

Juni 2023

# Gebruiksaanwijzing (handleiding) QIAscreen<sup>®</sup> HPV PCR Test



Versie 1



Voor in-vitrodiagnostisch gebruik

Voor gebruik met Rotor-Gene<sup>®</sup> Q MDx-apparaat



617005



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



R3 1132289NL

# Inhoudsopgave

Beoogd gebruik.....	4
Samenvatting en uitleg .....	5
Uitgangspunt van de procedure.....	6
Meegeleverde materialen .....	7
Benodigde maar niet-meegeleverde materialen .....	8
Verbruiksartikelen, reagentia en instrumenten voor monsterbereiding.....	8
Verbruiksartikelen voor het Rotor-Gene Q MDx-instrument.....	8
Apparatuur.....	8
Apparatuur voor extractie en realtime PCR .....	9
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen .....	10
Veiligheidsinformatie .....	10
Algemene voorzorgsmaatregelen .....	10
Opslag en hantering van reagentia .....	12
Bewaren en hanteren van specimen .....	13
Monsterbereiding .....	15
Protocol: QIAscreen HPV PCR Test in het Rotor-Gene Q MDx-instrument.....	18
PCR op Rotor-Gene Q MDx-instrumenten met rotor voor 72 buisjes.....	21
Interpretatie van de resultaten .....	24
Beperkingen.....	26
Prestatiekenmerken .....	28
Detectielimiet (Limit of Detection, LoD) .....	28
Analytische specificiteit .....	29

Klinische prestaties op cervixspecimens (uitstrijkjes) .....	29
Reproduceerbaarheid* .....	30
Prestaties van de zelf-afgenomen (cervico)vaginale specimens .....	30
Interfererende stoffen* .....	30
Referenties .....	31
Gids voor probleemoplossing .....	33
Symbolen .....	35
Contactgegevens .....	36
Bestelgegevens .....	37
Geschiedenis van herziening document .....	39

# Beoogd gebruik

De QIAscreen HPV PCR Test is een realtime, PCR-gebaseerde, in-vitrotest voor de kwalitatieve bepaling van HPV-DNA (humaan papillomavirus-DNA) van de volgende 15 (waarschijnlijk) hoog-risico HPV-genotypes, d.w.z. 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 en 68.

Tot monsters die met de QIAscreen HPV PCR Test kunnen worden getest, behoort DNA van specimens die op de volgende manieren afgenomen zijn:

- Cervixspecimens die zijn afgenomen met een cervixborstel of een endocervicale borstel (afgenomen door een arts)
- Vaginale specimens die zijn afgenomen met een cervixborstel/endocervicale borstel of een lavage-hulpmiddel (zelf afgenomen)

## Indicaties voor gebruik:

- Als primaire test voor de screening van vrouwen op het risico van (het voorstadium van) cervixkanker, om te bepalen of verwijzing voor colposcopie of andere vervolgpcedures noodzakelijk is.
- Als vervolgtest voor vrouwen met een uitslag van de paptest die duidt op atypische plaveiselcellen waarvan de significantie niet is vastgesteld (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) of laaggradige squameuze intra-epitheliale neoplasie (low-grade squamous intra-epithelial neoplasia, LSIL) om te bepalen of colposcopie of andere vervolgpcedures noodzakelijk is.

Dit product is bedoeld voor professioneel gebruik, zoals door technici en laboranten die zijn getraind in procedures op basis van in-vitrodiagnostiek, moleculair biologische technieken en het Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM-systeem.

## Samenvatting en uitleg

Humaan papillomavirussen (human papillomavirus, HPV) behoren tot de familie Papillomaviridae en zijn kleine dubbelstrengs-DNA-virussen. Het circulaire genoom is ongeveer 7,9 kilo groot. Meer dan 100 soorten HPV zijn vastgesteld, waarbij bepaalde HPV-typen, die bekend staan als hoog-risico HPV (high-risk HPV, hrHPV) zoals HPV 16 en 18, geassocieerd worden met de inductie van mucosale laesies die zich kunnen ontwikkelen tot maligniteit. Cervixkanker en de precursor-laesies (cervicale intra-epitheliale neoplasie (cervical intraepithelial neoplasia, CIN)) zijn de meest bekende complicaties van een aanhoudende infectie met een hoog-risico HPV-type (1-3).

Het virale genoom bevat vroege (early, E) en late (late, L) genen, die eiwitten coderen die nodig zijn voor de respectievelijk vroege en late stadia van de HPV-levenscyclus. De E6 en E7-genproducten van hrHPV-typen hebben carcinogene eigenschappen en zijn noodzakelijk voor maligne transformatie van de gastheer cel (4). Kwaadaardige progressie wordt vaak geassocieerd met virale integratie in het genoom van de gastheer cel (5). Integratie resulteert in een onderbreking van het virale genoom in een regio die zich kan uitstrekken van het open leesraam van E1 tot L1 (6). Dit kan gevolgen hebben voor PCR-gemedieerde amplificatie van viraal DNA in deze regio's. Omdat niet alleen de initiatie, maar ook het behoud van het getransformeerde fenotype afhangt van continue blootstelling aan de virale oncoproteïnen (7, 8), blijft het virale E6/E7-gebied onveranderlijk in geïntegreerde virale genomen bij cervixkanker (6). De QIAscreen HPV PCR Test richt zich op een geconserveerd gebied binnen het E7-gen. De assay is klinisch gevalideerd volgens de internationale richtlijnen voor HPV-detectieassays en in andere onderzoeken (9, 10, 14, 15).

# Uitgangspunt van de procedure

De QIAscreen HPV PCR Test is een multiplex, realtime PCR-gebaseerde test gericht op het E7-gen van 15 (waarschijnlijk) hrHPV-typen en die fluorescerende probes gebruikt voor de detectie van één of meer accumulerende PCR-producten. Tijdens elke PCR-cyclus neemt de fluorescente reactie op een logaritmische manier toe, wat resulteert in een amplificatiecurve. Zodra de amplificatiecurve van het doelwit boven de drempelwaarde komt, wordt het monster als positief voor dat doel beschouwd. Het multiplexformaat maakt de gelijktijdige detectie van vier verschillende fluorescerende kleurstoffen per reactie mogelijk, waarbij elke fluorescerende kleurstof verschillende doelen vertegenwoordigt. De vier verschillende doelen zijn: **1.** HPV 16, **2.** HPV 18, **3.** de 13 andere hrHPV-typen als een pool en **4.** het humane  $\beta$ -globinegen. De QIAscreen HPV PCR Test detecteert afzonderlijk HPV 16, HPV 18 en de pool van 13 andere hrHPV-genotypen. Het menselijke  $\beta$ -globinegen wordt gebruikt als monstercontrole die zowel de kwaliteit van het DNA-monster als de aanwezigheid van potentiële remmende stoffen bepaalt.

# Meegeleverde materialen

## Inhoud van de kit

<b>QIAscreen HPV PCR Test Kit</b>		<b>72 reacties</b>
<b>Catalogusnr.</b>		<b>617005</b>
QIAscreen Master Mix (1 tube)	Transparante kleur	1080 µL
QIAscreen Positive Control (QIAscreen positieve controle) (1 tube)	Transparante kleur	100 µL
QIAscreen Negative Control (QIAscreen negatieve controle) (1 tube)	Transparante kleur	100 µL
<i>Gebruiksaanwijzing QIAscreen HPV PCR Test (handleiding)</i>		1

# Benodigde maar niet-meegeleverde materialen

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB) die bij de leveranciers van de producten verkrijgbaar zijn.

## Verbruiksartikelen, reagentia en instrumenten voor monsterbereiding

- Hologic PreservCyt® Solution (voor opslag van zelf af te nemen monsters)
- Standaardkits voor DNA-extractie, zoals QIAamp® DSP Virus Spin Kit (QIAGEN, cat.nr. 61704) en QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit (QIAGEN, cat.nr. 937055) en NucleoMag 96 Tissue kit (Macherey-Nagel, cat.nr. 744300)
- PBS voor het verwerken van cervixspecimens in PreservCyt verzamelmedium
- AL buffer (QIAGEN, cat.nr. 19075) voor de voorbehandeling van cervixspecimens verzameld in SurePath en CellSolutions verzamelmedium

## Verbruiksartikelen voor het Rotor-Gene Q MDx-instrument

- 0,1 mL stripbuisjes en dopjes, voor gebruik met de 72-Well Rotor (QIAGEN, cat.nr. 981103 of cat.nr. 981106)

## Apparatuur

- Specifieke pipetten\* (aanpasbaar) voor PCR (1–10 µL; 10–100 µL)
- Speciale filter-plugged steriele DNase-vrije pipetpunten
- Wegwerphandschoenen
- Tafelcentrifuge\*
- Vortexmixer\*

\* Zorg ervoor dat de instrumenten worden gecontroleerd en gekalibreerd volgens de aanbevelingen van de fabrikant.



## Apparatuur voor extractie en realtime PCR

- QIAasymphony SP-module (cat.nr. 9001297) (voor optionele geautomatiseerde extractie)
- Rotor-Gene Q 5plex HRM System (cat.nr. 9002033) of Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM-instrument (cat.nr. 9002032) met Rotor-Gene Q-software versie 2.3.1 of hoger\*
- QIAscreen run template voor Rotor-Gene Q. Het template heeft de naam '**QIAscreen RGQ profile v1.0.ret**'.
- QIAscreen-kanal analysemodellen voor de kanalen groen (HPV-16), geel (HPV-andere), oranje ( $\beta$ -globine) en rood (HPV-18). De sjablonen hebben de bestandsextensie '.qut'.

\* Indien van toepassing, Rotor-Gene Q 5plex HRM-instrument met een productiedatum van januari 2010 of later. De productiedatum kan worden achterhaald via het serienummer op de achterkant van het apparaat. Het serienummer heeft de notatie 'mmjjnnn', waarbij 'mm' de productiemaand aangeeft in cijfers, 'jj' de laatste twee cijfers van het productiejaar en 'nnn' het unieke identificatienummer van het instrument aangeeft.

# Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

## Veiligheidsinformatie

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB). Deze zijn als handige en compacte PDF online beschikbaar op [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety). Hier kunt u ook de VIB voor elke QIAGEN-kit en elk onderdeel van de kit vinden, bekijken en afdrukken.

- De QIAscreen HPV PCR Test positieve en negatieve controles bevatten natriumazide als conserveermiddel (0,01%). Natriumazide kan reageren met loden en koperen leidingen om explosieve metaalaziden te vormen. Bij afvoer via de gootsteen, de afvoerleidingen doorspoelen met grote hoeveelheden koud water om ophoping van azide te voorkomen.

## Algemene voorzorgsmaatregelen

Voor het gebruik van PCR-testen zijn goede laboratoriumtechnieken vereist, waaronder onderhoud van de apparatuur, die gelden voor moleculaire biologie en die voldoen aan de geldende regelgeving en relevante normen.

Besteed altijd aandacht aan het volgende:

- Draag beschermende, poedervrije wegwerphandschoenen, een laboratoriumjas en oogbescherming wanneer u met specimen werkt.
- Voorkom microbiële besmetting en nuclease (DNase) van het specimen en de kit. DNase kan degradatie van de DNA-mol veroorzaken.
- Voorkom besmetting door carry-over van DNA- of PCR-producten, wat kan resulteren in een fout-positieve reactie.
- Gebruik altijd DNase-vrije wegwerpbaar pipetpunten met aerosolbescherming.

- Reagentia van de QIAscreen HPV PCR Test zijn optimaal verdund. Verdun reagentia niet verder, omdat dit tot prestatieverlies kan leiden.
- Alle reagentia die worden geleverd in de QIAscreen HPV PCR Test zijn uitsluitend bedoeld om te worden gebruikt met de andere reagentia die in dezelfde kit worden geleverd. Reagens uit de ene QIAscreen HPV PCR Test-kit mag niet vervangen worden met hetzelfde reagens uit een andere testkit, zelfs niet uit dezelfde batch, omdat dit de prestaties kan beïnvloeden.
- Raadpleeg de gebruikershandleiding van het Rotor-Gene Q MDx-instrument voor aanvullende waarschuwingen, voorzorgsmaatregelen en procedures.
- Voordat de eerste run van de dag wordt uitgevoerd, moet een opwarmrun worden uitgevoerd voor de Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM op 95 °C gedurende 10 minuten.
- Het hanteren van andere incubatietijden of temperaturen kan leiden tot foutieve of strijdige gegevens.
- Gebruik geen onderdelen van de kit die de houdbaarheidsdatum hebben overschreden of die verkeerd zijn bewaard.
- Minimaliseer blootstelling van de componenten aan licht: de samenstelling van de mengsels kan veranderen door de blootstelling aan licht.
- Wees uiterst voorzichtig om besmetting van de mengsels met de synthetische materialen die zich in de PCR-reagentia bevinden, te voorkomen.
- Gooi afval van het monster en de assay weg conform uw lokale veiligheidsprocedures.

# Opslag en hantering van reagentia

## Leveringsvoorwaarden

De QIAScreen HPV PCR Test wordt op droogijs verzonden. Als een onderdeel van de QIAScreen HPV PCR Test niet wordt ingevroren bij aankomst, de buitenverpakking tijdens het transport is geopend of de zending geen pakbon, handleiding of de reagentia bevat, neem dan contact op met een van de technische serviceafdelingen van QIAGEN of lokale leveranciers (visit [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Opslagcondities

De QIAScreen HPV PCR Test moet na ontvangst onmiddellijk bij -30 °C tot -15 °C worden bewaard in een vriezer met constante temperatuur en beschermd tegen licht.

## Stabiliteit


Wanneer bewaard onder de genoemde opslagomstandigheden, is de QIAScreen HPV PCR Test betrouwbaar tot de aangegeven vervaldatum op het etiket van de verpakking.

Na opening kunnen de reagentia worden bewaard in de originele verpakking bij -30 tot -15 °C. Herhaaldelijk ontdooien en invriezen moet worden vermeden. Niet vaker dan 5 keer invriezen/ontdooien.

- Meng voorzichtig door het buisje 10 keer om te keren en centrifugeer alle buizen voor opening.
- Houdbaarheidsdata voor elk reagens staan vermeld op de etiketten van de afzonderlijke componenten. Bij de juiste bewaarcondities blijven de prestaties van het product tot de vermelde tijd stabiel zolang dezelfde partijen componenten worden gebruikt.
- Tijdens de procedures voor kwaliteitscontrole van QIAGEN worden op iedere afzonderlijke kitpartij functionele testen uitgevoerd. Meng geen reagentia uit verschillende kits, ook niet als ze van dezelfde partij zijn.

Let op de vervaldata en opslagcondities die op de verpakking en etiketten van alle componenten staan vermeld. Gebruik geen componenten na de uiterste gebruiksdatum of die op een verkeerde manier zijn bewaard.

## Bewaren en hanteren van specimens

<p><b>VOORZICHTIG</b></p> 	<p>Alle specimens moeten als potentieel infectieus materiaal worden behandeld.</p>
---	--

### Cervixspecimens

De QIAscreen HPV PCR Test is voor gebruik met genomische DNA-monsters verkregen uit cervixspecimens (uitstrijkjes). Gevalideerde verzamelmedia voor cervixspecimens (uitstrijkjes) zijn PreservCyt, CellSolutions®, Pathtezt® en Surepath®. De optimale opslagtemperatuur van de klinische monsters is 2–8 °C bij aankomst in het laboratorium. Onder deze opslagomstandigheden zijn monsters in het PreservCyt-verzamelmedium 3 maanden stabiel en in Surepath-verzamelmedium zijn ze 2 weken stabiel voorafgaand aan DNA-extractie.

Cervicale monsters die zijn verzameld in PreservCyt kunnen tot 210 dagen na monsterafname bewaard worden bij 18–25 °C, tot tweeënhalf jaar bij 2–8 °C en tot twee jaar bij < 20 °C. Cervixmonsters die zijn verzameld in Surepath kunnen na monsterafname tot 10 weken worden bewaard bij 2–30 °C, tot 2,5 jaar bij 2–8 °C en tot 210 dagen bij < 20 °C.

## Zelfafnametest vaginale uitstrijkjes

De QIAscreen HPV PCR Test is bedoeld voor gebruik met genomische DNA-monsters die worden geëxtraheerd uit zelf afgenomen uitstrijkjes en cervico-vaginale lavage-specimens. Vaginale uitstrijkjes verkregen door middel van zelfafnametests kunnen droog of in zoutoplossing (0,9% g/v NaCl) worden verzameld en verzonden en, bij aankomst in het laboratorium, worden bewaard in PreservCyt. Vaginale specimensmonsters verkregen door middel van zelfafnametests worden droog of in zoutoplossing (0,9% g/v NaCl) verzameld en verzonden en, bij aankomst in het laboratorium, bewaard in PreservCyt. Monsters verkregen door cervico-vaginale lavage worden droog of in zoutoplossing (0,9% g/v NaCl) verzameld en verzonden en opgeslagen in PreservCyt bij aankomst in het laboratorium. Monsters uit zelfafnametests die zijn verzameld in PreservCyt kunnen na monsterafname tot 210 dagen worden bewaard bij 18-25 °C, tot 2,5 jaar bij 2-8 °C en tot 2 jaar bij < 20 °C.

## Monsters van genomisch DNA

Zodra genomisch DNA is geëxtraheerd, kan het gedurende een korte tijd worden bewaard bij 2–8 °C (≤ 2 dagen) of bij -30 °C tot -15 °C gedurende maximaal 12 maanden.

# Monsterbereiding

## DNA-extractie

Standaard DNA-extractiekits (bijv. kits op basis van kolommen en magnetische korrels, zoals QIAamp® DSP Virus Spin Kit, QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit, en NucleoMag 96 Tissue kit, (Macherey-Nagel) zijn compatibel met deze test. De bedieningsgegevens voor de QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi worden hieronder geïndiceerd.

## Klinische specimens in PreservCyt of PathTezt verzamelmedium

De DNA-fractie van cervixspecimens (uitstrijkjes) gesuspendeerd in PreservCyt of PathTezt verzamelmedium die als input in de PCR worden gebruikt, vertegenwoordigen 0,125% van het 20 mL PreservCyt of PathTezt cervicale uitstrijkje. Dit komt overeen met 25 µL van de oorspronkelijke monstertypen. Aangezien maximaal slechts 5 µL geëxtraheerd DNA kan worden gebruikt als input in de PCR, moeten DNA-extractieprocedures zodanig worden uitgevoerd dat 5 µL DNA-extract overeenkomt met 25 µL van het cervixspecimen (uitstrijkje) om er zeker van te zijn dat de juiste fractie van het cervicale monster wordt gebruikt in de PCR. Equivalente media met (bijv. Surepath) of zonder (bijv. PreservCyt) formaldehyde moeten op dezelfde wijze worden verwerkt.

**Belangrijk:** PreservCyt-medium kan het DNA-extractieproces verstoren. Dit kan op twee verschillende manieren opgelost worden.

1. Verdun het aliquot van het PreservCyt-specimen in gelijke delen PBS of lysisbuffer uit de kit voor DNA-extractie en meng dit voordat u de DNA-extractie start. Zorg ervoor dat het totale monstervolume compatibel is met de kit voor DNA-extractie. Als het totale volume te hoog wordt voor de extractiekit, wordt het aanbevolen methode 2 te gebruiken, die hieronder wordt vermeld.

2. Centrifugeer het PreservCyt-monster ( $\geq 3400 \times g$  gedurende 10 minuten) en verwijder het supernatant. De pellet wordt geresuspendeerd in geschikt volume PBS of lysisbuffer dat compatibel is met de kit voor DNA-extractie (voor de QIAamp DSP Virus Spin Kit: resuspendeer in 200  $\mu\text{L}$  PBS en volg de instructies van de fabrikant voor DNA-extractie, elueer in 100  $\mu\text{L}$ ; voor de Margery Nagel Nucleomag96 tissue kit: resuspendeer in 100  $\mu\text{L}$  buffer T1 van die kit en volg de instructies van de fabrikant, elueer in 100  $\mu\text{L}$ )

Gelijkwaardige media moeten op dezelfde manier verwerkt worden.

## Bedieningsgegevens QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit

QSDSP-protocol: 500  $\mu\text{L}$  cervicale monster in PreservCyt wordt gemengd met 500  $\mu\text{L}$  PBS. Een geïntegreerde run die het Complex800\_V6\_DSP-protocol uitvoert is gestart op de QIASymphony na de stappen die zijn beschreven in 'QIASymphony® SP/AS geconsolideerde bedieningshandleiding – 12.3 Geïntegreerde run'. DNA wordt geëluëerd in 60  $\mu\text{L}$  en 5  $\mu\text{L}$  wordt gebruikt voor de QIAScreen HPV PCR Test. Als u alleen de QIASymphony SP-module gebruikt, wordt er een monsterbereidingsrun van het Complex800\_V6\_DSP-protocol uitgevoerd met het QIASymphony SP-apparaat. Volg de stappen in 'Gebruiksaanwijzing (Handleiding) QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit – Algemeen zuiveringsprotocol'.

De DNA-fractie van cervixspecimens (uitstrijkjes) geresuspendeerd in SurePath of CellSolutions verzamemedium die als input in de PCR worden gebruikt, vertegenwoordigen 0,25% van het 10 mL SurePath of CellSolutions cervicale uitstrijkje. Dit komt overeen met 25  $\mu\text{L}$  van het oorspronkelijke monster. Aangezien maximaal slechts 5  $\mu\text{L}$  geëxtraheerd DNA kan worden gebruikt als input in de PCR, moeten monstervolume en DNA-elutievolume zodanig worden geselecteerd dat 5  $\mu\text{L}$  DNA-extract overeenkomt met 25  $\mu\text{L}$  van het cervixspecimen (uitstrijkje) om er zeker van te zijn dat de juiste fractie van het cervicale monster wordt gebruikt in de PCR.

**BELANGRIJK:** Klinische specimens die zijn verzameld in SurePath en CellSolutions medium moet voorbehandeld worden voorafgaand aan gebruik om door formaldehyde veroorzaakte crosslinking te overwinnen met het hieronder beschreven protocol.



## Voorbehandeling cervixspecimens verzameld in SurePath en CellSolutions verzamelmedium:

3. Meng het SurePath of CellSolutions specimen met een 1:1 volume AL buffer (QIAGEN) en meng dit grondig.
4. Incubeer bij 90 °C gedurende 20 minuten en laat vervolgens vooraf de volgende stap op kamertemperatuur komen voordat u verdergaat met DNA-extractie.

Gelijkwaardige media die formaldehyde bevatten, moeten op dezelfde manier verwerkt worden.

Voor vaginale uitstrijkjes gesuspenseerd in Hologic PreservCyt Solution die zijn verkregen door middel van zelfafnametests, moeten DNA-extractieprocedures zodanig worden uitgevoerd dat 5 µL DNA-extract dat als input in de PCR wordt gebruikt 0,5% van het vaginale monster vertegenwoordigt. De vaginale zelfafnametest zal bijvoorbeeld worden gesuspenseerd in 2 mL PreservCyt Solution. 5 µL input-DNA komt overeen met 10 µL van de suspensie van de zelfafnametest.

De DNA-fractie voor specimen verkregen door vaginale lavage die als input in de PCR wordt gebruikt, vertegenwoordigt 0,5% van het vaginale monster. Dus, in het geval van een totaal lavagevolume van 3 mL, zouden DNA-extractieprocedures zodanig moeten worden uitgevoerd dat 5 µL input-DNA overeenkomt met 15 µL van het oorspronkelijke lavage-monster.

# Protocol: QIAscreen HPV PCR Test in het Rotor-Gene Q MDx-instrument

## Wat u moet weten voordat u begint

Neem de tijd om vertrouwd te raken met het Rotor-Gene Q MDx-instrument voordat u met het protocol begint. Raadpleeg de gebruikershandleiding van het apparaat.

Voordat de eerste run van de dag wordt uitgevoerd, moet een opwarmrun worden uitgevoerd voor de Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM op 95 °C gedurende 10 minuten.

Voor het uitvoeren van de test is een Rotor-Gene Q software-template vereist. Zorg ervoor dat de template QIAscreen RGQ-profiel v1.0.ret wordt gebruikt.

Om de test voor elk van de vier detectiekanalen te analyseren, is een Rotor-Gene Q-serie software-template vereist. Zorg ervoor dat de juiste template wordt gebruikt voor elk kanaal, zoals hieronder staat beschreven:

- 'QIAscreen RGQ Green Channel analysis template.qut' moet worden gebruikt voor analyse van de reacties in het groene kanaal (HPV 16).
- 'QIAscreen RGQ Orange Channel analysis template.qut' moet worden gebruikt voor analyse van de reacties in het oranje kanaal ( $\beta$ -globine).
- 'QIAscreen RGQ Yellow Channel analysis template.qut' moet worden gebruikt voor analyse van de reacties in het gele kanaal (HPV-Overige).
- 'QIAscreen RGQ Red Channel analysis template.qut' moet worden gebruikt voor analyse van de reacties in het rode kanaal (HPV 18).

## Monsterverwerking op Rotor-Gene Q MDx-instrumenten met rotor van 72-tubes

Tot 70 genomische DNA-monsters kunnen binnen hetzelfde experiment worden getest, naast een positieve en een negatieve controle. Het schema in tabel 1 is een voorbeeldweergave van een laadblok- of rotoropstelling voor een experiment met de QIAscreen HPV PCR Test. De plek in het laadblok en de uiteindelijke plek in de rotor worden aangegeven met een getal.

**Tabel 1. Plaat- en rotoropstelling voor een experiment met de QIAScreen HPV PCR Test op het Rotor-Gene Q MDx-instrument**

Strip	Positie van het buisje	Naam van het monster	Strip	Positie van het buisje	Naam van het monster	Strip	Positie van het buisje	Naam van het monster
<b>1</b>	1	Positieve controle	<b>7</b>	25	Monster 23	<b>13</b>	49	Monster 47
	2	Negatieve controle		26	Monster 24		50	Monster 48
	3	Monster 1		27	Monster 25		51	Monster 49
	4	Monster 2		28	Monster 26		52	Monster 50
<b>2</b>	5	Monster 3	<b>8</b>	29	Monster 27	<b>14</b>	53	Monster 51
	6	Monster 4		30	Monster 28		54	Monster 52
	7	Monster 5		31	Monster 29		55	Monster 53
	8	Monster 6		32	Monster 30		56	Monster 54
<b>3</b>	9	Monster 7	<b>9</b>	33	Monster 31	<b>15</b>	57	Monster 55
	10	Monster 8		34	Monster 32		58	Monster 56
	11	Monster 9		35	Monster 33		59	Monster 57
	12	Monster 10		36	Monster 34		60	Monster 58
<b>4</b>	13	Monster 11	<b>10</b>	37	Monster 35	<b>16</b>	61	Monster 59
	14	Monster 12		38	Monster 36		62	Monster 60
	15	Monster 13		39	Monster 37		63	Monster 61
	16	Monster 14		40	Monster 38		64	Monster 62
<b>5</b>	17	Monster 15	<b>11</b>	41	Monster 39	<b>17</b>	65	Monster 63
	18	Monster 16		42	Monster 40		66	Monster 64
	19	Monster 17		43	Monster 41		67	Monster 65
	20	Monster 18		44	Monster 42		68	Monster 66
<b>6</b>	21	Monster 19	<b>12</b>	45	Monster 43	<b>19</b>	69	Monster 67
	22	Monster 20		46	Monster 44		70	Monster 68
	23	Monster 21		47	Monster 45		71	Monster 69
	24	Monster 22		48	Monster 46		72	Monster 70

Opmerking: Vul alle ongebruikte posities met lege buisjes.

## PCR op Rotor-Gene Q MDx-instrumenten met rotor voor 72 buisjes

1. Stel de QIAscreen HPV PCR Test in.

**Opmerking:** Om het risico op besmetting met PCR-reacties te minimaliseren, wordt ten zeerste aangeraden een PCR-kast met UV-stralingsbescherming te gebruiken.

**Belangrijk:** Verstrekking van de QIAscreen Master Mix moet op een andere locatie dan de DNA-extractie worden uitgevoerd.

1a. Reinig het werkgebied, de pipetten en het buizenrek vóór gebruik met een DNA-afbrekende oplossing om template- of nucleasebesmetting te voorkomen.

**Opmerking:** Vervang voor elk buisje de tip om elke besmetting door een niet-specifieke template of reactiemengsel te voorkomen die tot fout-positieve resultaten kan leiden.

1b. Meng voorzichtig door 10 keer inverteren, daarna kort centrifugeren voor gebruik om de oplossing op de bodem van het buisje te verzamelen.

1c. Voeg 15 µL van de QIAscreen Master Mix toe aan de relevante buisjes van de buisstrips (tot maximaal 72 buizen per Rotor-Gene Q MDx-run). De reactieopstelling kan worden uitgevoerd bij kamertemperatuur.

1d. Zet de QIAscreen Master Mix terug in de vriezer om afbraak van het materiaal te voorkomen. Verplaats de buisjes naar een ander gebied om de QIAscreen Positive Control en het DNA-monster te verstrekken.

1e. Voeg 5 µL van de negatieve controle toe aan buispositie 2, meng door op en neer te pipetteren of door tegen het buisje te tikken en sluit het buisje af door de dop op het buisje te drukken.

1f. Voeg 5 µL van de QIAscreen Positive Control toe aan buispositie 1, meng door op en neer te pipetteren of door tegen het buisje te tikken en sluit het buisje af.

**Opmerking:** Vervang voor elk buisje de tip om elke besmetting door een niet-specifieke template of reactiemengsel te voorkomen die tot fout-positieve resultaten kan leiden.

1g. Voeg 5 µL van het DNA-monster toe aan de relevante buisjes die de QIAscreen Master Mix bevatten, meng door op en neer te pipetteren of door tegen de buisjes te tikken en sluit deze af door de doppen op de buisjes te drukken.

1h. Sluit de buisjes af zodra een set van 4 buisjes is gevuld.

Opmerking: De PCR-buisjes kunnen 30 minuten worden bewaard in de machine bij 2-8 °C in het donker in de periode tussen het pipetteren van monsters in de PCR-buisjes en het begin van het experiment.

2. Bereid de Rotor-Gene Q MDx voor en start het experiment als volgt:

**Belangrijk:** Voordat de eerste run van de dag wordt uitgevoerd, moet een opwarmrun worden uitgevoerd voor de Rotor-Gene Q MDx 5-plex HRM op 95 °C gedurende 10 minuten.

2a. Plaats een 72-Well Rotor op de rotorhouder.

2b. Vul de rotor met stripbuisjes conform de toegewezen posities. Start daarbij bij positie 1, zoals staat aangeduid in tabel 1. In alle ongebruikte posities dienen lege stripbuisjes met dop te worden geplaatst.

**Opmerking:** Zorg ervoor dat het eerste buisje op positie 1 wordt geplaatst en dat de stripbuisjes in de juiste richting worden geplaatst op de posities die in tabel 1 worden weergegeven.

2c. Bevestig de borgring.

2d. Laad het Rotor-Gene Q MDx-instrument met de rotor en de borgring en sluit het deksel van het instrument.

2e. Ga naar het venster New Run (Nieuwe run) en klik op Open a template in another folder... (Open een template in een andere map).

2f. Selecteer het QIAscreen run template (QIAscreen run-template) met de naam QIAscreen RGQ profile v1.0.ret.

2g. Selecteer Rotor type (Rotortype): 72-Well Rotor en Locking ring attached (Borgring bevestigd) en klik op Next (Volgende).

2h. Voer bij de operator de initialen in en klik op Next (Volgende).

2i. Klik op Next (Volgende) in het volgende scherm.

2j. Klik op Start run (Run starten).

Klik op Edit samples (Monsters wijzigen) om de monsters een naam te geven (dit kan ook worden gedaan nadat de run is voltooid).

**Tabel 2. Doel- en kanaalinstellingen\***

Doelwit	Detectiekanaal
$\beta$ -globine	Orange
HPV 16	Green
HPV 18	Red
HPV overige*	Yellow

\* HPV overige omvat de pool van 13 non-16/18 HPV-typen.

3. Analyseer de data.
  - 3a. Selecteer de buisjes die worden gebruikt voor analyse.
  - 3b. Ga naar het venster Analysis tool (Analysehulpmiddel), selecteer Cycling A. Green en klik op Show (Tonen). Klik op Import (Importeren) onder Imported Settings (Geïmporteerde instellingen) (rechtsonderin het venster) en selecteer het bestand QIAScreen RGQ Green Channel analysis template.qut. Selecteer Cycling A. Green en klik op Hide (Verbergen).
  - 3c. Selecteer Cycling A. Orange en klik op Show (Tonen). Klik op Import (Importeren) onder Imported Settings (Geïmporteerde instellingen) en selecteer het bestand QIAScreen RGQ Orange Channel analysis template.qut. Selecteer Cycling A. Orange en klik op Hide (Verbergen).
  - 3d. Selecteer Cycling A. Red en klik op Show (Tonen). Klik op Import (Importeren) onder Imported Settings (Geïmporteerde instellingen) en selecteer het bestand QIAScreen RGQ Red Channel analysis template.qut. Selecteer Cycling A. Red en klik op Hide (Verbergen).
  - 3e. Selecteer Cycling A. Yellow en klik op Show (Tonen). Klik op Import (Importeren) onder Imported Settings (Geïmporteerde instellingen) en selecteer het bestand QIAScreen RGQ Yellow Channel analysis template.qut.
  - 3f. Klik op Save (Opslaan).
  - 3g. OPTIONEEL: Voor interpretatie van de resultaten kunnen de gegevens worden geëxporteerd als een .csv-bestand. Ga naar File (Bestand) > Save as (Opslaan als) > Excel Analysis Sheet (Excel Analyse-sheet) en sla het exportbestand op.
4. Maak het Rotor-Gene Q MDx-instrument weer leeg en gooi de stripbuisjes weg conform de lokale veiligheidsvoorschriften.

# Interpretatie van de resultaten

De validatiecriteria voor de run en het monster worden hieronder weergegeven onder respectievelijk A en B. Passende maatregelen worden weergegeven indien aan één (of meer) criteria niet wordt voldaan.

## A. Validatiecriteria van QIAscreen HPV PCR Test-controles

Doelen in de QIAscreen Positive Control zouden  $C_T$ -waarden moeten weergeven die lager zijn dan 29 voor  $\beta$ -globine, lager dan 30 voor HPV 16 en 18 en lager dan 32 voor HPV-andere. Als dit niet het geval is en de analyse-instellingen correct zijn, moet het experiment worden herhaald.

Geen van de doelen in de QIAscreen Negative Control zou een reactie moeten geven boven de drempel tot het einde van de PCR-run (d.w.z. cyclus 40 of niet gedefinieerd). Als vóór cyclus 40 een reactie wordt gezien en de analyse-instellingen correct zijn, moet het experiment worden herhaald.

**Opmerking:** Als de controles niet voldoen aan de vastgestelde limieten en herhaling van de controles fouten in de techniek uitsluit, dient u de volgende punten te controleren:

- Vervaldatum op de verpakking van het reagens
- Temperatuur van de reagentia
- Instellingen van het PCR-systeem en de software
- Besmetting

Neem contact op met de klantenservice van de fabrikant of uw lokale distributeur als de controles nog steeds niet kloppen.



## B. Interpretatie van de monsterresultaten

Het resultaat voor een monster wordt als volgt vastgesteld (tabel 3).

Tabel 3. Interpretatie van de resultaten

$C_T$ waarde HPV-doel(en)	$C_T$ waarde $\beta$ -globine	Interpretatie
1 HPV 16 en/of HPV 18 < 36 en/of HPV-Overige < 33,5	Elke waarde	HPV-positief
2 HPV 16 en HPV 18 $\geq$ 36 of niet gedefinieerd en HPV-Overige $\geq$ 33,5 of niet gedefinieerd	$\leq$ 30	HPV-negatief
3 HPV 16 en HPV 18 $\geq$ 36 of niet gedefinieerd en HPV-Overige $\geq$ 33,5 of niet gedefinieerd	>30	Invalid (Ongeldig)

**1. HPV-positief.** Wanneer de  $C_T$ -waarde(n) van HPV 16 en/of HPV 18 <36 is (zijn) en/of overig HPV <33,5 is (ongeacht de  $C_T$ -waarde van  $\beta$ -globine). Het kanaal geeft het/de aanwezige type(n) weer. **2. HPV-negatief.** Wanneer de  $C_T$ -waarde van  $\beta$ -globine  $\leq$ 30 is en de  $C_T$ -waarde van HPV 16 en HPV 18  $\geq$ 36 zijn of geen signaal weergeven en HPV-Overige  $\geq$ 33,5 is of geen signaal weergeeft. **3. Ongeldig.** Wanneer de  $C_T$ -waarde van  $\beta$ -globine >30 is en de  $C_T$ -waarden van HPV 16 en HPV 18  $\geq$ 36 zijn of geen signaal weergeven en HPV-Overige  $\geq$ 33,5 is of geen signaal weergeeft.

# Beperkingen

- Voor het aangegeven beoogde gebruik moet de test worden uitgevoerd op exemplaren van cervicale uitstrijkjes of (cervico-)vaginale specimens verzameld door middel van een zelfafnametest. De QIAScreen HPV PCR Test is echter ook geëvalueerd voor gebruik met DNA geëxtraheerd uit formaline-gefixeerde en in paraffine ingebedde (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE) biopsiespecimens.
- Het verzamelen, transporteren en opslaan van specimens kan het aantal kopieën van een doelwit in het specimen beïnvloeden, wat een mogelijk fout-positief of fout-negatief resultaat kan veroorzaken.
- Deze instructies zijn alleen van toepassing op het Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM-instrument.
- Slechte prestaties bij DNA-extractie kunnen leiden tot ongeldige testresultaten. Raadpleeg bij aanhoudende problemen uw plaatselijke distributeur of de klantenservice van de fabrikant voor technisch advies over het DNA-extractieprotocol.
- Monsters met twijfelachtige resultaten als gevolg van het lage aantal kopieën van de doelen kunnen worden bevestigd door herhaling van analyse.
- In zeldzame gevallen kunnen cervicale laesies worden geïnduceerd door natuurlijke HPV-varianten of HPV-typen die niet het doelwit zijn van de QIAScreen HPV PCR Test.
- Reagentia van de QIAScreen HPV PCR Test mogen uitsluitend worden gebruikt voor in-vitrodiagnostiek.
- Voor het gebruik van PCR-testen zijn goede laboratoriumtechnieken vereist, waaronder onderhoud van de apparatuur, die gelden voor moleculaire biologie en die voldoen aan de geldende regelgeving en relevante normen.
- Reagentia en instructies die bij de QIAScreen HPV PCR Test zijn geleverd, zijn gevalideerd voor optimale prestaties.
- De QIAScreen HPV PCR Test moet worden gebruikt door laboratoriumprofessionals die zijn opgeleid in het gebruik van de Rotor-Gene Q MDx-instrumenten.

- Het product mag alleen worden gebruikt door personeel dat speciaal is geïnstrueerd en getraind in de technieken van realtime PCR en in de in-vitrodiagnostische procedures. Alle diagnostische resultaten die worden gegenereerd, moeten worden geïnterpreteerd in combinatie met andere klinische of laboratoriumbevindingen.
- Het strikt navolgen van de gebruiksaanwijzing (handleiding) is vereist voor optimale QIAscreen HPV PCR Testresultaten.
- Er moet worden gelet op de vervaldatum die op de verpakkingen en etiketten van alle componenten zijn afgedrukt. Gebruik geen componenten waarvan de vervaldatum is verstreken.
- Alle reagentia die worden geleverd in de QIAscreen HPV PCR Test zijn uitsluitend bedoeld om te worden gebruikt met de andere reagentia die in dezelfde kit worden geleverd. Dit kan anders van invloed zijn op de prestaties.
- Bij off-label gebruik van dit product en/of modificatie van de componenten vervalt de aansprakelijkheid van Self-screen B.V.
- Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de systeemprestaties te valideren voor alle procedures die in zijn laboratorium worden gebruikt en die niet worden gedekt door de onderzoeken naar de prestaties.

# Prestatiekenmerken

## Detectielimiet (Limit of Detection, LoD)

De detectielimiet (Limit of Detection, LoD) is vastgesteld met behulp van gBlocks (d.w.z. dubbelstrengs-DNA-geenomblokken) die gedeeltelijk het E7-gen van een HPV-genotype bevatten. De seriële drievoudige gBlock-verdunningsreeksen van de 15 doelgerichte HPV-typen (d.w.z. 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, en 68) werden bereid met een achtergrond van 50 ng menselijk DNA en achtvoudig getest. Voor  $\beta$ -globine werd de LoD vastgesteld op een drievoudige seriële verdunningsreeks in water van een gBlock dat gedeeltelijk het  $\beta$ -globine gen bevat dat achtvoudig getest is.

**Tabel 4. Detectielimiet (Limit of Detection, LoD) van de QIAscreen HPV PCR Test-assay van 15 HPV-typen en het  $\beta$ -globine gen**

Doelwit	LoD (kopieën per 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
$\beta$ -globine	617

## Analytische specificiteit\*

Analytische specificiteit werd bepaald tegen plasmide-DNA's of niet-gerichte HPV-genomen (d.w.z. HPV 6, 11, 26, 40, 42, 43, 53, 61 en 70) bij een concentratie van ten minste 46.000 kopieën/test en tegen de 3 meest potentieel pathogene vaginale micro-organismen *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* en *Candida albicans* bij een concentratie van ten minste 10.000 kopieën/test. De test vertoonde geen kruisreactiviteit met de niet-gerichte HPV-typen 6, 11, 26, 40, 42, 43, 53 en 61, of de micro-organismen. Alleen voor HPV 70 werd een positieve reactie waargenomen in het kanaal 'HPV-Overige' (d.w.z. het kanaal dat de pool van 13 non-16/18 HPV-typen detecteert), dat na verder verdunnen kon worden gedetecteerd bij >17.000 kopieën/test. HPV 70 wordt als vermoedelijk kankerverwekkend beschouwd op basis van epidemiologische, fylogenetische en functionele studies (11-13).

## Klinische prestaties op cervixspecimens (uitstrijkjes)

De klinische gevoeligheid en specificiteit van de test voor cervicale intra-epitheliale neoplasie graad 2 of hoger (CIN 2+) in cervixspecimens (uitstrijkjes) die zijn bewaard in PreservCyt werd gevalideerd in twee verschillende onderzoeken door een non-inferioriteitsanalyse met betrekking tot hoog risico HPV GP5+/6+ PCR(10) of de Hybrid Capture 2 (14) volgens de internationale richtlijnen voor de HPV-testvereisten voor screening van cervicale kanker (9). De klinische gevoeligheden voor CIN 2+ waren 96,8% (61/63) en 92,9% (91/98) en de klinische specificiteiten voor CIN 2+ waren 95,1% (783/823) en 94,2% (933/990), respectievelijk. De klinische gevoeligheid en specificiteit waren niet-inferieur aan die van de referentietest GP5+/6+ PCR (10) of Hybrid Capture 2 (14), wat wijst op een zeer goede klinische prestatie. Voor vrouwen met ASC-US of LSIL waren de waarden van de klinische gevoeligheid en specificiteit voor CIN2+ respectievelijk 97,4% (37/38; 95% BI 83,5-99,6) en 59,8% (52/87; 95% BI: 49,2-69,5), respectievelijk.(14)

\* Prestatiekenmerken worden aangegeven voor de testversie ABI7500. Equivalentieanalyse vertoonde vergelijkbare prestaties en validatie voor QIAscreen HPV PCR Test voor de Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM.

## Reproduceerbaarheid\*

De intralaboratoriumreproduceerbaarheid en interlaboratoriumovereenkomst van de test zijn gevalideerd volgens de internationale richtlijnen voor de HPV-testvereisten voor screening van cervicale kanker (9). De intralaboratoriumreproduceerbaarheid van cervixspecimens (uitstrijkjes) over de loop van de tijd was 99,5% (544/547) met een kappa-waarde van 0,99 en de interlaboratoriumovereenkomst was 99,2% (527/531) met een kappa-waarde van 0,98, wat een zeer goed resultaat aangeeft (10).

## Prestaties van de zelf-afgenomen (cervico)vaginale specimens\*

De prestatie van de zelf afgenomen (cervico)vaginale specimens is gevalideerd voor twee verschillende bemonsteringsmethoden: 1) zelf afgenomen lavage-specimens en 2) zelf afgenomen vaginale uitstrijkjes. Voor zelf afgenomen lavage-specimens was de overeenkomst met de referentietest GP5+/6+ PCR 96,7% (59/61) met een CIN 2+ gevoeligheid van 91,4% (21/23) (10). Voor zelf afgenomen vaginale uitstrijkjes was de overeenkomst met GP5+/6+ PCR 92,9% (104/112) met een CIN 2+ gevoeligheid van 93,9% (31/34) (10).

## Interfererende stoffen\*

Sporen van EDTA (0,5M), HCl (1N), silicakorrels (1 µL), bloed (1 µL), ureum (40 g/100 mL) en lysisbuffer remden de testprestaties. ETOH 96% (1 µL) en DMSO 4% (v/v) hadden geen remmend effect op de prestaties van de test. Remming wordt gecontroleerd door de monstercontrole (bijv. β-globine-doelwit).

\* Prestatiekenmerken worden aangegeven voor de testversie ABI7500. Equivalentieanalyse vertoonde vergelijkbare prestaties en validatie voor QIAscreen HPV PCR Test voor de Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM.

# Referenties

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.



# Gids voor probleemoplossing

Deze gids voor problemen oplossen kan helpen bij het oplossen van eventuele problemen. Raadpleeg ook de pagina Veelgestelde vragen (Frequently Asked Questions, FAQ) in ons centrum voor technische ondersteuning voor meer informatie: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). De wetenschappers van de technische diensten van QIAGEN beantwoorden graag al uw vragen over de informatie en/of protocollen in deze handleiding of over monster- en assaytechnologieën (kijk op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) voor contactgegevens).

## Opmerkingen en suggesties

---

### Het monster is ongelidig: de amplificatie van $\beta$ -globine is te laag of afwezig

- |    |   |  |
|----|---|--|
| a) | Pipetteerfout of reagentia niet aanwezig. Zie 'PCR op Rotor-Gene Q MDx-instrumenten met rotor voor 72 buisjes' op pagina 21 | Controleer het pipetteerschema en de instellingen van de reactie. Herhaal het monster. |
| b) | Controleer het DNA-eluaat   | Herhaal DNA-extractie.   |
- 

### De positieve controle is ongelidig: de amplificatie is te laag of afwezig voor één of meer van de doelen

- |    |   |   |
|----|---|---|
| a) | Pipetteerfout of reagentia niet aanwezig. Zie 'PCR op Rotor-Gene Q MDx-instrumenten met rotor voor 72 buisjes' op pagina 21 | Controleer het pipetteerschema en de instellingen van de reactie. Herhaal het monster.  |
| b) | Gedeeltelijke degradatie  | Bewaar de inhoud van de kit bij -15 tot -30 °C.<br>Vermijd opnieuw invriezen en ontdooien tot een maximum van vijf cycli.                                       |
| c) | Gedeeltelijke degradatie van PCR-reagentia  | Bewaar de inhoud van de kit bij een temperatuur van -15 tot -30 °C en bescherm de reactiemengsels tegen licht.<br>Vermijd herhaald ontdooien en invriezen.      |
| d) | Stripbuisje omgekeerd   | Controleer het pipetteerschema en de instellingen van de reactie.   |
| e) | Vervaldatum   | Controleer de vervaldatum van de te gebruiken kit.  |
| f) | Tijdsvertraging tussen het pipetteren van monsters en het begin van de run  | De PCR-mengsels kunnen 30 minuten worden bewaard in de machine bij 2-8 °C, in het donker, tussen het pipetteren van monsters in de PCR en het begin van de run. |

## Opmerkingen en suggesties

---

### No template controle (No template control, NTC) is ongelukkig

- |    |   |   |
|----|---|---|
| a) | Pipetteerfout of reagentia niet aanwezig. Zie 'PCR op Rotor-Gene Q MDx-instrumenten met rotor voor 72 buisjes' op pagina 21 | Controleer het pipetteerschema en de instellingen van de reactie.<br>Herhaal het monster. |
|----|---|---|

















### Reacties afwezig of laag in monster, maar de controle-run is oké

- |    |  |   |
|----|--|---|
| a) | Remmende effecten  | Controleer altijd of er geen resten van buffers zijn tijdens DNA-extractie.<br>Herhaal DNA-extractie. |
| b) | Pipetteerfout. Zie 'PCR op Rotor-Gene Q MDx-instrumenten met rotor voor 72 buisjes' op pagina 21 | Controleer het pipetteerschema en de instellingen van de reactie.<br>Herhaal de PCR-run.              |

Neem contact op met de technische klantenservice van QIAGEN indien het probleem blijft bestaan.

# Symbolen

De volgende symbolen kunnen op de verpakking en etiketten zijn weergegeven:

Symbool	Symbooldefinitie
	Uiterste gebruiksdatum
	In-vitrodiagnostisch medisch hulpmiddel
	CE-IVD-markering
	Catalogusnummer
	Partijnummer
	Materiaalnummer
	Componenten
	Bevat
	Nummer
	'R' staat voor de revisie van de gebruiksaanwijzing (handleiding); 'n' is het revisienummer
	Global Trade Item Number
	Temperatuurbepering
	Fabrikant
	Verwijderd houden van zonlicht
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing
	Voorzichtig

## Contactgegevens

Neem voor technische ondersteuning en aanvullende informatie contact op met ons centrum voor technische ondersteuning via [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support). U kunt ook bellen naar 00800-22-44-6000 of contact opnemen met de afdeling voor technische klantenservice van QIAGEN of de plaatselijke distributeur (zie achterzijde of ga naar [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

# Bestelgegevens

Product	Inhoudsopgave	Cat.nr.
QIAscreen HPV PCR Test	Voor 72 reacties, bevat: Master Mix, Positieve controle, Negatieve controle, Gebruiksaanwijzing	617005
QIASymphony SP	QIASymphony monsterbereidingsmodule (optioneel voor extractie)	9001297
<b>Rotor-Gene Q MDx</b>		
Rotor-Gene Q MDx HRM System	Realtime PCR-cycler en High Resolution Melt-analysator met 5 kanalen (groen, geel, oranje, rood, karmijnrood) plus HRM-kanaal, laptopcomputer, software, accessoires: met 1 jaar garantie op onderdelen en arbeidsloon, installatie en training	9002035
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Realtime PCR-cycler en High Resolution Melt-analysator met 5 kanalen (groen, geel, oranje, rood, karmijnrood) plus HRM-kanaal, laptopcomputer, software, accessoires: met 1 jaar garantie op onderdelen en arbeidsloon, exclusief installatie en training	9002032
<b>Rotor-Gene Q MDx-accessoires</b>		
Loading Block 72 x 0.1 mL Tubes	Aluminium blok voor handmatige reactie opgezet met een enkelkanaalspipet in buisjes van 72 x 0,1 mL	9018901

Strip Tubes and Caps, 0.1 mL (250)	250 strips met 4 buisjes en dopjes voor 1000 reacties	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 mL (2500)	10 x 250 strips met 4 buisjes en dopjes voor 10.000 reacties	981106

Zie de handleiding van de betreffende QIAGEN-kit voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules. Handleidingen en gebruiksaanwijzingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) of kunnen worden aangevraagd bij de technische diensten van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

# Geschiedenis van herziening document

Datum	Wijzigingen
R2, augustus 2018	Het hoofdstuk Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen is bijgewerkt; CellSolutions® is toegevoegd aan het hoofdstuk Opslag en hantering van specimens en aan Handelsmerken; het hoofdstuk Monsterbereiding is herzien om fractieweergaven te vervangen door percentages; het protocol: QIAscreen HPV PCR Test voor RGQ MDx is bijgewerkt; Gereviseerde kolom 3 van tabel 1 in het protocol: QIAscreen HPV PCR Test voor RGQ MDx is herzien; het hoofdstuk PCR op RGQ MDx met rotor met 72 buisjes is bijgewerkt en bevat nu een Belangrijke opmerking en vervanging van het venster New experiment (Nieuw experiment) door New Run (Nieuwe run); het hoofdstuk Prestatiekenmerken is bijgewerkt; het catalogusnummer voor QIAscreen HPV PCR Test is gecorrigeerd; de opmaak is bijgewerkt
R3, juni 2023	Update van het gedeelte Opslag en verwerking van monsters; update van het gedeelte monsterbereiding met voorbehandeling van monsters bewaard in SurePath en instructies voor DNA-extractie met de QIAamp DSP Virus Spin kit en DNA-extractie met de QIASymphony met gebruik van de QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi kit; update van de klinische prestaties voor monsters bewaard in SurePath en de verwijzing toegevoegd voor de validatie van monsters bewaard in SurePath.

## Beperkte licentieovereenkomst voor QIAscreen HPV PCR Test

Door dit product te gebruiken, verklaart de koper of gebruiker zich akkoord met de volgende voorwaarden:

1. Het product mag uitsluitend worden gebruikt in overeenstemming met de protocollen die bij het product en deze handleiding zijn meegeleverd en mag alleen worden gebruikt met onderdelen die zich in de kit bevinden. QIAGEN geeft onder haar intellectuele eigendom geen licentie om de bijgesloten onderdelen van deze kit te gebruiken of samen te stellen met onderdelen die niet bij de kit zijn meegeleverd, behalve zoals beschreven in de protocollen die bij het product en deze handleiding zijn meegeleverd en in aanvullende protocollen die verkrijgbaar zijn op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Enkele van deze aanvullende protocollen zijn door QIAGEN-gebruikers geleverd aan QIAGEN-gebruikers. Deze protocollen zijn niet grondig door QIAGEN getest of geoptimaliseerd. QIAGEN garandeert deze protocollen niet en garandeert evenmin dat ze geen rechten van derden schenden.
2. Anders dan uitdrukkelijk gesteld in licenties, garandeert QIAGEN niet dat dit paneel en/of het gebruik ervan geen rechten van derden schenden.
3. Dit paneel en de onderdelen ervan worden in licentie gegeven voor eenmalig gebruik en mogen niet worden hergebruikt, opgeknapt of doorverkocht.
4. QIAGEN doet in het bijzonder afstand van enige andere licenties die worden genoemd of geïmpliceerd, anders dan de uitdrukkelijk gestelde.
5. De koper en gebruiker van het paneel gaan ermee akkoord dat zij geen stappen ondernemen en niemand anders toestaan stappen te ondernemen die tot bovenstaande verboden handelingen kunnen leiden of deze vergemakkelijken. QIAGEN mag de verbodsbepalingen in deze Beperkte licentieovereenkomst afdwingen bij de rechter en zal alle onderzoekskosten en gerechtelijke kosten, inclusief advocaatkosten, verhalen bij elke handeling om deze Beperkte licentieovereenkomst of een intellectueel eigendomsrecht in verband met het paneel en/of de onderdelen ervan af te dwingen.

Kijk op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) voor actuele licentievoorwaarden.

Handelsmerken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIASymphony®, MinElute®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); PreservCyt® (Hologic, Inc.); CellSolutions®; Pathtezt® (Pathtezt); SurePath® (Becton Dickinson and Company). Gedeponeerde namen, handelsmerken, enz. die in dit document worden gebruikt, moeten altijd als wettelijk beschermd worden beschouwd, zelfs als ze niet specifiek als zodanig zijn aangegeven.

**Self-screen B.V. is de wettelijke fabrikant van de QIAscreen HPV PCR Test.**

**De QIAscreen HPV PCR Test is vervaardigd voor QIAGEN door Self-screen B.V.**

1132289NL 06/2023 HB-2579-004 © 2023 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

