มิถุนายน 2023

คำแนะนำสำหรับการใช้งาน (คู่มือ) QIAscreen® HPV PCR Test

72

เวอร์ชัน 1

IVD

สำหรับการใช้งานวินิจฉัยนอกร่างกาย

สำหรับใช้กับเครื่อง Rotor-Gene® Q MDx

CE

REF 617005

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

R3 MAT 1132289TH

Sample to Insight

QIAGEN

สารบัญ

จุดประสงค์การใช้งาน 4

สรุปและคำอธิบาย 5

หลักการของกระบวนการ 6

วัสดุที่จัดเตรียมให้ 7

วัสดุที่ต้องใช้แต่ไม่ได้จัดไว้ให้ 8

วัสดุสิ้นเปลือง น้ำยา และเครื่องมือสำหรับการเตรียมตัวอย่าง 8

วัสดุสิ้นเปลืองสำหรับเครื่อง Rotor-Gene Q MDx 8

อุปกรณ์ 8

อุปกรณ์สำหรับการสกัดและ real-time PCR 9

คำเตือนและข้อควรระวัง 10

ข้อมูลด้านความปลอดภัย 10

ข้อควรระวังทั่วไป 10

การจัดเก็บและการจัดการน้ำยา 12

การจัดเก็บและการจัดการตัวอย่าง 13

การเตรียมตัวอย่าง 15

โปรโตคอล: QIAscreen HPV PCR Test ในเครื่อง Rotor-Gene Q MDx 18

PCR บนเครื่อง Rotor-Gene Q MDx ที่มีโรเตอร์ 72 หลอด 20

การแปลผล 23

ข้อจำกัด 25

คุณลักษณะประสิทธิภาพ 27

ขีดจำกัดการตรวจจับ (Limit of Detection, LoD) 27

ความจำเพาะเชิงวิเคราะห์ 28

ประสิทธิภาพทางคลินิกต่อสิ่งส่งตรวจจากปากมดลูก (ชิ้นส่วนจากการขูด) **28**
ความสามารถในการทำซ้ำ **29**
ประสิทธิภาพต่อสิ่งส่งตรวจที่เก็บจากช่องคลอด (ถึงปากมดลูก) ด้วยตนเอง **29**
สารรบกวน* **29**
เอกสารอ้างอิง 30
แนวทางการแก้ไขปัญหา 32
สัญลักษณ์ 34
ข้อมูลติดต่อ 35
ข้อมูลการสั่งซื้อ 36
ประวัติการแก้ไขเอกสาร 38

จุดประสงค์การใช้งาน

QIAscreen HPV PCR Test เป็นการทดสอบแบบ real-time PCR สำหรับการตรวจจับเชิงคุณภาพหา DNA แปปิโลมาไวรัสในมนุษย์ (human papillomavirus, HPV) ของจีโนไทป์ HPV 15 ชนิดที่ (อาจ) มีความเสี่ยงสูงต่อไปนี้ นั่นคือ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, และ 68

ตัวอย่างที่อาจได้รับการทดสอบด้วย QIAscreen HPV PCR Test รวมถึง DNA ที่แยกมาจากสิ่งส่งตรวจที่เก็บรวบรวมด้วยวิธีการต่อไปนี้:

- สิ่งส่งตรวจที่เก็บจากปากมดลูกโดยใช้อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแบบแปรง/ปลายคล้ายไม้กวาด (เก็บโดยแพทย์)
- สิ่งส่งตรวจที่เก็บจากช่องคลอดโดยใช้อุปกรณ์แปรง-ปลายคล้ายไม้กวาด หรืออุปกรณ์ล้าง (เก็บด้วยตนเอง)

ข้อบ่งใช้การใช้งาน:

- เป็นการทดสอบเบื้องต้นในการตรวจคัดกรองผู้หญิงเพื่อหาความเสี่ยง (ก่อน) มะเร็งปากมดลูกเพื่อกำหนดความจำเป็นต่อการเข้ารับการตรวจคอลโปสโคปหรือหัตถการติดตามผลอื่น ๆ
- เป็นการทดสอบติดตามผลสำหรับผู้หญิงที่ผลการทดสอบ Pap พบว่ามีความผิดปกติในเยื่อบุที่ยังระบุให้ชัดเจนไม่ได้ (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) หรือมีเนื้องอกระหว่างชั้นเยื่อบุระดับต่ำ (low-grade squamous intra-epithelial neoplasia, lsil) เพื่อกำหนดความจำเป็นต่อการเข้ารับการตรวจคอลโปสโคปหรือหัตถการติดตามผลอื่น ๆ

ผลิตภัณฑ์นี้มีวัตถุประสงค์ให้ใช้โดยเจ้าหน้าที่ผู้มีวิชาชีพ เช่น เจ้าหน้าที่เทคนิคหรือเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ได้รับการฝึกอบรมด้านหัตถการวินิจฉัยภายนอกร่างกาย เทคนิคอณูชีววิทยา และ Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM system มาแล้ว

สรุปและคำอธิบาย

แปปิโลมาไวรัสในมนุษย์ (human papillomavirus, HPV) อยู่ในสายพันธ์ Papillomaviridae และเป็นไวรัสที่มี DNA เกลียวคู่ขนาดเล็ก จีโนมทรงกลมนั้นมีขนาดประมาณ 7.9 กิโลเบส มีการระบุ HPV ไว้มากกว่า 100 ประเภท โดยบางประเภทซึ่งเป็นที่รู้จักว่าเป็น HPV ความเสี่ยงสูง (high-risk HPV, hrHPV) เช่น HPV 16 และ 18 เกี่ยวข้องกับการเหนี่ยวนำให้เกิดรอยโรคที่เยื่อเมือกซึ่งอาจมีการดำเนินโรคต่อไปเป็นมะเร็งได้ มะเร็งปากมดลูกและรอยโรคก่อนมะเร็ง (เนื้องอกภายในเยื่อบุผิวปากมดลูก หรือ cervical intraepithelial neoplasia, CIN) เป็นภาวะแทรกซ้อนที่รู้จักกันดีที่สุดของการติดเชื้อ HPV ประเภทความเสี่ยงสูงแบบถาวร (1-3)

จีโนมของไวรัสนี้มียีนระยะต้น (E) และระยะท้าย (L) ซึ่งเข้ารหัสโปรตีนที่จำเป็นต่อวงจรชีวิตของ HPV ในระยะต้นและระยะท้ายตามลำดับ ผลิตผลยีน E6 และ E7 ของไวรัสประเภท hrHPV มีคุณสมบัติก่อมะเร็งและจำเป็นต่อการทำให้เซลล์โฮสต์เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นมะเร็งได้ (4) การดำเนินโรคของมะเร็งมักเกี่ยวข้องกับการรวมตัวของไวรัสเข้าสู่จีโนมของเซลล์โฮสต์ (5) ผลการรวมตัวในการขัดจังหวะจีโนมของไวรัสในบริเวณที่อาจยื่นมาจาก E1 ถึงกรอบการอ่านที่เปิดไว้ของ L1 (6) สิ่งนี้อาจมีผลต่อการเพิ่มปริมาณ DNA ของไวรัสในบริเวณเหล่านี้ผ่านทาง PCR เนื่องจากสิ่งที่ขึ้นอยู่กับการแสดงออกอย่างต่อเนื่องของออนโคโปรตีนของไวรัสไม่ได้มีเพียงการเริ่มของฟีโนไทป์ที่เปลี่ยนแปลงไปเท่านั้นแต่ยังรวมถึงการคงความเปลี่ยนแปลงนี้ไว้ด้วย (7, 8) บริเวณ E6/E7 ของไวรัสต้องคงไว้อย่างไม่เปลี่ยนแปรในจีโนมของไวรัสที่มีการรวมตัวแล้วในมะเร็งปากมดลูก (6) QIAscreen HPV PCR Test มีเป้าหมายอยู่ที่บริเวณซึ่งมีการเก็บไว้ภายในยีน E7 การทดสอบนี้ได้ผ่านการตรวจสอบความถูกต้องทางคลินิกแล้วตามแนวทางสากลสำหรับการทดสอบตรวจหา HPV และในการศึกษาวิจัยอื่น ๆ (9, 10, 14, 15)

หลักการของกระบวนการ

QIAscreen HPV PCR Test เป็นการทดสอบ real-time PCR แบบมัลติเพล็กซ์ โดยมุ่งตรวจหายีน E7 ของไวรัสประเภท (ที่อาจเป็น) hrHPV 15 ซึ่งใช้โพรบฟลูออเรสเซนส์สำหรับการตรวจหาผลิตผลจาก PCR ที่มีการสะสมไว้หนึ่งรายการขึ้นไป ระหว่างรอบ PCR แต่ละรอบ สัญญาณเรืองแสงจะเพิ่มขึ้นในรูปแบบลอการิทึมส่งผลให้เกิดเส้นโค้งการขยาย ทันทีที่เส้นโค้งการขยายของเป้าหมายสูงขึ้นเหนือค่าเกณฑ์ จะพิจารณาว่าตัวอย่างนั้นเป็นบวกสำหรับเป้าหมายนั้น รูปแบบมัลติเพล็กซ์ช่วยให้มีการตรวจจับของสารย้อมเรืองแสงสี่ชนิดพร้อมกันต่อปฏิกิริยา โดยสารย้อมเรืองแสงแต่ละชนิดแทนเป้าหมายที่แตกต่างกัน เป้าหมายที่แตกต่างกันทั้งสี่ชนิดได้แก่: **1.** HPV 16, **2.** HPV 18, **3.** hrHPV 13 ประเภทอื่นแบบรวมกัน และ **4.** ยีน β-globin ของมนุษย์ QIAscreen HPV PCR Test ตรวจหาจีโนไทป์ HPV 16, HPV 18**,** และการรวมกันของ hrHPV อื่นแบบ 13 มีการใช้ยีน β-globin ของมนุษย์เป็นการควบคุมตัวอย่างโดยการระบุทั้งคุณภาพของ DNA ตัวอย่างและการปรากฏสารยับยั้งที่อาจเป็นไปได้

วัสดุที่จัดเตรียมให้

ส่วนประกอบที่มีในชุดอุปกรณ์

QIAscreen HPV PCR Test Kit		**72 ปฏิกิริยา**
หมายเลขแค็ตตาล็อก		**617005**
QIAscreen Master Mix (ส่วนผสม master QIAscreen) (1 หลอด)	สีใส	1080 µL
QIAscreen Positive Control (ตัวควบคุมที่เป็นบวกของ QIAscreen) (1หลอด)	สีใส	100 µL
QIAscreen Negative Control (ตัวควบคุมที่เป็นลบของ QIAscreen) (1 หลอด)	สีใส	100 µL
คำแนะนำสำหรับการใช้งาน (คู่มือ) QIAscreen HPV PCR Test		1

วัสดุที่ต้องใช้แต่ไม่ได้จัดไว้ให้

เมื่อทำงานกับสารเคมี ให้สวมใส่เสื้อคลุมห้องปฏิบัติการ ถุงมือแบบใช้แล้วทิ้ง และแว่นป้องกันดวงตาที่เหมาะสมเสมอ สำหรับข้อมูลเพิ่มเติม โปรดศึกษาเอกสารข้อมูลความปลอดภัย (Safety Data Sheet, SDS) ที่เหมาะสมจากผู้จัดจำหน่ายของผลิตภัณฑ์นั้น

วัสดุสิ้นเปลือง น้ำยา และเครื่องมือสำหรับการเตรียมตัวอย่าง

- Hologic PreservCyt® Solution (สำหรับการเก็บรักษาตัวอย่างที่เก็บด้วยตนเอง)
- ชุดอุปกรณ์สกัด DNA มาตรฐาน เช่น QIAamp® DSP virus spin kit (QIAGEN, หมายเลขแค็ตตาล็อก 61704) และ QIAsymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit (QIAGEN,หมายเลขแค็ตตาล็อก 937055) และ NucleoMag 96 Tissue kit (Macherey-Nagel, หมายเลขแค็ตตาล็อก 744300)
- PBS สำหรับการจัดการสิ่งส่งตรวจจากปากมดลูกในตัวกลางการเก็บรวบรวม PreservCyt
- บัฟเฟอร์ AL (QIAGEN, หมายเลขแค็ตตาล็อก 19075) สำหรับการเตรียมสิ่งส่งตรวจจากปากมดลูกที่เก็บไว้ในสารตัวกลางการเก็บรวบรวม SurePath และ CellSolutions

วัสดุสิ้นเปลืองสำหรับเครื่อง Rotor-Gene Q MDx

- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml สำหรับใช้กับ 72-well rotor (QIAGEN, หมายเลขแค็ตตาล็อก 981103 หรือ 981106)

อุปกรณ์

- ปิเปตเฉพาะ* (สามารถปรับได้) สำหรับ **PCR (**1–10 **µL;** 10–100 **µL)**
- ทิปปิเปตปราศจากเชื้อและไม่มี **DNAse** พร้อมปลั๊กฟิลเตอร์เฉพาะ
- ถุงมือแบบใช้แล้วทิ้ง
- เครื่องหมุนเหวี่ยงชนิดตั้งโต๊ะ*
- เครื่องผสมกระแสวน*

* ตรวจสอบให้แน่ใจว่าเครื่องมือต่าง ๆ ได้รับการตรวจสอบและสอบเทียบมาตรฐานตามคำแนะนำของผู้ผลิต

อุปกรณ์สำหรับการสกัดและ real-time PCR

- QIAsymphony SP Module (หมายเลขแค็ตตาล็อก 9001297) (สำหรับการสกัดอัตโนมัติที่เป็นตัวเลือก)
- Rotor-Gene Q 5plex HRM System (หมายเลขแค็ตตาล็อก 9002033) หรืออุปกรณ์ Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (หมายเลขแค็ตตาล็อก 9002032) พร้อมซอฟต์แวร์ Rotor-Gene Q เวอร์ชัน 2.3.1 ขึ้นไป*
- QIAscreen มีเทมเพลตสำหรับ Rotor-Gene Q. เทมเพลตนั้นชื่อว่า **"QIAscreen RGQ profile v1.0.ret"**
- เทมเพลตการวิเคราะห์ช่องสำหรับช่องสีเขียว (HPV 16), สีเหลือง (HPV อื่น), สีส้ม (β-globin) และสีแดง (HPV 18) เทมเพลตนั้นมีนามสกุลไฟล์ว่า ".qut"

* อุปกรณ์ Rotor-Gene Q 5plex HRM ที่ผลิตในเดือนมกราคม 2010 หรือหลังจากนั้น ถ้ามี วันที่ผลิตสามารถดูได้จากหมายเลขประจำเครื่องที่ด้านหลังของอุปกรณ์ หมายเลขประจำเครื่องจะอยู่ในรูปแบบ "mmyynnn" โดย "mm" แสดงเดือนผลิตในแบบตัวเลข "yy" แสดงเลขสองตัวท้ายของปีผลิต และ "nnn" หมายถึงตัวระบุอุปกรณ์ที่ไม่เหมือนกัน

คำเตือนและข้อควรระวัง

ข้อมูลด้านความปลอดภัย

เมื่อทำงานกับสารเคมี ให้สวมใส่เสื้อคลุมห้องปฏิบัติการ ถุงมือแบบใช้แล้วทิ้ง และแว่นป้องกันดวงตาที่เหมาะสมเสมอ สำหรับข้อมูลเพิ่มเติม โปรดศึกษาเอกสารข้อมูลความปลอดภัย (Safety Data Sheet, SDS) ที่เหมาะสม เอกสารเหล่านี้มีให้บริการทางออนไลน์ในรูปแบบ PDF ที่ **www.qiagen.com/safety** ที่ซึ่งคุณจะสามารถค้นหา ดู และพิมพ์ SDS ของชุดอุปกรณ์ QIAGEN และส่วนประกอบชุดอุปกรณ์แต่ละรายการได้

- สารควบคุมที่เป็นบวกและเป็นลบของ QIAscreen HPV PCR Test มีโซเดียมเอไซด์เป็นสารกันบูด (0.01%) โซเดียมเอไซด์อาจทำปฏิกิริยากับท่อตะกั่วและทองแดงจนเกิดเป็นเอไซด์โลหะที่อาจระเบิดได้ เมื่อทิ้งสารผ่านทางอ่างน้ำต้องใช้น้ำเย็นจำนวนมากชะล้างท่อระบายน้ำเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการสะสมของสารเอไซด์

ข้อควรระวังทั่วไป

การใช้การทดสอบ PCR ต้องมีการปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการที่ดี รวมทั้งมีการบำรุงรักษาอุปกรณ์ซึ่งใช้สำหรับอณูชีววิทยาโดยเฉพาะและสอดคล้องตามระเบียบข้อบังคับที่บังคับใช้และมาตรฐานที่เกี่ยวข้อง

ให้ความสนใจกับสิ่งต่อไปนี้เสมอ:

- สวมถุงมือชนิดไม่มีแป้งสำหรับใช้ครั้งเดียวเพื่อการป้องกัน เสื้อคลุมสำหรับห้องปฏิบัติการและแว่นป้องกันดวงตาเมื่อจัดการกับสิ่งส่งตรวจ
- ป้องกันการปนเปื้อนจุลชีพและนิวคลีเอส (DNase) ของสิ่งส่งตรวจและชุดอุปกรณ์ DNase อาจทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของแม่แบบ DNA
- หลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้ามของผลิตภัณฑ์จาก DNA หรือ PCR ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดผลบวกปลอมได้
- ใช้ปิเปตแบบใช้แล้วทิ้งที่ปราศจาก DNase และมีตัวกั้นฝอยละอองไว้เสมอ
- น้ำยาของ QIAscreen HPV PCR Test มีการเจือจางอย่างเหมาะสม อย่าเจือจางน้ำยาเพิ่มเติม เพราะอาจทำให้สูญเสียประสิทธิภาพได้

- น้ำยาทั้งหมดที่ให้มาใน QIAscreen HPV PCR Test มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้กับน้ำยาอื่น ๆ ที่ให้มาในชุดอุปกรณ์เดียวกันเท่านั้น ห้ามนำน้ำยาใด ๆ จากชุดอุปกรณ์หนึ่งมาใช้แทนน้ำยาแบบเดียวกันจาก QIAscreen HPV PCR Test kit อีกชุดหนึ่ง แม้จะมาจากแบตช์ เดียว กันเนื่องจากอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพ
- โปรดดูคู่มือผู้ใช้เครื่อง Rotor-Gene Q MDx สำหรับคำเตือน ข้อควรระวังและขั้นตอนเพิ่มเติม
- ก่อนการใช้งานเครื่อง Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM ครั้งแรกในแต่ละวัน ให้อุ่นเครื่องที่ 95°C นาน 10 นาที
- การเปลี่ยนแปลงเวลาการบ่มและอุณหภูมิอาจส่งผลให้ข้อมูลผิดพลาดหรือไม่สอดคล้องกัน
- ห้ามใช้ส่วนประกอบในชุดอุปกรณ์ที่เลยจากวันหมดอายุมาแล้ว หรือไม่ได้มีการจัดเก็บอย่างถูกต้อง
- ดูแลให้ส่วนประกอบต่าง ๆ โดนแสงน้อยที่สุด ส่วนผสมสารทำปฏิกิริยาอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงได้เนื่องจากโดนแสง
- ใช้ความระมัดระวังอย่างยิ่งเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของสารผสมกับวัสดุสังเคราะห์ที่มีอยู่ในน้ำยา PCR
- ให้ทิ้งตัวอย่างและของเสียจากการทดสอบตามขั้นตอนความปลอดภัยในท้องถิ่นของคุณ

การจัดเก็บและการจัดการน้ำยา

เงื่อนไขการจัดส่ง

QIAscreen HPV PCR Test จัดส่งมากับน้ำแข็งแห้ง หากส่วนประกอบใด ๆ ของ QIAscreen HPV PCR Test ไม่ได้ถูกแช่แข็งเมื่อมาถึง บรรจุภัณฑ์ด้านนอกถูกเปิดระหว่างการขนส่งหรือการจัดส่งไม่มีบันทึกการบรรจุ คู่มือหรือน้ำยา โปรดติดต่อหนึ่งในแผนก QIAGEN Technical Service หรือตัวแทนจำหน่ายในพื้นที่ (ดู **www.qiagen.com**)

สภาวะการจัดเก็บ

ต้องจัดเก็บ QIAscreen HPV PCR Test ที่อุณหภูมิ –30 ถึง –15°C ทันทีที่ได้รับในช่องแช่แข็งที่มีอุณหภูมิคงที่และป้องกันการโดนแสง

เสถียรภาพ

เมื่อเก็บไว้ภายใต้เงื่อนไขการจัดเก็บตามที่กำหนด QIAscreen HPV PCR Test จะคงที่จนถึงวันหมดอายุที่ระบุไว้ตามฉลากบนกล่อง

เมื่อเปิดแล้ว จะสามารถเก็บน้ำยาในบรรจุภัณฑ์เดิมได้ที่อุณหภูมิ –30°C ถึง –15°C. ควรหลีกเลี่ยงการละลายและการแช่แข็งซ้ำ ๆ ห้ามแช่แข็ง-ละลายมากกว่า 5 รอบ

- ค่อย ๆ ผสมโดยพลิกกลับหลอด 10 ครั้ง และปั่นเหวี่ยงทุกหลอดก่อนเปิด
- วันที่หมดอายุของน้ำยาแต่ละตัวระบุอยู่บนฉลากของส่วนประกอบแต่ละชนิด เมื่ออยู่ในสภาวะการจัดเก็บที่ถูกต้อง ผลิตภัณฑ์นี้จะคงประสิทธิภาพสำหรับเวลาความเสถียรนานเท่าที่มีการใช้งานส่วนประกอบจากแบตช์เดียวกัน
- ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพที่ QIAGEN ใช้ทดสอบการปล่อยชุดการทำงานสำหรับชุดอุปกรณ์แต่ละล็อต ห้ามผสมน้ำยาจากชุดอุปกรณ์ต่างกัน แม้ว่าจะมาจากล็อตเดียวกันก็ตาม

ควรใส่ใจต่อวันหมดอายุและสภาวะการจัดเก็บที่พิมพ์อยู่บนกล่องและฉลากของชิ้นส่วนประกอบทั้งหมด ห้ามใช้ชิ้นส่วนประกอบที่จัดเก็บอย่างไม่ถูกต้องหรือหมดอายุแล้ว

การจัดเก็บและการจัดการตัวอย่าง

ข้อควรระวัง	สิ่งส่งตรวจทั้งหมดต้องได้รับการปฏิบัติอย่างวัสดุติดเชื้ออันตราย

สิ่งส่งตรวจจากปากมดลูก

QIAscreen HPV PCR Test ใช้กับตัวอย่าง DNA จีโนมจากสิ่งส่งตรวจจากปากมดลูก (ชิ้นส่วนจากการขูด) ตัวกลางเก็บตัวอย่างสำหรับสิ่งส่งตรวจจากปากมดลูก (ชิ้นส่วนจากการขูด) ได้แก่ ตัวกลางเก็บตัวอย่าง PreservCyt, CellSolutions®, Pathtezt®, และ Surepath® อุณหภูมิการจัดเก็บที่เหมาะสมของตัวอย่างทางคลินิกคือ 2–8°C เมื่อเดินทางมาถึงห้องปฏิบัติการ ในสภาวะการจัดเก็บเหล่านี้ ตัวอย่างที่อยู่ในตัวกลางเก็บตัวอย่าง PreservCyt จะคงความเสถียรนาน 3 เดือน และในตัวกลาง Surepath จะเสถียรนาน 2 สัปดาห์ก่อนการสกัด DNA

ตัวอย่างจากปากมดลูกที่เก็บอยู่ใน PreservCyt สามารถเก็บไว้ได้นานถึง 210 วันหลังจากการเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 18–25°C นานถึงสองปีครึ่งที่ 2–8°C และนานถึง 2 ปีที่อุณหภูมิ <20°C ตัวอย่างจากปากมดลูกที่เก็บอยู่ใน Surepath สามารถเก็บได้นาน 10 สัปดาห์หลังจากการเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 2– 30°C นานถึงสองปีครึ่งที่ 2–8°C และนานถึง 210 วันที่อุณหภูมิ <20°C

สิ่งส่งตรวจจากแปรงเก็บในช่องคลอดด้วยตนเอง

QIAscreen HPV PCR Test ใช้กับตัวอย่าง DNA จีโนมที่สกัดจากสิ่งส่งตรวจที่ได้จากการใช้แปรงเก็บในช่องคลอดด้วยตนเอง หรือเก็บจากการล้างในช่องคลอดถึงปากมดลูกด้วยตนเอง สามารถเก็บรวบรวมและนำส่งสิ่งส่งตรวจจากแปรงเก็บในช่องคลอดด้วยตนเองได้ทั้งแบบแห้งหรือใส่ในน้ำเกลือ (โซเดียมคลอไรด์ 0.9% w/v) และเก็บรักษาไว้ใน PreservCyt เมื่อถึงห้องปฏิบัติการ สิ่งส่งตรวจที่เก็บจากการล้างในช่องคลอดถึงปากมดลูกด้วยตนเองถูกเก็บและนำส่งในน้ำเกลือ (โซเดียมคลอไรด์ 0.9% w/v) และเก็บรักษาไว้ใน PreservCyt เมื่อถึงห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างที่เก็บด้วยตนเองใน PreservCyt สามารถเก็บไว้ได้นานถึง 210 วันหลังจากการเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 18–25°C นานถึงสองปีครึ่งที่ 2–8°C และนานถึง 2 ปีที่อุณหภูมิ <20°C

ตัวอย่าง DNA จีโนม

เมื่อ DNA จีโนมถูกสกัดแล้ว จะสามารถเก็บไว้ได้ที่ 2–8°C สำหรับการเก็บรักษาระยะสั้น (≤2 วัน) หรือที่ –30°C ถึง –15°C สำหรับการเก็บนานถึง 12 เดือน

การเตรียมตัวอย่าง

การสกัด DNA

ชุดอุปกรณ์สกัด DNA มาตรฐาน (เช่น ชุดอุปกรณ์ที่มีคอลัมน์และลูกปัดแม่เหล็ก อย่าง QIAamp® DSP Virus spin kit, QIAsymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit และ NucleoMag 96 Tissue kit, (Macherey-Nagel) สามารถใช้งานได้กับการทดสอบนี้ รายละเอียดการปฏิบัติงานสำหรับ QIAsymphony® DSP Virus/Pathogen Midi ได้กล่าวถึงไว้ด้านล่าง

สิ่งส่งตรวจทางคลินิกในตัวกลางเก็บตัวอย่าง PreservCyt หรือ PathTezt

สำหรับสิ่งส่งตรวจจากปากมดลูก (ชิ้นส่วนจากการขูด) ที่เก็บไว้ในตัวกลางเก็บตัวอย่าง PreservCyt หรือ PathTezt ชิ้นส่วน DNA ที่จะใช้เป็นสิ่งนำเข้าใน PCR คิดเป็น 0.125% ของตัวอย่างชิ้นส่วนจากการขูดมดลูกใน PreservCyt หรือ PathTezt 20 มล. ซึ่งตรงกับชนิดตัวอย่างเดิม 25 µL เนื่องจากด้วยจำนวนสูงสุดเพียง 5 µL ของ DNA ที่สกัดออกมาก็สามารถใช้เป็นสิ่งนำเข้าใน PCR ได้แล้ว จึงควรดำเนินการตามขั้นตอนการสกัด DNA ให้สารสกัด DNA 5 µL ตรงกับตัวอย่างสิ่งส่งตรวจจากปากมดลูก (ชิ้นส่วนจากการขูด) 25 µL เพื่อให้แน่ใจว่าได้มีการนำตัวอย่างชิ้นส่วนของปากมดลูกที่ถูกต้องมาใช้ใน PCR ตัวกลางที่เท่าเทียมกันซึ่งมี (เช่น Surepath) หรือไม่มี (เช่น PreservCyt) ฟอร์มัลดีไฮด์ควรผ่านกระบวนการแบบเดียวกัน

สิ่งสำคัญ: ตัวกลาง PreservCyt อาจแทรกแซงกระบวนการสกัด DNA ได้ ซึ่งสามารถแก้ปัญหานี้ได้ด้วยวิธีที่แตกต่างกันสองแบบ

1. เจือจางส่วนแบ่งของสิ่งส่งตรวจใน PreservCyt ด้วย PBS หรือบัฟเฟอร์การสลายตัวจากชุดอุปกรณ์สกัดกับส่วนผสมน้ำยาในปริมาณเท่ากันก่อนเริ่มทำการสกัด DNA ตรวจสอบให้แน่ใจว่าปริมาตรตัวอย่างทั้งหมดเข้ากันได้กับชุดอุปกรณ์สกัด DNA หากปริมาตรทั้งหมดสูงเกินไปสำหรับชุดอุปกรณ์ ขอแนะนำให้ใช้วิธีที่สองตามที่อธิบายไว้ต่อจากนี้

2. หมุนเหวี่ยงตัวอย่างใน PreservCyt (≥3400 x *g* นาน 10 นาที) และนำของเหลวส่วนบนออก ส่วนเนื้อสารจะตกตะกอนอีกครั้งเป็นปริมาณ PBS หรือบัฟเฟอร์การสลายตัวที่เหมาะสมซึ่งเข้ากันได้กับชุดอุปกรณ์สกัด DNA (สำหรับ QIAamp DSP Virus spin kit: มีการตกตะกอนใหม่เป็น PBS 200 µL และเป็นไปตามคำแนะนำของผู้ผลิตสำหรับการสกัด DNA, ,มีการชะใน 100 µL; สำหรับ Margery Nagel Nucleomag96 tissue kit: ตกตะกอนใหม่ในบัฟเฟอร์ T1 100 µL ของชุดอุปกรณ์นั้น และเป็นไปตามคำแนะนำของผู้ผลิต**,** มีการชะใน 100 µL)

ตัวกลางที่เท่าเทียมกันควรผ่านกระบวนการแบบเดียวกัน

รายละเอียดการปฏิบัติการ QIAsymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit

โปรโตคอล QSDSP: ผสมตัวอย่างจากปากมดลูกที่เก็บไว้ใน PreservCyt 500 µL เข้ากับ PBS 500 µL การทำงานแบบเบ็ดเสร็จโดยดำเนินการตามโปรโตคอล Complex800_V6_DSP เริ่มปฏิบัติการบน QIAsymphony ตามด้วยขั้นตอนต่าง ๆ ที่อธิบายไว้ใน 'คู่มือการใช้งานรวม QIAsymphony® SP/AS – 12.3 การทำงานเบ็ดเสร็จ' มีการชะ DNA ใน 60 µL และนำ 5 µL มาใช้ใน QIAscreen HPV PCR Test หากคุณใช้เพียงโมดูล QIAsymphony SP การดำเนินการเตรียมตัวอย่างที่ทำตามโปรโตคอล Complex800_V6_DSP จะเริ่มต้นบนเครื่อง QIAsymphony SP หลังจากขั้นตอนต่าง ๆ ที่บรรยายไว้ใน 'คำแนะนำการใช้งาน (คู่มือ) QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit – โปรโตคอลการทำให้บริสุทธิ์ทั่วไป'

สำหรับสิ่งส่งตรวจจากปากมดลูก (ชิ้นส่วนจากการขูด) ที่เก็บไว้ในตัวกลางเก็บตัวอย่าง SurePath หรือ CellSolutions ชิ้นส่วนของ DNA ที่จะใช้เป็นสิ่งนำเข้าใน PCR คิดเป็น 0.25% ของตัวอย่างจากการขูดปากมดลูกที่อยู่ใน SurePath หรือ CellSolutions 10 มล. ซึ่งตรงกับชนิดตัวอย่างเดิม 25 µL เนื่องจากด้วยจำนวนสูงสุดเพียง 5 µL ของ DNA ที่สกัดออกมาก็สามารถใช้เป็นสิ่งนำเข้าใน PCR ได้แล้ว จึงควรจึงควรเลือกปริมาตรตัวอย่างและปริมาตรการชะ DNA ให้สารสกัด DNA 5 µL ตรงกับตัวอย่างสิ่งส่งตรวจจากปากมดลูก (ชิ้นส่วนจากการขูด) 25 µL เพื่อให้แน่ใจว่าได้มีการนำตัวอย่างชิ้นส่วนของปากมดลูกที่ถูกต้องมาใช้ใน PCR

สิ่งสำคัญ: สิ่งส่งตรวจทางคลินิกที่เก็บไว้ในตัวกลาง SurePath และ CellSolutions ต้องผ่านการเตรียมก่อนนำมาใช้งานเพื่อแก้ปัญหาการเชื่อมโยงข้ามที่เกิดจากฟอร์มัลดีไฮด์โดยใช้โปรโตคอลตามที่อธิบายไว้ต่อจากนี้

การเตรียมสิ่งส่งตรวจทางคลินิกที่เก็บไว้ในตัวกลาง SurePath และ CellSolutions:

3. ผสมสิ่งส่งตรวจที่อยู่ใน SurePath หรือ CellSolutions เข้ากับบัฟเฟอร์ AL (QIAGEN) ในอัตราส่วน 1:1 แล้วผสมให้เข้ากัน
4. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 90°C นาน 20 นาที จากนั้นจึงวางไว้ให้ได้อุณหภูมิห้องก่อนดำเนินการสกัด DNA ต่อไป

ตัวกลางที่เทียบเท่ากันซึ่งมีฟอร์มัลดีไฮด์ควรผ่านกระบวนการแบบเดียวกัน

สำหรับสิ่งส่งตรวจที่เก็บโดยใช้แปรงในช่องคลอดด้วยตนเองซึ่งเก็บไว้ใน Hologic PreservCyt Solution ควรดำเนินการตามขั้นตอนการสกัด DNA ให้ได้สารสกัด DNA 5 µL ที่ใช้เป็นสิ่งนำเข้าใน PCR ที่คิดเป็น 0.5% ของตัวอย่างจากช่องคลอด เช่น ตัวอย่างที่เก็บด้วยตนเองจากช่องคลอดจะเก็บไว้ใน PreservCyt Solution 2 มล. ดังนั้น DNA นำเข้า 5 µL ตรงกับสารตัวอย่างที่เก็บด้วยตนเอง 10 µL

สำหรับสิ่งส่งตรวจที่เก็บจากการล้างช่องคลอดถึงปากมดลูกด้วยตนเอง ชิ้นส่วน DNA ที่จะนำมาใช้เป็นสารนำเข้าคิดเป็น 0.5% ของตัวอย่างจากการล้างช่องคลอดที่เก็บด้วยตนเอง ดังนั้น ในกรณีที่มีปริมาตรการล้างโดยรวม 3 มล. จึงควรดำเนินการขั้นตอนการสกัด DNA ให้ได้สารนำเข้า DNA 5 µL ตัวอย่างจากการล้างที่เก็บด้วยตนเองตั้งแต่ต้น 15 µL

โปรโตคอล: **QIAscreen HPV PCR Test** ใน เครื่อง **Rotor-Gene Q MDx**

จุดสำคัญก่อนเริ่มงาน

สละเวลาเพื่อทำความเข้าใจและคุ้นเคยกับการใช้อุปกรณ์ Rotor-Gene Q MDx ก่อนที่จะเริ่มโปรโตคอล ดู คู่มือผู้ใช้งานของอุปกรณ์

ก่อนเริ่มการทำงานครั้งแรกของวัน โปรดเปิดอุ่นเครื่อง Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM ที่อุณหภูมิ 95°C นาน 10 นาที

ต้องมีเทมเพลตซอฟต์แวร์ของเครื่องในชุด Rotor-Gene Q เพื่อดำเนินการทดสอบ ตรวจสอบให้แน่ใจว่ามีการใช้งานเทมเพลต QIAscreen RGQ profile v1.0.ret

ต้องมีเทมเพลตซอฟต์แวร์ของเครื่องในชุด Rotor-Gene Q เพื่อทำการวิเคราะห์การทดสอบสำหรับแต่ละช่องการตรวจจับทั้งสี่ช่อง ตรวจสอบให้แน่ใจว่าได้ใช้เทมเพลตที่ถูกต้องสำหรับแต่ละช่อง ตามที่ระบุไว้ต่อจากนี้

- ต้องใช้ "QIAscreen RGQ Green Channel analysis template.qut" สำหรับการวิเคราะห์สัญญาณในช่องสีเขียว (HPV 16)
- ต้องใช้ "QIAscreen RGQ Orange Channel analysis template.qut" สำหรับการวิเคราะห์สัญญาณในช่องสีส้ม (β-globin)
- ต้องใช้ "QIAscreen RGQ Yellow Channel analysis template.qut" สำหรับการวิเคราะห์สัญญาณในช่องสีเหลือง (HPV อื่น)
- ต้องใช้ "QIAscreen Red Green Channel analysis template.qut" สำหรับการวิเคราะห์สัญญาณในช่องสีแดง (HPV 18)

การดำเนินการตรวจตัวอย่างบนเครื่อง Rotor-Gene Q MDx ที่มีโรเตอร์ 72 หลอด

สามารถทดสอบตัวอย่าง DNA จีโนมได้ถึง 70 ตัวอย่างในการทดลองเดียวกัน นอกเหนือจากตัวควบคุมที่เป็นบวกและเป็นลบ รูปแบบใน ตารางที่ 1 แสดงตัวอย่างของบล็อกที่โหลดหรือการจัดวางโรเตอร์สำหรับการทดลองด้วย QIAscreen HPV PCR Test ตัวเลขระบุตำแหน่งในบล็อกที่โหลดและตำแหน่งโรเตอร์ล่าสุด

ตารางที่ 1 การจัดวางจานและโรเตอร์สำหรับการทดลองด้วย QIAscreen HPV PCR Test บนเครื่อง Rotor-Gene Q MDx

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

หมายเหตุ: ใส่หลอดเปล่าในตำแหน่งที่ไม่ได้ใช้ให้เต็ม

PCR บนเครื่อง Rotor-Gene Q MDx ที่มีโรเตอร์ 72 หลอด

1. การจัดเตรียม QIAscreen HPV PCR Test

   หมายเหตุ: เพื่อลดความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนปฏิกิริยา PCR ให้เกิดขึ้นน้อยที่สุด ขอแนะนำให้ใช้ตู้ PCR ที่สามารถฉายแสง UV ได้

   สิ่งสำคัญ: ต้องทำการจ่าย ส่วนผสม master QIAscreen ในบริเวณที่แยกจากการสกัด DNA

   1a. ทำความสะอาดบริเวณโต๊ะ ปิเปต และชั้นวางหลอดก่อนใช้งานกับสารละลายย่อยสลาย DNA เพื่อป้องกันการปนเปื้อนเทมเพลตหรือนิวคลีเอส
   หมายเหตุ: เปลี่ยนทิปที่ใช้กับแต่ละหลอดเพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนเทมเพลตไม่จำเพาะหรือส่วนผสมของปฏิกิริยาซึ่งอาจทำให้เกิดผลบวกปลอมได้

   1b. ผสมอย่างเบามือโดยการพลิกกลับไปมา 10 ครั้ง จากนั้นจึงหมุนเหวี่ยงเป็นระยะเวลาสั้น ๆ ก่อนใช้งานเพื่อรวมสารละลายไว้ที่ก้นหลอด

   1c. จ่ายส่วนผสม master QIAscreen 15 µL ลงตามหลอดที่เหมาะสมของแถบติดหลอด (จำนวนสูงสุด 72 หลอด ต่อการทำงานของ Rotor-Gene Q MDx) สามารถทำการจัดเตรียมปฏิกิริยาได้ที่อุณหภูมิห้อง

   1d. นำส่วนผสม master QIAscreen กลับไปไว้ในช่องแช่แข็งเพื่อให้แน่ใจว่าจะไม่เกิดการเสื่อมสภาพของวัสดุใด ๆ ย้ายหลอดไปยังบริเวณที่แยกออกมาเพื่อจ่าย QIAscreen Positive Control และ DNA ตัวอย่าง

   1e. เติมตัวควบคุมที่เป็นลบ 5 µL ลงในหลอดตำแหน่งที่ 2 ผสมโดยการใช้ปิเปตดูดขึ้นลง หรือโดยการแกว่งหลอดเบา ๆ และปิดหลอดโดยใช้ฝาครอบปิด

   1f. เติม QIAscreen Positive Control 5 µL ลงในหลอดตำแหน่งที่ 1 ผสมโดยการใช้ปิเปตดูดขึ้นลง หรือโดยการแกว่งหลอดเบา ๆ และปิดหลอด
   หมายเหตุ: เปลี่ยนทิปที่ใช้กับแต่ละหลอดเพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนเทมเพลตไม่จำเพาะหรือส่วนผสมของปฏิกิริยาซึ่งอาจทำให้เกิดผลบวกปลอมได้

   1g. เติม DNA ตัวอย่าง 5 µL ใส่หลอดที่มี ส่วนผสม master QIAscreen ตามความเหมาะสม ผสมโดยการใช้ปิเปตดูดขึ้นลง และด้วยการแกว่งหลอดเบา ๆ และปิดหลอดโดยกดฝาครอบปิดหลอด

   1h. เมื่อเติมหลอดครบชุด 4 หลอดแล้ว ให้ปิดหลอด
   หมายเหตุ: สามารถเก็บหลอด PCR ไว้ได้นาน 30 นาที ตั้งแต่ใช้ปิเปตเติมตัวอย่างลงในหลอด PCR จนถึงเริ่มการทดลองในเครื่อง โดยเก็บไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิ 2-8°C

2. เตรียมเครื่อง Rotor-Gene Q MDx และเริ่มการทดลองดังต่อไปนี้:

   สิ่งสำคัญ: ก่อนเริ่มการทำงานครั้งแรกของวัน โปรดเปิดอุ่นเครื่อง Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM ที่อุณหภูมิ 95°C นาน 10 นาที

   2a. วาง 72-well rotor ลงบน rotor holder

   2b. ใส่หลอดแถบลงในโรเตอร์ตามตำแหน่งที่กำหนดไว้ โดยเริ่มจากตำแหน่งที่ 1 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 โดยมีหลอดแถบเปล่าที่ปิดฝาไว้วางในทุกตำแหน่งที่ไม่ได้ใช้
   หมายเหตุ: ตรวจสอบให้แน่ใจว่าได้ใส่หลอดแรกไว้ในตำแหน่งที่ 1 และหลอดแถบต่าง ๆ ได้วางในทิศทางและตำแหน่งที่ถูกต้อง ดังที่แสดงไว้ใน ตารางที่ 1

   2c. ติดวงแหวนสำหรับล็อก

   2d. โหลดโรเตอร์และวงแหวนสำหรับล็อกลงในเครื่อง Rotor-Gene Q MDx แล้วปิดฝาเครื่อง

   2e. ไปที่หน้าต่าง **New Run** (การดำเนินการใหม่) แล้วคลิก **Open a template in another folder...** (เปิดเทมเพลตในหน้าต่างอื่น)

   2f. เลือกเทมเพลตการทำงาน QIAscreen ที่ชื่อว่า **QIAscreen RGQ profile v1.0.ret**

   2g. การเลือกประเภทโรเตอร์: **72-well rotor Locking ring attached** (ติดวงแหวนสำหรับล็อกไว้แล้ว) และคลิก **Next** (ถัดไป)

   2h. ที่ช่องผู้ปฏิบัติการ ให้ป้อนชื่อย่อแล้วคลิก **Next** (ถัดไป)

   2i. ในหน้าต่างต่อจากนั้น คลิก **Next** (ถัดไป)

   2j. คลิก **Start Run** (เริ่มการทำงาน)
   หากต้องการป้อนชื่อตัวอย่าง คลิกที่ **Edit samples** (แก้ไขชื่อตัวอย่าง) (ซึ่งสามารถทำได้หลังการทำงานเสร็จสมบูรณ์แล้วเช่นกัน)

ตารางที่ 2 การตั้งค่าเป้าหมายและช่อง*

เป้าหมาย	ช่องการตรวจหา
β-globin	**Orange**
HPV 16	**Green**
HPV 18	**Red**
HPV อื่น*	**Yellow**

* HPV อื่น ประกอบด้วยการรวมตัวอย่าง HPV ประเภท 13 ที่ไม่ใช่ 16/18

3. วิเคราะห์ข้อมูล

3a. เลือกหลอดที่จะใช้เพื่อการวิเคราะห์

3b. ไปที่ หน้าต่าง **Analysis tool** (เครื่องมือวิเคราะห์) เลือก **Cycling A. Green** (วงจร A สีเขียว) แล้วคลิก **Show** (แสดง) คลิก **Import** (นำเข้า) ภายใต้หัวข้อ **Imported Settings** (การตั้งค่านำเข้า) (ด้านล่างขวาของหน้าต่าง) แล้วเลือกไฟล์ **QIAscreen RGQ Green Channel analysis template.qut** เลือก **Cycling A. Green** (วงจร A สีเขียว) แล้วคลิก **Hide** (ซ่อน)

3c. เลือก **Cycling A. Orange** (วงจร A สีส้ม) แล้วคลิก **Show** (แสดง) คลิก **Import** (นำเข้า) ภายใต้หัวข้อ **Imported Settings** (การตั้งค่านำเข้า) (ด้านล่างขวาของหน้าต่าง) แล้วเลือกไฟล์ **QIAscreen RGQ Orange Channel analysis template.qut** เลือก **Cycling A.Orange** (วงจร A สีส้ม) แล้วคลิก **Hide** (ซ่อน)

3d. เลือก **Cycling A. Red** (วงจร A สีแดง) แล้วคลิก **Show** (แสดง) คลิก **Import** (นำเข้า) ภายใต้หัวข้อ **Imported Settings** (การตั้งค่านำเข้า) (ด้านล่างขวาของหน้าต่าง) แล้วเลือกไฟล์ **QIAscreen RGQ Red Channel analysis template.qut** เลือก **Cycling A. Red** (วงจร A สีแดง) แล้วคลิก **Hide** (ซ่อน)

3e. เลือก **Cycling A. Yellow** (วงจร A สีเหลือง) แล้วคลิก **Show** (แสดง) คลิก **Import** (นำเข้า) ภายใต้หัวข้อ **Imported Settings** (การตั้งค่านำเข้า) (ด้านล่างขวาของหน้าต่าง) แล้วเลือกไฟล์ **QIAscreen RGQ Yellow Channel analysis template.qut**

3f. คลิก **Save** (บันทึก)

3g. ตัวเลือก: สำหรับการแปลผล สามารถส่งออกข้อมูลเป็นไฟล์ .csv ได้ ไปที่ **File** (ไฟล์) > **Save as** (บันทึกเป็น) > **Excel Analysis Sheet** (ชีทการวิเคราะห์ด้วยเอ็กเซล) แล้วบันทึกไฟล์ส่งออก

4. นำสิ่งที่อยู่ภายในออกจากเครื่อง Rotor-Gene Q MDx และทิ้งหลอดแถบตามระเบียบข้อบังคับด้านความปลอดภัยในท้องถิ่นของคุณ

การแปลผล

เกณฑ์การตรวจสอบความถูกต้องในการทำงานและตัวอย่างได้ระบุไว้ต่อจากนี้ภายใต้หัวข้อ A และ B ตามลำดับ มาตรการที่เหมาะสมได้ระบุไว้ในกรณีที่ไม่ตรงตามเกณฑ์หนึ่งอย่าง (หรือมากกว่านั้น)

A. เกณฑ์การตรวจสอบความถูกต้องของตัวควบคุม QIAscreen HPV PCR Test

เป้าหมายใน ตัวควบคุมที่เป็นบวกของ QIAscreen ควรให้ค่า C_T ที่ต่ำกว่า 29 สำหรับ β-globin ต่ำกว่า 30 สำหรับ HPV 16 และ HPV 18 และต่ำกว่า 32 สำหรับ HPV อื่น หากไม่เป็นไปตามนี้ และการตั้งค่าการวิเคราะห์ถูกต้อง ควรทำการทดลองซ้ำ

ไม่ควรมีเป้าหมายใดใน ตัวควบคุมที่เป็นลบของ QIAscreen ให้สัญญาณเหนือขีดค่าเกณฑ์จนกระทั่งถึงการสิ้นสุดการทำงานของ PCR (นั่นคือ รอบ 40 หรือไม่ได้ระบุไว้) หากมองเห็นสัญญาณก่อนถึงรอบ 40 และการตั้งค่าการวิเคราะห์ถูกต้อง ควรทำการทดลองซ้ำ

หมายเหตุ: หากตัวควบคุมไม่สอดคล้องตามขีดจำกัดที่กำหนดไว้ และการทำซ้ำได้ตัดความคลาดเคลื่อนในเทคนิคออกแล้ว โปรดตรวจสอบสิ่งต่อไปนี้:

- วันหมดอายุบนบรรจุภัณฑ์ของน้ำยา
- อุณหภูมิของน้ำยา
- การตั้งค่าของระบบ PCR และของซอฟต์แวร์
- การปนเปื้อน

หากตัวควบคุมยังคงไม่ถูกต้อง โปรดติดต่อฝ่ายบริการลูกค้าของผู้ผลิต หรือตัวแทนจำหน่ายในท้องถิ่นของคุณ

B. การแปลผลผลลัพธ์ของตัวอย่าง

ผลลัพธ์สำหรับตัวอย่างระบุความหมายได้ดังต่อไปนี้ (ตารางที่ 3).

ตารางที่ 3 การแปลผล

	ค่า C_T ของ HPV เป้าหมาย	ค่า C_T ของ β-globin	การแปลผล
1	HPV 16 และ/หรือ HPV 18 <36 และ/หรือ HPV อื่น <33.5	ใด ๆ	HPV เป็นบวก
2	HPV 16 และ HPV 18 ≥36 หรือไม่ระบุ และ HPV อื่น ≥33.5 หรือไม่ระบุ	≤30	HPV เป็นลบ
3	HPV 16 และ HPV 18 ≥36 หรือไม่ระบุ และ HPV อื่น ≥33.5 หรือไม่ระบุ	>30	ไม่ถูกต้อง

1. HPV เป็นบวก เมื่อค่า C_T ของ HPV 16 และ/หรือ HPV 18 <36 และ/หรือ HPV อื่น <33.5 (โดยไม่เกี่ยวข้องกับค่า C_T ของ β-globin) ช่องนั้นบ่งชี้ว่ามีชนิดนั้นอยู่ **2. HPV เป็นลบ** เมื่อค่า C_T สำหรับ β-globin ≤30 และค่า C_T สำหรับ HPV 16 และ HPV 18 ≥36 หรือไม่แสดงสัญญาณ และ HPV อื่น ≥33.5 หรือไม่แสดงสัญญาณ **3. ไม่ถูกต้อง** เมื่อค่า C_T สำหรับ β-globin >30 และค่า C_T -ของ HPV 16 และ HPV 18 ≥36 หรือไม่แสดงสัญญาณ และ HPV อื่น ≥33.5 หรือไม่แสดงสัญญาณ

ข้อจำกัด

- สำหรับวัตถุประสงค์การใช้งานตามที่ระบุไว้ ควรใช้การทดสอบนี้กับสิ่งส่งตรวจที่ขูดจากปากมดลูกหรือสิ่งส่งตรวจที่เก็บจากช่องคลอด (ถึงปากมดลูก) ด้วยตนเอง อย่างไรก็ตาม ได้มีการประเมิน QIAscreen HPV PCR Test สำหรับใช้งานกับ DNA ที่สกัดจากตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ผนึกไว้ในพาราฟิน (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE) ด้วย
- การเก็บตัวอย่าง การขนส่ง และการเก็บรักษา อาจส่งผลต่อจำนวนสำเนาของเป้าหมายส่งผลให้อาจเกิดปัญหาการได้ผลบวกปลอมหรือผลลบปลอมได้
- คำแนะนำเหล่านี้ใช้ได้กับเครื่อง Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM เท่านั้น
- ประสิทธิภาพที่ไม่ดีในการสกัด DNA อาจทำให้ได้ผลการทดสอบที่ไม่ถูกต้อง โปรดปรึกษาผู้จัดจำหน่ายในท้องถิ่นของคุณ หรือฝ่ายบริการลูกค้าของผู้ผลิตเพื่อขอคำแนะนำทางเทคนิคเกี่ยวกับโปรโตคอลการสกัด DNA หากยังมีปัญหานี้อยู่
- ตัวอย่างที่ให้ผลลัพธ์ไม่ชัดเจนเนื่องจากมีจำนวนสำเนาของเป้าหมายน้อยสามารถยืนยันได้โดยทำการวิเคราะห์ซ้ำ
- ในกรณีที่พบได้น้อย รอยโรคที่ปากมดลูกอาจเกิดขึ้นได้จากสิ่งที่ปรวนแปรจาก HPV ตามธรรมชาติหรือ HPV ประเภทที่ไม่ได้เป็นเป้าหมายของ QIAscreen HPV PCR Test
- น้ำยา QIAscreen HPV PCR Test ต้องใช้ในการวินิจฉัยนอกร่างกายเท่านั้น
- การใช้การทดสอบ PCR ต้องมีการปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการที่ดี รวมทั้งมีการบำรุงรักษาอุปกรณ์ซึ่งใช้สำหรับอณูชีววิทยาโดยเฉพาะและสอดคล้องตามระเบียบข้อบังคับที่บังคับใช้และมาตรฐานที่เกี่ยวข้อง
- น้ำยาและคำแนะนำที่ให้มาพร้อม QIAscreen HPV PCR Test ได้ผ่านการตรวจสอบความถูกต้องเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพดีที่สุด
- QIAscreen HPV PCR Test ต้องใช้โดยเจ้าหน้าที่วิชาชีพทางห้องปฏิบัติการที่ได้รับการฝึกอบรมการใช้งานเครื่อง Rotor-Gene Q MDx มาแล้ว
- ผลิตภัณฑ์นี้จะต้องนำมาใช้งานโดยบุคลากรที่ได้รับคำแนะนำและผ่านการฝึกอบรมเป็นพิเศษด้าน real-time PCR และกระบวนการวินิจฉัยนอกกายเท่านั้น ต้องมีการแปลผลการวินิจฉัยที่ได้ ร่วมกับการตรวจพบทางคลินิกหรือห้องปฏิบัติการอื่น ๆ
- ต้องปฏิบัติตามคำแนะนำการใช้งาน (คู่มือ) อย่างเคร่งครัดเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ QIAscreen HPV PCR Test ที่ดีที่สุด

- ต้องใส่ใจเรื่องวันหมดอายุที่พิมพ์อยู่บนกล่องและฉลากของชิ้นส่วนประกอบทั้งหมด ห้ามใช้ชิ้นส่วนประกอบที่หมดอายุแล้ว
- น้ำยาทั้งหมดที่ให้มาใน QIAscreen HPV PCR Test มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้กับน้ำยาอื่น ๆ ที่ให้มาในชุดอุปกรณ์เดียวกันเท่านั้น มิเช่นนั้นแล้วอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพได้
- การใช้ผลิตภัณฑ์นี้นอกข้อบ่งใช้และ/หรือการดัดแปลงแก้ไขส่วนประกอบจะทำให้ความรับผิดของ Self-screen B.V. เป็นโมฆะ
- เป็นความรับผิดชอบของผู้ใช้ในการตรวจสอบความถูกต้องประสิทธิภาพของระบบสำหรับขั้นตอนใด ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการของตนที่ไม่ครอบคลุมโดยการศึกษาประสิทธิภาพ

คุณลักษณะประสิทธิภาพ

ขีดจำกัดการตรวจจับ (Limit of Detection, LoD)

กำหนดขีดจำกัดการตรวจจับ (limit of detection, LoD) โดยใช้ gBlock (นั่นคือบล็อก DNA จีโนมแบบสายคู่) ที่มีชิ้นส่วนของยีน E7 ของจีโนไทป์ HPV มีการเตรียมชุดการละลาย gBlock 3 เท่าของ HPV ที่เป็นเป้าหมาย 15 ประเภท (ได้แก่ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67,และ 68) ในพื้นหลังที่เป็น DNA มนุษย์ 50 ng และทำการทดสอบใน 8 เท่า สำหรับ β-globin มีการประเมิน LoD โดยใช้ชุดการละลายในน้ำ 3 เท่าของ gBlock ที่มียีน β-globin บางส่วน ซึ่งถูกทดสอบใน 8 เท่า

ตารางที่ 4 ขีดจำกัดการตรวจจับ (Limit of detection, LoD) ของการทดสอบ QIAscreen HPV PCR Test เพื่อตรวจหา HPV ประเภท 15 และยีน β-globin

เป้าหมาย	LoD (สำเนาต่อ 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

ความจำเพาะเชิงวิเคราะห์*

ความจำเพาะเชิงวิเคราะห์ได้กำหนดโดยเทียบกับ DNA ในพลาสมาของจีโนม HPV ที่ไม่ใช่เป้าหมาย (ได้แก่ HPV 6, 11, 26, 40, 42, 43, 53, 61 และ 70) ที่ความเข้มข้นโดยมีอย่างน้อย 46,000 สำเนา/การทดสอบ และเทียบกับจุลชีพในช่องคลอดที่อาจก่อโรคได้มากที่สุด 3 ชนิด *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* และ *Candida albicans* ที่ความเข้มข้นอย่างน้อย 10,000 สำเนา/การทดสอบ การทดสอบไม่แสดงปฏิกิริยาข้ามกับ HPV ประเภทที่ไม่ใช่เป้าหมาย 6, 11, 26, 40, 42, 43, 53, และ 61 หรือจุลชีพเหล่านั้น มีเพียง HPV 70 ที่พบว่ามีสัญญาณบวกในช่อง 'HPV อื่น' (นั่นคือช่องที่ตรวจรวมเชื้อ HPV ประเภท 13 ประเภทที่ไม่ใช่ 16/18 ไว้ด้วยกัน) ซึ่งหลังจากทำการเจือจางต่อไปสามารถตรวจพบได้ที่ >17,000 สำเนา/การทดสอบ HPV 70 จัดว่าเป็นเชื้อก่อมะเร็งได้ตามการศึกษาวิจัยด้านระบาดวิทยาวิวัฒนาการ และการทำงาน (11-13)

ประสิทธิภาพทางคลินิกต่อสิ่งส่งตรวจจากปากมดลูก (ชิ้นส่วนจากการขูด)

ความไวและความจำเพาะทางคลินิกของการทดสอบนี้สำหรับเนื้องอกในชั้นเยื่อบุปากมดลูกระดับ 2 หรือสูงกว่านั้น (cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or higher, CIN 2+) ในสิ่งส่งตรวจจากปากมดลูก (ชิ้นส่วนจากการขูด) ที่เก็บใน PreservCyt ได้ผ่านการตรวจสอบความถูกต้องในการศึกษาวิจัยที่แตกต่างกันสองครั้งโดยการวิเคราะห์แบบ non-inferiority ที่เกี่ยวข้องกับ HPV GP5+/6 ความเสี่ยงสูง+ PCR(10) หรือ Hybrid Capture 2 (14) ตามแนวทางปฏิบัติสากลสำหรับข้อกำหนดในการทดสอบ HPV เพื่อตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก (9) ความไวทางคลิกนิกสำหรับ CIN 2+ อยู่ที่ 96.8% (61/63) และ 92.9% (91/98) และความจำเพาะทางคลินิกสำหรับ CIN 2+ อยู่ที่ 95.1% (783/823) และ 94.2% (933/990) ตามลำดับ ความไวและความจำเพาะทางคลินิกไม่ด้อยไปกว่าการทดสอบอ้างอิง GP5+/6+ PCR (10) หรือ Hybrid Capture 2 (14) บ่งชี้ว่ามีประสิทธิภาพทางคลินิกดีมาก สำหรับผู้หญิงที่มี ASC-US หรือ LSIL พบว่ามีค่าความไวและความจำเพาะทางคลินิกสำหรับ CIN2+ ที่ 97.4% (37/38; 95%CI 83.5–99.6) และ 59.8% (52/87; 95%CI: 49.2–69.5) ตามลำดับ(14)

* มีการกำหนดคุณลักษณะประสิทธิภาพสำหรับการทดสอบเวอร์ชัน ABI7500 การวิเคราะห์ความเท่าเทียมแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพและความถูกต้องที่เหมือนกันสำหรับ QIAscreen HPV PCR Test สำหรับ Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM

ความสามารถในการทำซ้ำ*

มีการทดสอบความถูกต้องด้านความสามารถในการทำซ้ำระหว่างห้องปฏิบัติการและความตรงกันระหว่างห้องปฏิบัติการของการทดสอบนี้ตามแนวทางสากลสำหรับข้อกำหนดการทดสอบ HPV เพื่อตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก (9) ความสามารถในการทำซ้ำระหว่างห้องปฏิบัติการกับสิ่งส่งตรวจจากปากมดลูก (ชิ้นส่วนจากการขูด) เมื่อผ่านช่วงเวลาหนึ่ง อยู่ที่ 99.5% (544/547) โดยมีค่า kappa 0.99 และความตรงกันระหว่างห้องปฏิบัติการอยู่ที่ 99.2% (527/531) โดยมีค่า kappa 0.98 บ่งชี้ว่ามีการตรงกันดีมาก (10)

ประสิทธิภาพต่อสิ่งส่งตรวจที่เก็บจากช่องคลอด (ถึงปากมดลูก) ด้วยตนเอง*

ประสิทธิภาพของการทดสอบในสิ่งส่งตรวจที่เก็บจากช่องคลอด (ถึงปากมดลูก) ด้วยตนเองได้ผ่านการตรวจสอบด้วยวิธีการเก็บตัวอย่างที่แตกต่างกันสองวิธี 1) สิ่งส่งตรวจจากการล้างที่เก็บด้วยตนเอง และ 2) สิ่งส่งตรวจจากแปรงที่เก็บด้วยตนเอง สำหรับสิ่งส่งตรวจจากการล้างที่เก็บด้วยตนเอง ความสอดคล้องกับการทดสอบอ้างอิง GP5+/6+ PCR เป็น 96.7% (59/61) กับ CIN 2+ มีความไวอยู่ที่ 91.4% (21/23) (10) สำหรับสิ่งส่งตรวจจากแปรงที่เก็บด้วยตน ความสอดคล้องกับ GP5+/6+ PCR อยู่ที่ 92.9% (104/112) กับ CIN 2+ ความไวอยู่ที่ 93.9% (31/34) (10)

สารรบกวน*

ร่องรอยของ EDTA (0.5M), HCl (1N), เม็ดซิลิกา (1 µL), เลือด(1 µL), ยูเรียม (40 g/100 mL) และบัฟเฟอร์การสลายตัวยับยั้งประสิทธิภาพของการทดสอบ ETOH 96% (1 µL) และ DMSO 4 % (v/v) ไม่มีผลยับยั้งประสิทธิภาพการทำงานของการทดสอบ การยับยั้งถูกตรวจติดตามด้วยการควบคุมตัวอย่าง (เช่น เป้าหมาย β-globin)

* มีการกำหนดคุณลักษณะประสิทธิภาพสำหรับการทดสอบเวอร์ชัน ABI7500 การวิเคราะห์ความเท่าเทียมแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพและความถูกต้องที่เหมือนกันสำหรับ QIAscreen HPV PCR Test สำหรับ Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM

เอกสารอ้างอิง

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.

แนวทางการแก้ไขปัญหา

แนวทางการแก้ไขปัญหานี้อาจช่วยแก้ปัญหาที่อาจเกิดขึ้น สำหรับข้อมูลเพิ่มเติม โปรดดูหน้าคำถามที่พบบ่อยที่ศูนย์ให้การสนับสนุนด้านเทคนิค: **www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx** นักวิทยาศาสตร์ในฝ่ายบริการด้านเทคนิคของบริษัท QIAGEN ยินดีตอบคำถามที่คุณอาจมีเกี่ยวกับทั้งข้อมูลหรือแนวทางปฏิบัติในคู่มือฉบับนี้ หรือตัวอย่างและเทคโนโลยีการทดสอบ (สำหรับข้อมูลติดต่อให้ไปที่ **www.qiagen.com**)

		ความคิดเห็นและคำแนะนำ
ตัวอย่างได้ผลว่าไม่ถูกต้อง: การเพิ่มจำนวนของ β-globin น้อยเกินไปหรือไม่มีอยู่		
a)	ข้อผิดพลาดในการใช้ปิเปตเติมสาร หรือมีน้ำยาขาดหายไป ดู "PCR บนเครื่อง Rotor-Gene Q MDx ที่มีโรเตอร์ 72 หลอด" ในหน้า 20	ตรวจสอบวิธีการใช้ปิเปต และการจัดเตรียมปฏิกิริยา ตรวจตัวอย่างนั้นซ้ำ
b)	ตรวจสอบสารชะ DNA	ทำการสกัด DNA ซ้ำ
ผลของตัวควบคุมที่เป็นบวกไม่ถูกต้อง: การเพิ่มจำนวนน้อยเกินไปหรือไม่มีอยู่สำหรับเป้าหมายหนึ่งตัวขึ้นไป		
a)	ข้อผิดพลาดในการใช้ปิเปตเติมสาร หรือมีน้ำยาขาดหายไป ดู "PCR บนเครื่อง Rotor-Gene Q MDx ที่มีโรเตอร์ 72 หลอด" ในหน้า 20	ตรวจสอบวิธีการใช้ปิเปต และการจัดเตรียมปฏิกิริยา ตรวจตัวอย่างนั้นซ้ำ
b)	มีการเสื่อมสภาพบางส่วน	จัดเก็บส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์ที่อุณหภูมิ –15 ถึง –30°C หลีกเลี่ยงการแช่แข็งหรือการละลายซ้ำ ไม่ให้เกินห้ารอบ
c)	น้ำยา PCR เสื่อมสภาพบางส่วน	จัดเก็บส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์ที่ –15 ถึง –30°C และเก็บส่วนผสมของการทำปฏิกิริยาไว้โดยไม่ให้โดนแสง หลีกเลี่ยงการแช่แข็งและการละลายซ้ำ
d)	มีการบิดพลิกของหลอดแถบ	ตรวจสอบวิธีการใช้ปิเปต และการจัดเตรียมปฏิกิริยา
e)	วันหมดอายุ	ตรวจวันหมดอายุของชุดอุปกรณ์ที่ใช้งาน
f)	มีความล่าช้าระหว่างการใช้ปิเปตเติมสารไปจนถึงเริ่มการทำงาน	สามารถเก็บหลอด PCR ไว้ได้นาน 30 นาที ตั้งแต่ใช้ปิเปตเติมตัวอย่างลงในหลอด PCR จนถึงเริ่มการทำงานเครื่อง โดยเก็บไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิ 2-8°C

ตัวควบคุมแบบไม่มีเทมเพลต (No Template Control, NTC) ไม่ถูกต้อง

a)	ข้อผิดพลาดในการใช้ปิเปตเติมสาร หรือมีน้ำยาขาดหายไป ดู "PCR บนเครื่อง Rotor-Gene Q MDx ที่มีโรเตอร์ 72 หลอด" ในหน้า 20	ตรวจสอบวิธีการใช้ปิเปต และการจัดเตรียมปฏิกิริยา ตรวจตัวอย่างนั้นซ้ำ

ไม่พบสัญญาณในตัวอย่างหรือมีสัญญาณต่ำ แต่ในการทำงานของตัวควบคุมปกติดี

a)	มีผลยับยั้ง	ต้องตรวจสอบเสมอว่าไม่มีบัฟเฟอร์หลงเหลือระหว่างการสกัด DNA ทำการสกัด DNA ซ้ำ
b)	มีความผิดพลาดในการปิเปต ดู "PCR บนเครื่อง Rotor-Gene Q MDx ที่มีโรเตอร์ 72 หลอด" ในหน้า 20	ตรวจสอบวิธีการใช้ปิเปต และการจัดเตรียมปฏิกิริยา ทำซ้ำการดำเนินการ PCR

หากยังคงมีปัญหาอยู่โปรดติดต่อ ฝ่ายบริการด้านเทคนิคของบริษัท QIAGEN

สัญลักษณ์

สัญลักษณ์ต่อไปนี้อาจปรากฏอยู่บนบรรจุภัณฑ์และฉลากกำกับ:

สัญลักษณ์	นิยามของสัญลักษณ์
	ใช้ก่อนวันที่
	เครื่องมือแพทย์สำหรับการวินิจฉัยภายนอกร่างกาย
	สัญลักษณ์แสดง CE-IVD
	หมายเลขแค็ตตาล็อก
	หมายเลขล็อต
	หมายเลขวัสดุ
	ส่วนประกอบ
	สิ่งที่บรรจุไว้
	จำนวน
	R หมายถึงการแก้ไขคำแนะนำการใช้งานและ n คือหมายเลขของการแก้ไขนั้น
	หมายเลขรายการการค้าทั่วโลก
	ขีดจำกัดอุณหภูมิ
	ผู้ผลิต
	หลีกเลี่ยงไม่ให้โดนแสงแดด
	ดูคำแนะนำการใช้งาน
	ข้อควรระวัง

ข้อมูลติดต่อ

หากต้องการขอรับความช่วยเหลือด้านเทคนิคหรือต้องการทราบข้อมูลเพิ่มเติม โปรดติดต่อศูนย์สนับสนุนด้านเทคนิคของเรา ที่ **www.qiagen.com/Support**, โทรศัพท์ 00800-22-44-6000, หรือติดต่อแผนกบริการด้านเทคนิคของ QIAGEN ที่ใดที่หนึ่งหรือผู้จัดจำหน่ายในท้องถิ่นของท่าน (ดูที่ปกหลัง หรือไปที่ **www.qiagen.com**)

ข้อมูลการสั่งซื้อ

ผลิตภัณฑ์	ส่วนประกอบ	หมายเลขแค็ตตาล็อก
QIAscreen HPV PCR Test	สำหรับ 72 ปฏิกิริยา รวม: ส่วนผสม master, ตัวควบคุมที่เป็นบวก, ตัวควบคุมที่เป็นลบ คำแนะนำการใช้งาน	617005
QIAsymphony SP	โมดูลการเตรียมตัวอย่างของ QIAsymphony (ตัวเลือกสำหรับการสกัด)	9001297
Rotor-Gene Q MDx		
Rotor-Gene Q MDx HRM System	PCR cycler แบบเรียลไทม์และอุปกรณ์วิเคราะห์การละลายความละเอียดสูง (High Resolution Melt analyzer) ที่มี 5 ช่อง (เขียว เหลือง ส้ม แดง แดงเข้ม) พร้อมช่อง HRM, คอมพิวเตอร์แล็ปท็อป, ซอฟต์แวร์, อุปกรณ์เสริมต่าง ๆ: รวมไปถึงการรับประกัน 1 ปี สำหรับชิ้นส่วนต่าง ๆ และค่าแรง การติดตั้ง และการอบรม	9002035
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	PCR cycler แบบเรียลไทม์และอุปกรณ์วิเคราะห์การละลายความละเอียดสูง (High Resolution Melt analyzer) ที่มี 5 ช่อง (เขียว เหลือง ส้ม แดง แดงเข้ม) พร้อมช่อง HRM, คอมพิวเตอร์แล็ปท็อป, ซอฟต์แวร์, อุปกรณ์เสริมต่าง ๆ: รวมไปถึงการรับประกัน 1 ปี สำหรับชิ้นส่วนต่าง ๆ และค่าแรง ไม่รวมการติดตั้งและการอบรม	9002032

อุปกรณ์เสริมของ Rotor-Gene Q MDx		
Loading Block 72 x 0.1 mL Tubes	บล็อกอลูมิเนียมสำหรับการติดตั้งการทำปฏิกิริยาด้วยตนเอง พร้อมปิเปตช่องเดี่ยว (single-channel pipet) ในหลอดขนาด 0.1 ml จำนวน 72 หลอด	9018901
Strip Tubes and Caps, 0.1 mL (250)	จำนวน 250 แถวโดยมีแถวละ 4 หลอดและฝาปิดสำหรับ 1000 ปฏิกิริยา	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 mL (2500)	250 แถว x 10 ชุด โดยมีแถวละ 4 หลอดและฝาปิดสำหรับ 10,000 ปฏิกิริยา	981106

สำหรับข้อมูลใบอนุญาตและข้อมูลปฏิเสธความรับผิดชอบจำเพาะผลิตภัณฑ์ที่เป็นปัจจุบัน โปรดดูคู่มือชุดอุปกรณ์ QIAGEN หรือคู่มือสำหรับผู้ใช้งานที่เกี่ยวข้อง ท่านสามารถอ่านคู่มือชุดอุปกรณ์ QIAGEN และคู่มือผู้ใช้งานได้ที่ **www.qiagen.com** หรือสามารถขอได้จาก ฝ่ายบริการด้านเทคนิคของบริษัท QIAGEN หรือผู้แทนจำหน่ายในประเทศของท่าน

ประวัติการแก้ไขเอกสาร

วันที่	การเปลี่ยนแปลงแก้ไข
R2 สิงหาคม 2018	อัปเดตหัวข้อคำเตือนและข้อควรระวัง; เพิ่ม CellSolutions® ในหัวข้อการจัดเก็บและการจัดการสิ่งส่งตรวจ และเครื่องหมายการค้า; แก้ไขหัวข้อการเตรียมตัวอย่างเพื่อเปลี่ยนค่าเศษส่วนเป็นจำนวนร้อยละ; อัปเดตโปรโตคอล: QIAscreen HPV PCR Test สำหรับ RGQ MDx; แก้ไขคอลัมน์ 3 ของ ตารางที่ 1 ในโปรโตคอล: QIAscreen HPV PCR Test สำหรับ RGQ MDx; อัปเดตหัวข้อ PCR บน RGQ MDx ที่มีโรเตอร์แบบ 72-หลอด เพื่อเพิ่มหมายเหตุสำคัญและเปลี่ยนหน้าต่างการทดลองใหม่เป็นการทำงานใหม่; อัปเดตหัวข้อคุณลักษณะประสิทธิภาพ; แก้ไขหมายเลขแค็ตตาล็อกสำหรับ QIAscreen HPV PCR Test; อัปเดตรูปแบบเลย์เอาต์
R3 มิถุนายน 2023	อัปเดตหัวข้อการจัดเก็บและจัดการตัวอย่าง; อัปเดตหัวข้อการเตรียมตัวอย่างโดยมีการเตรียมตัวอย่างที่เก็บใน SurePath และคำแนะนำสำหรับการสกัด DNA ด้วย QIAamp DSP Virus Spin kit และการสกัด DNA ด้วย QIAsymphony โดยใช้ QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi kit; อัปเดตประสิทธิภาพทางคลินิกสำหรับตัวอย่างที่จัดเก็บไว้ใน SurePath และเพิ่มเอกสารอ้างอิงสำหรับการตรวจสอบตัวอย่างที่จัดเก็บใน SurePath

ข้อตกลงใบอนุญาตแบบจำกัดสำหรับ QIAscreen HPV PCR Test

การใช้ผลิตภัณฑ์นี้แสดงว่าผู้ซื้อหรือผู้ใช้งานผลิตภัณฑ์ยอมรับข้อตกลงดังต่อไปนี้:

1. ผลิตภัณฑ์นี้จะใช้ได้ตามโปรโตคอลที่ให้มากับผลิตภัณฑ์และคู่มือนี้เท่านั้น และสำหรับใช้ร่วมกับส่วนประกอบที่บรรจุมาในชุดอุปกรณ์นี้เท่านั้น QIAGEN ไม่ให้ใบอนุญาตภายใต้ทรัพย์สินทางปัญญาใด ๆ ของบริษัทในการใช้หรือนำชิ้นส่วนอุปกรณ์ที่รวมอยู่ในชุดอุปกรณ์นี้ไปใช้ร่วมกับชิ้นส่วนอุปกรณ์ใด ๆ ที่ไม่ได้รวมอยู่ในชุดอุปกรณ์นี้ เว้นเสียแต่ได้บรรยายไว้ในเกณฑ์วิธีที่ให้มากับผลิตภัณฑ์ คู่มือฉบับนี้ และเกณฑ์วิธีเพิ่มเติมต่าง ๆ ที่พบได้ที่ www.qiagen.com โปรโตคอลเพิ่มเติมเหล่านี้บางรายการ ผู้ใช้ของ QIAGEN เป็นผู้จัดหาให้แก่ผู้ใช้ของ QIAGEN โปรโตคอลเหล่านี้อาจไม่ได้รับการทดสอบอย่างครบถ้วนสมบูรณ์หรือได้รับการปรับให้เหมาะสมที่สุดโดย QIAGEN QIAGEN ไม่รับประกันและไม่รับรองว่าโปรโตคอลเหล่านี้จะไม่ละเมิดสิทธิ์ของบุคคลอื่น

2. นอกเหนือจากใบอนุญาตที่ได้แจ้งไว้โดยชัดแจ้งแล้ว QIAGEN ไม่รับประกันว่าชุดอุปกรณ์นี้และ/หรือการใช้งานชุดอุปกรณ์จะไม่ละเมิดสิทธิ์ของบุคคลอื่น

3. ชุดอุปกรณ์และชิ้นส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์นี้ได้รับอนุญาตสำหรับการใช้งานครั้งเดียว และห้ามใช้ซ้ำ ทำใหม่ หรือขายซ้ำ

4. QIAGEN ปฏิเสธความรับผิดชอบในใบอนุญาตอื่นใดโดยเฉพาะ ทั้งที่แจ้งชัดหรือโดยนัยนอกเหนือจากที่ได้แจ้งไว้อย่างชัดแจ้ง

5. ผู้ซื้อหรือผู้ใช้ชุดอุปกรณ์นี้ตกลงที่จะไม่นำหรืออนุญาตให้บุคคลอื่นใดดำเนินการในขั้นตอนใด ๆ ที่อาจนำไปสู่หรืออำนวยความสะดวกให้เกิดการกระทำต้องห้ามที่กล่าวไว้ข้างต้น QIAGEN อาจบังคับใช้ข้อห้ามของข้อตกลงการใช้สิทธิ์แบบจำกัดในศาลใด ๆ และพึงเรียกชดใช้ค่าใช้จ่ายในการสืบสวนและค่าศาลทั้งหมด รวมถึงค่าทนาย ในการกระทำใด ๆ เพื่อบังคับใช้ข้อตกลงการใช้สิทธิ์แบบจำกัดนี้ หรือสิทธิในทรัพย์สินทางปัญญาใด ๆ ของบริษัท ที่เกี่ยวข้องกับแผงอุปกรณ์นี้และ/หรือชิ้นส่วนประกอบของชุดอุปกรณ์นี้

สำหรับเงื่อนไขการรับใบอนุญาตที่อัปเดตแล้ว ดู **www.qiagen.com**

เครื่องหมายการค้า: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAsymphony®, MinElute®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); PreservCyt® (Hologic, Inc.); CellSolutions®; Pathtezt® (Pathtezt); SurePath® (Becton Dickinson and Company) ชื่อและเครื่องหมายการค้าจดทะเบียน และข้อมูลอื่น ๆ ที่ใช้ในเอกสารฉบับนี้ แม้ว่าจะไม่ได้ทำเครื่องหมายโดยเฉพาะเจาะจงว่าเป็นเช่นนั้นก็ตาม มิได้ถือว่าไม่ได้รับการปกป้องตามกฎหมาย

Self-screen B.V. เป็นชื่อบริษัทผู้ผลิตตามกฎหมายของ QIAscreen HPV PCR Test

QIAscreen HPV PCR Test ได้รับการผลิตให้ QIAGEN โดย Self-screen B.V.

สงวนลิขสิทธิ์ 1132289TH 06/2023 HB-2579-004 © 2023 QIAGEN