (HPV ostatní).
- Templát „QIAscreen RGQ Red Channel analysis template.qut“ musí být použit pro analýzu signálů v červeném kanálu (HPV 18).

Zpracování vzorku na přístrojích Rotor-Gene Q MDx s rotorem na 72 zkumavek

V rámci stejného experimentu lze testovat, kromě pozitivní a negativní kontroly, až 70 vzorků genomové DNA. Schéma v Tabulce 1 ukazuje příklad plnicího bloku nebo uspořádání rotoru pro experiment s produktem QIAscreen HPV PCR Test. Čísla označují pozice v plnicím bloku a indikují konečnou polohu rotoru.

Tabulka 1. Uspořádání desky a rotoru pro experiment s produktem QIAscreen HPV PCR Test na přístroji Rotor-Gene Q MDx

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

Poznámka: Všechny nepoužité pozice vyplňte prázdnými zkumavkami.

PCR na přístrojích Rotor-Gene Q MDx s rotorem na 72 zkumavek

1. Připravte test QIAscreen HPV PCR Test.

Poznámka: Aby se minimalizovalo riziko kontaminace reakcí PCR, důrazně doporučujeme, abyste používali PCR skříňku kompatibilní s UV zářením.

Důležité: Přenášení hlavní reagentie QIAscreen Master Mix se musí provádět v prostoru odděleném od prostoru, ve kterém se provádí extrakce DNA.

1a. Pro zabránění kontaminace templátu nebo nukleázy, před použitím roztoku k degradaci DNA očistěte prostor stolu, pipety i stojan na zkumavky.

Poznámka: Mezi každým použitím ve zkumavce vyměňujte špičky, aby se zabránilo jakékoli nespecifické kontaminaci templátu nebo reakční směsi, která by mohla vést k falešně pozitivním výsledkům.

1b. Jemně promíchejte vzorky tím, že je 10krát převrátíte, poté je před použitím krátce odstředíte, abyste odebrali roztok ze dna zkumavky.

1c. Do vhodných zkumavek nebo stripů zkumavek přeneste 15 µl reagentie QIAscreen Master Mix (maximálně 72 zkumavek na cyklus přístroje Rotor-Gene Q MDx). Příprava reakce může být prováděna při pokojové teplotě.

1d. Reagencii QIAscreen Master Mix vraťte do mrazničky, aby se zabránilo jakékoli degradaci materiálu. Zkumavky přeneste do odděleného prostoru pro přidání reagentie QIAscreen Positive Control a vzorku DNA.

1e. Do zkumavky v pozici 2 přidejte 5 µl negativní kontroly, smíchejte pipetováním nahoru a dolů nebo jemným poklepáním zkumavky a zkumavku uzavřete zatlačením uzávěru na zkumavku.

1f. Do zkumavky v pozici 1 přidejte 5 µl reagentie QIAscreen Positive Control, smíchejte pipetováním nahoru a dolů nebo jemným poklepáním zkumavky a zkumavku uzavřete.

Poznámka: Mezi každým použitím ve zkumavce vyměňujte špičky, aby se zabránilo jakékoli nespecifické kontaminaci templátu nebo reakční směsi, která by mohla vést k falešně pozitivním výsledkům.

- 1g. Do zkumavky obsahujících reagentů QIAscreen Master Mix přidejte 5 µl vzorku DNA, smíchejte pipetováním nahoru a dolů nebo jemným poklepáním zkumavek a zkumavky uzavřete zatlačením uzávěrů na zkumavky.
 - 1h. Jakmile jste naplnili sadu 4 zkumavek, zkumavky uzavřete.
Poznámka: Zkumavky PCR lze mezi pipetováním alikvotů do zkumavek PCR a zahájením experimentu ve stroji skladovat po dobu 30 minut v temnu při teplotě 2–8 °C.
2. Připravte přístroj Rotor-Gene Q MDx a zahajte experiment:
- Důležité:** Před prvním cyklem dne přístroje Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM zahřejte přístroj při teplotě 95 °C po dobu 10 minut.
- 2a. Rotor se 72 jamkami umístěte do držáku rotoru.
 - 2b. Vložte stripy se zkumavkami na přiřazené pozice v rotoru; začněte pozicí 1, jak ukazuje Tabulka 1; do všech nevyužitých pozic vložte prázdné zkumavky uzavřené víčky.
Poznámka: Ověřte, že první zkumavka je vložena do pozice 1 a stripy se zkumavkami jsou umístěny ve správných pozicích a orientaci, jak ukazuje Tabulka 1.
 - 2c. Nasaďte pojistný kroužek.
 - 2d. Vložte rotor s pojistným kroužkem do přístroje Rotor-Gene Q MDx a zavřete víko přístroje.
 - 2e. Přejděte na okno **New Run** (Nový cyklus) a klikněte na tlačítko **Open a template in another folder...** (Otevřít templát v další složce...).
 - 2f. Vyberte položku QIAscreen run template (Templát cyklu QIAscreen) s názvem **QIAscreen RGQ profile v1.0.ret**.
 - 2g. Vyberte položku Rotor type (Typ rotoru): **72-well rotor** (Rotor se 72 jamkami) a **Locking ring attached** (Nasazen pojistný kroužek) a klikněte na tlačítko **Next** (Další).
 - 2h. U Operator (Obsluhy) zadejte iniciály a klikněte na tlačítko **Next** (Další).
 - 2i. V následujícím okně klikněte na tlačítko **Next** (Další).
 - 2j. Klikněte na tlačítko **Start run** (Zahájit cyklus).
Pro vložení názvů vzorků klikněte na položku **Edit samples** (Upravit vzorky) (to lze provést po dokončení cyklu).

Tabulka 2. Nastavení cílů a kanálů*

Cíl	Detekční kanál
β-globin	Orange
HPV 16	Green
HPV 18	Red
HPV ostatní*	Yellow

* HPV ostatní obsahuje soubor 13 jiných typů než 16/18 HPV.

3. Provedte analýzu dat.

- 3a. Vyberte zkumavky, které se mají použít pro analýzu.
 - 3b. Přejděte na okno **Analysis tool** (Nástroj pro analýzu), vyberte položku **Cycling A. Green** a klikněte na tlačítko **Show** (Zobrazit). Klikněte na tlačítko **Import** (Import) pod částí **Imported Settings** (Importovaná nastavení) (v pravé dolní části okna) a vyberte soubor **QIAScreen RGQ Green Channel analysis template.qut**. Vyberte položku **Cycling A. Green** a klikněte na tlačítko **Hide** (Skrýt).
 - 3c. Vyberte položku **Cycling A. Orange** a klikněte na tlačítko **Show** (Zobrazit). Klikněte na tlačítko **Import** (Import) pod částí **Imported Settings** (Importovaná nastavení) a vyberte soubor **QIAScreen RGQ Orange Channel analysis template.qut**. Vyberte položku **Cycling A. Orange** a klikněte na tlačítko **Hide** (Skrýt).
 - 3d. Vyberte položku **Cycling A. Red** a klikněte na tlačítko **Show** (Zobrazit). Klikněte na tlačítko **Import** (Import) pod částí **Imported Settings** (Importovaná nastavení) a vyberte soubor **QIAScreen RGQ Red Channel analysis template.qut**. Vyberte položku **Cycling A. Red** a klikněte na tlačítko **Hide** (Skrýt).
 - 3e. Vyberte položku **Cycling A. Yellow** a klikněte na tlačítko **Show** (Zobrazit). Klikněte na tlačítko **Import** (Import) pod částí **Imported Settings** (Importovaná nastavení) a vyberte soubor **QIAScreen RGQ Yellow Channel analysis template.qut**.
 - 3f. Klikněte na tlačítko **Save** (Uložit).
 - 3g. **VOLITELNÉ:** Pro interpretaci výsledků lze data uložit jako soubor .csv. Přejděte na **File > Save as > Excel Analysis Sheet** (Soubor > Uložit jako > Sešit aplikace Excel s analýzou) a uložte exportovaný soubor.
4. Vyjměte zkumavky z přístroje Rotor-Gene Q MDx a zlikvidujte stripy zkumavek v souladu s místními bezpečnostními předpisy.

Interpretace výsledků

Kritéria validace cyklu a vzorku jsou uvedena níže v bodě A resp. B. V případě, že nebude splněno jedno kritérium (nebo více kritérií) jsou zahájena příslušná opatření.

A. Validační kritéria kontrol testu QIAscreen HPV PCR Test

Cíle při analýze s reagensí QIAscreen Positive Control by měly pro β -globin dosahovat hodnot C_T nižší než 29, pro HPV 16 a HPV 18 nižších než 30 a u ostatních HPV nižších než 32. Pokud tomu tak není a nastavení analýzy jsou správná, experiment se musí zopakovat.

Žádný z cílů při analýze s reagensí QIAscreen Negative Control by neměl dávat signál vyšší než mez až do konce cyklu PCR (tj. cyklu 40 nebo nedefinovaného). Pokud se signál objeví před 40. cyklem a nastavení analýzy jsou správná, experiment se musí zopakovat.

Poznámka: Pokud kontroly nesplňují stanovené limity a opakováním se vyloučí chyby v technice, zkontrolujte následující:

- Dobu použitelnosti na obalu činidel
- Teplotu činidel
- Nastavení systému PCR a softwaru
- Kontaminace

Pokud jsou kontroly přesto stále neplatné, kontaktujte zákaznický servis výrobce nebo místního distributora.

B. Interpretace výsledků vzorku

Výsledek testu pro vzorek se určuje následujícím způsobem (Tabulka 3).

Tabulka 3. Interpretace výsledků

	Hodnota C _T HPV cíle(ů)	Hodnota C _T β-globinu	Interpretace
1	HPV 16 a/nebo HPV 18 < 36 a/nebo HPV ostatní < 33,5	Jakákoliv	HPV pozitivní
2	HPV 16 a HPV 18 ≥ 36 nebo nedefinován a HPV ostatní ≥ 33,5 nebo nedefinován	≤ 30	HPV negativní
3	HPV 16 a HPV 18 ≥ 36 nebo nedefinován a HPV ostatní ≥ 33,5 nebo nedefinován	> 30	Neplatné

1. HPV pozitivní. Když je (jsou) hodnota(y) C_T HPV 16 a/nebo HPV 18 < 36 a/nebo ostatních HPV < 33,5 (nehledě na hodnotu C_T β-globinu). Kanál označuje přítomný typ(y). **2. HPV negativní.** Když je hodnota C_T pro β-globin ≤ 30 a hodnoty C_T pro HPV 16 a HPV 18 jsou ≥ 36 nebo nevydávají žádný signál a hodnota pro ostatní HPV je ≥ 33,5 nebo nevykazuje žádný signál. **3. Neplatné.** Když je hodnota C_T β-globinu > 30 a hodnoty C_T HPV 16 a HPV 18 jsou ≥ 36 nebo nevykazují žádný signál a hodnota pro ostatní HPV je ≥ 33,5 nebo nevykazuje žádný signál.

Omezení

- Pro uvedené zamýšlené použití se musí test provádět na vzorcích z děložního čípku nebo (cerviko)vaginálních vzorcích odebraných samoodběrem. QIAScreen HPV PCR Test byl však hodnocen i pro použití s DNA extrahovanou z bioptických vzorků fixovaných formalinem a zalitých do parafinu (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE).
- Odběr, přeprava a skladování vzorků může ovlivnit počet kopií cíle ve vzorku, a tak způsobit potenciálně falešně pozitivní nebo falešně negativní výsledek.
- Tyto pokyny platí jen pro přístroj Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM.
- Nedostatečné vlastnosti extrakce DNA mohou vést k neplatným výsledkům testu. Pokud problém přetrvává, obraťte se na místního distributora nebo zákaznický servis výrobce pro technickou radu k postupu pro extrakci DNA.
- Vzorky s mnohoznačnými výsledky z důvodu nízkého počtu kopií cílů lze potvrdit opakovanou analýzou.
- Ve vzácných případech mohou být cervikální léze vyvolány přirozenými variantami HPV nebo typy HPV, na které není produkt QIAScreen HPV PCR Test zaměřen.
- Činidla produktu QIAScreen HPV PCR Test se smí používat výhradně pro diagnostiku in vitro.
- Použití testů PCR vyžaduje správnou laboratorní praxi, včetně údržby vybavení, které je určeno pro molekulární biologii a splňuje příslušné předpisy a normy.
- Činidla a pokyny dodané s produktem QIAScreen HPV PCR Test byly validovány pro zajištění optimálního výkonu.
- QIAScreen HPV PCR Test smí být používán laboranty vyškolenými v použití přístrojů Rotor-Gene Q MDx.
- Produkt smí používat pouze pracovníci, kteří jsou speciálně poučeni a vyškoleni v technikách real-time PCR a metodice diagnostiky in vitro. Jakékoliv získané diagnostické výsledky se musí interpretovat v kontextu ostatních klinických nebo laboratorních nálezů.
- Přesné dodržování pokynů k použití (příručka) je bezpodmínečně nutné k dosažení optimálních výsledků testu QIAScreen HPV PCR Test.

- Je třeba věnovat odpovídající pozornost datům expirace vytištěným na obalu a štítcích všech součástí. Komponenty po datu expirace nepoužívejte.
- Všechna reakční činidla dodávaná v testu QIAscreen HPV PCR Test jsou určena k použití výhradně s ostatními činidly dodanými ve stejné soupravě. Jinak to může mít vliv na funkční vlastnosti.
- Jakékoli jiné než určené použití tohoto výrobku a/nebo úprava součástí zpraví společnost Self-screen B.V. odpovědnosti.
- Každý uživatel je zodpovědný za validaci funkčních vlastností systémů u všech postupů používaných v dané laboratoři, které nejsou zahrnuty ve studiích funkčních vlastností výrobků.

Charakteristika funkčních vlastností

Limit detekce (Limit of Detection, LoD)

Limit detekce (Limit of Detection, LoD) byl stanoven pomocí produktu gBlocks (tj. genomových bloků dvouvláknové DNA) obsahujících část genu E7 genotypu viru HPV. Byly připraveny sériové řady 3násobných ředění produktu gBlock 15 cílených typů HPV (tj. 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 a 68) na pozadí 50 ng lidské DNA a testovány v 8 opakováních. V případě β -globinu byla hodnota LoD posouzena na 3násobné sériové řadě ředění produktu gBlock ve vodě, obsahujícího část genu β -globinu, který byl testován v 8 opakováních.

Tabulka 4. Limit detekce (Limit of Detection, LoD) analýzy testem QIAscreen HPV PCR Test 15 typů HPV a genu β -globin

Cíl	LoD (počet kopií na 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 -globin	617

Analytická specifická*

Analytická specifická byla stanovena proti plazmidovým DNA necílených genomů HPV (tj. HPV 6, 11, 26, 40, 42, 43, 53, 61 a 70) o koncentraci nejméně 46 000 kopií/test a proti 3 nejvíce potenciálně patogenním vaginálním mikroorganismům *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* a *Candida albicans* při koncentraci nejméně 10 000 kopií/test. Test neprokázal žádnou křížovou reaktivitu s necílenými typy HPV 6, 11, 26, 40, 42, 43, 53 a 61 ani mikroorganismy. Jen u HPV 70 byl pozorován v kanálu „HPV ostatní“ pozitivní signál (tj. kanál, který detekuje skupinu 13 typů HPV jiných než 16/18), který byl po dalším nařazení detekován při > 17 000 kopiích/test. HPV 70 se na základě epidemiologických, fylogenetických a funkčních studií považuje za pravděpodobně karcinogenní (11-13).

Klinická účinnost na vzorky z děložního čípku (stěry)

Klinická citlivost a specifická testu pro cervikální intraepiteliální neoplazie stupně 2 nebo vyššího (CIN 2+) ve vzorcích z děložního čípku (stěrech) uložených v médiu PreservCyt byla validována ve dvou různých studiích analýzou non-inferiority vzhledem k vysoce rizikovým HPV GP5+/6+ PCR(10) nebo Hybrid Capture 2 (14) podle mezinárodních směrnic o požadavcích na testy HPV pro skríníng rakoviny děložního čípku (9). Klinická citlivost pro CIN 2+ byla 96,8 % (61/63) a 92,9 % (91/98) a klinická specifická pro CIN 2+ byla 95,1 % (783/823) a 94,2 % (933/990). Klinická citlivost a specifická byly non-inferiorní vzhledem k referenčním testům GP5+/6+ PCR (10) nebo Hybrid Capture 2 (14), což značí velmi dobrou klinickou účinnost. U žen s nálezem ASC-US nebo LSIL byly hodnoty klinické citlivosti a specifčnosti pro CIN2+ 97,4 % (37/38; 95 %CI 83,5–99,6), respektive 59,8 % (52/87; 95 %CI: 49,2– 69,5).(14)

* Funkční vlastnosti jsou uvedeny pro test verze ABI7500. Ekvivalenční analýza prokázala podobnou účinnost a validaci pro produkt QIAScreen HPV PCR Test pro přístroj Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM.

Reprodukovatelnost*

Intralaboratorní reprodukovatelnost a interlaboratorní shoda testu byly validovány podle mezinárodních směrnic o požadavcích na testy HPV pro skríníng rakoviny děložního čípku (9). Intralaboratorní reprodukovatelnost u vzorků z děložního čípku (stěrů) byla v průběhu času 99,5 % (544/547) s hodnotou kappa 0,99 a interlaboratorní shoda byla 99,2 % (527/531) s hodnotou kappa 0,98, což značí velmi dobrou shodu (10).

Účinnost na (cerviko)vaginálních vzorcích získaných samoodběrem*

Účinnost testu u (cerviko)vaginálních vzorků odebraných samoodběrem byla validována pro dvě různé metody odběru vzorků: 1) vzorky výplachu odebrané samoodběrem a 2) vzorky odebrané samoodběrem pomocí kartáčku. U samoodběru vzorků výplachem byla shoda s referenčním testem GP5+/6+ PCR 96,7 % (59/61) s citlivostí na CIN 2+ ve výši 91,4 % (21/23) (10). U samoodběru vzorků kartáčkem byla shoda s GP5+/6+ PCR 92,9 % (104/112) s citlivostí na CIN 2+ ve výši 93,9 % (31/34) (10).

Interferující látky*

Účinnost testu inhibovaly stopy EDTA (0.5M), HCl (1N), křemenných kuliček (1 µl), krve (1 µl), moči (40 g/100 ml) a pufru lýzy. Na účinnost testu neměl žádný inhibiční vliv ETOH 96 % (1 µl) a DMSO 4 % (obj./obj.). Inhibice je sledována kontrolou vzorku (např. cíle β-globinu).

* Funkční vlastnosti jsou uvedeny pro test verze ABI7500. Ekvivalenční analýza prokázala podobnou účinnost a validaci pro produkt QIAScreen HPV PCR Test pro přístroj Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM.

Literatura

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

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

Návod na řešení potíží

Uvedené návody mohou pomoci při řešení potíží, které mohou nastat při práci se systémem. Další informace můžete najít také mezi častými dotazy (Frequently Asked Questions, FAQ) na stránkách našeho centra technické podpory: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Vědci z technické podpory společnosti QIAGEN vždy rádi zodpoví vaše otázky ohledně údajů a/nebo protokolů v této příručce i obecně k technologiím pro přípravu alikvotů a jejich analýz (kontaktní údaje naleznete na webových stránkách www.qiagen.com).

Komentáře a návrhy

Vzorek je vyhodnocen jako neplatný: amplifikace β -globinu je příliš nízká nebo chybí

- | | | |
|----|---|--|
| a) | Chyba pipetování nebo vynechaná činidla. Viz „PCR na přístrojích Rotor-Gene Q MDx s rotorem na 72 zkumavek“ strana 21 | Zkontrolujte postup pipetování a nastavení reakce. Zopakujte vzorek. |
| b) | Zkontrolujte eluát DNA | Zopakujte extrakci DNA. |

Pozitivní kontrola je hodnocena jako neplatná: amplifikace je příliš nízká nebo pro jeden či více cílů chybí

- | | | |
|----|---|--|
| a) | Chyba pipetování nebo vynechaná činidla. Viz „PCR na přístrojích Rotor-Gene Q MDx s rotorem na 72 zkumavek“ strana 21 | Zkontrolujte postup pipetování a nastavení reakce. Zopakujte vzorek. |
| b) | Částečná degradace | Uchovávejte obsah soupravy při teplotě -15 až -30 °C. Opakované zmrazení a rozmrazení je povoleno maximálně po pět cyklů. |
| c) | Činidla PCR částečně degradovaná | Uchovávejte součásti soupravy při teplotě -15 °C až -30 °C a reakční směsi chraňte před světlem. Zabraňte opakovanému zmrazení a rozmrazení. |
| d) | Obrácení stripu | Zkontrolujte postup pipetování a nastavení reakce. |
| e) | Datum použitelnosti | Zkontrolujte datum použitelnosti použité soupravy. |
| f) | Časová prodleva mezi pipetováním alikvotů a zahájením cyklu | Směsi PCR lze mezi pipetováním vzorků do PCR a zahájením cyklu ve stroji skladovat po dobu 30 minut v temnu při teplotě 2–8 °C. |

Komentáře a návrhy

Beztemplátová kontrola (No template control, NTC) je neplatná

- | | | |
|----|---|--|
| a) | Chyba pipetování nebo vynechaná činidla. Viz „PCR na přístrojích Rotor-Gene Q MDx s rotorem na 72 zkumavek“ strana 21 | Zkontrolujte postup pipetování a nastavení reakce. Zopakujte vzorek. |
|----|---|--|













Nepřítomný nebo slabý signál u alikvotu, avšak kontroly jsou v pořádku

- | | | |
|----|--|--|
| a) | Inhibiční vlivy | Během extrakce DNA vždy zkontrolujte, že se zde nevyskytují žádné zbytky pufrů.
Zopakujte extrakci DNA. |
| b) | Chyba pipetování. Viz „PCR na přístrojích Rotor-Gene Q MDx s rotorem na 72 zkumavek“ strana 21 | Zkontrolujte postup pipetování a nastavení reakce. Zopakujte cyklus PCR. |

Pokud chyba přetrvává, kontaktujte technickou podporu společnosti QIAGEN.

Symbols

On the packaging and labeling, the following symbols may appear:

Symbol	Definition of symbol
	Použijte do
	Zdravotnický prostředek pro diagnostiku in vitro
	Symbol CE-IVD
	Katalogové číslo
	Číslo šarže
	Číslo materiálu
	Komponenty
	Obsahuje
	Číslo
Rn	R označuje revizi návodu k použití (příručky) a n je číslo revize
	Globální číslo obchodní položky
	Teplotní omezení
	Výrobce

Symbol

Definice symbolu



Chraňte před slunečním světlem



Viz návod k použití



Upozornění

Kontaktní údaje

Pro technickou podporu a více informací navštivte centrum technické podpory na internetové adrese www.qiagen.com/Support, volejte na telefonní číslo 00800-22-44-6000, kontaktujte jedno z technických servisních oddělení společnosti QIAGEN anebo naše místní distributory (viz zadní strana obalu nebo navštivte webové stránky www.qiagen.com).

Informace pro objednání

Produkt	Obsah	Kat. č.
QIAscreen HPV PCR Test	72 reakcí obsahuje: hlavní směs, pozitivní kontrolu, negativní kontrolu, návod k použití	617005
QIAasymphony SP	Modul pro stanovení vzorků QIAasymphony (volitelný pro extrakci)	9001297
Rotor-Gene Q MDx		
Rotor-Gene Q MDx HRM System	Cykler pro real-time PCR a analyzátor High Resolution Melt s 5 kanály (zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový) plus kanál HRM, notebook, software, příslušenství: zahrnuje roční záruku na součásti a servis, instalaci a školení	9002035
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Cykler pro real-time PCR a analyzátor High Resolution Melt s 5 kanály (zelený, žlutý, oranžový, červený, purpurový) plus kanál HRM, notebook, software, příslušenství: zahrnuje roční záruku na všechny části a provedení; instalace a školení nejsou zahrnuty	9002032
Příslušenství přístroje Rotor-Gene Q MDx		
Loading Block 72 x 0.1 mL Tubes	Hliníkový blok pro ruční nastavení reakce pomocí jednokanálové pipety s využitím zkumavek 72 x 0,1 ml	9018901

Strip Tubes and Caps, 0.1 mL (250)	250 stripů po 4 zkumavkách s uzávěry, pro 1 000 reakcí	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 mL (2500)	10 × 250 stripů po 4 zkumavkách a víčka na 10 000 reakcí	981106

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifické pro výrobek jsou uvedeny v příručce soupravy QIAGEN nebo v uživatelské příručce. Příručky k soupravám QIAGEN a uživatelské příručky jsou k dispozici na webových stránkách www.qiagen.com nebo si je lze vyžádat od technické podpory společnosti QIAGEN či místního distributora.

Historie revizí dokumentu

Datum	Změny
R2, srpen 2018	Aktualizace oddílu Varování a bezpečnostní opatření; doplnění CellSolutions® do oddílu Uchovávání a nakládání se vzorkem a Ochranné známky; revize oddílu Příprava vzorku pro nahrazení zlomků za procenta; aktualizace protokolu: QIAscreen HPV PCR Test pro RGQ MDx; revize sloupce 3 v Tabulce 1 v protokolu: QIAscreen HPV PCR Test pro RGQ MDx; aktualizace oddílu PCR na přístroji RGQ MDx s rotorem se 72 jamkami doplněním části Důležitá poznámka a změnou okna New experiment (Nový experiment) na New Run (Nový cyklus); aktualizace oddílu Funkční vlastnosti; oprava katalogového čísla produktu QIAscreen HPV PCR Test; aktualizace rozvržení
R3, červen 2023	Aktualizována část o uchovávání a nakládání se vzorkem; aktualizována část o přípravě vzorků s předběžnou úpravou vzorků uložených v médiu SurePath a pokyny pro extrakci DNA pomocí soupravy QIAamp DSP Virus Spin a extrakci DNA pomocí soupravy QIASymphony s použitím soupravy QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi; aktualizována klinická účinnost pro vzorky uložené v médiu SurePath a přidán odkaz na validaci vzorků uložených v médiu SurePath.

Omezená licenční smlouva na produkt QIAscreen HPV PCR Test

Používáním tohoto produktu vyjadřuje kterýkoliv kupující nebo uživatel produktu svůj souhlas s následujícími podmínkami:

1. Tento výrobek se může používat výhradně v souladu s protokoly poskytnutými s tímto výrobkem a touto příručkou a pro použití pouze s komponentami dodanými v sadě. Společnost QIAGEN neposkytuje žádnou licenci svých duševních práv k používání nebo začlenění komponent, které jsou obsaženy v této sadě, společně s kterýmikoliv součástmi, které nejsou v této sadě obsaženy, s výjimkou případů popsanych v této příručce a dalších protokolech dostupných na stránkách www.qiagen.com. Některé z těchto doplňujících protokolů byly poskytnuty uživateli výrobků společnosti QIAGEN pro jiné uživatele výrobků QIAGEN. Tyto protokoly nebyly společností QIAGEN důkladně testovány ani optimalizovány. Společnost QIAGEN nezaručuje ani neposkytuje záruku na to, že neporušují práva třetích stran.
2. Společnost QIAGEN neposkytuje žádnou jinou záruku než výslovně stanovené licence v tom smyslu, že tento panel a/nebo jeho použití nenarušuje práva třetích stran.
3. Tento panel a jeho komponenty jsou licencovány k jednorázovému použití a nesmí se používat opakovaně, přepracovávat ani opakovaně prodávat.
4. Společnost QIAGEN specificky odmítá jakékoli další výslovné nebo nepřímé licence s výjimkou těch, které jsou uvedeny výslovně.
5. Kupující a uživatel tohoto panelu souhlasí s tím, že nepodnikne ani nikomu jinému neumožní podniknout žádné kroky, které by mohly vést k jakémukoli shora zakázané činnosti nebo ji usnadnit. Společnost QIAGEN může prosazovat zákazy tohoto ujednání o omezené licenci u kteréhokoliv soudu, a bude vyžadovat kompenzaci za veškeré náklady vynaložené na vyšetřování a soudní výlohy včetně poplatků za právní zástupce v případě jakéhokoliv soudního sporu s cílem prosadit toto ujednání o omezené licenci nebo kteréhokoliv ze svých práv k duševnímu vlastnictví v souvislosti s panelem a/nebo jeho součástmi.

Pro aktualizovanou licenční ustanovení viz www.qiagen.com.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIASymphony®, MinElute®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); PreservCyt® (Hologic, Inc.); CellSolutions®; Pathtezt® (Pathtezt); SurePath® (Becton Dickinson and Company). Registrované názvy, ochranné známky atd. použité v tomto dokumentu, i když nejsou výslovně takto označeny, nelze považovat za nechráněné zákonem.

Self-screen B.V. je zákonný výrobce produktu QIAscreen HPV PCR Test.

Produkt QIAscreen HPV PCR Test vyrábí pro společnost QIAGEN společnost Self-screen B.V.

1132289CS 06/2023 HB-2579-004 © 2023 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

Objednávky www.qiagen.com/shop | Technická podpora support.qiagen.com |
Webová stránka www.qiagen.com