

Haziran 2023

QIAscreen® HPV PCR Test Kullanma Talimatı (El Kitabı)



Sürüm 1

IVD

İn vitro tanı amaçlı kullanım içindir
Rotor-Gene® Q MDx cihazıyla kullanım için

CE

REF

617005



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

R3 **MAT**

1132289TR

Sample to Insight



İçerik

Kullanım Amacı	4
Özet ve Açıklama	5
Prosedür Prensipleri	6
Sağlanan Materyaller	7
Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Malzemeler	8
Örnek hazırlığı için sarf malzemeleri, reaktifler ve cihazlar	8
Rotor-Gene Q MDx Cihazı için sarf malzemeleri	8
Ekipman	8
Ekstraksiyon ve real-time PCR için ekipmanlar	9
Uyarılar ve Önlemler	10
Güvenlik bilgileri	10
Genel önlemler	10
Reaktif Saklama ve Kullanma	12
Numune Saklama ve Kullanma	13
Örnek Hazırlama	15
Protokol: Rotor-Gene Q MDx cihazında QIAscreen HPV PCR Test	18
72 tüplük rotora sahip Rotor-Gene Q MDx cihazlarında PCR	20
Sonuçların Yorumlanması	23
Sınırlamalar	25
Performans Özellikleri	27
Tespit Sınırı (Limit of Detection, LoD)	27
Analitik özgüllük	28

Servikal numuneler (kazıntılar) üzerinde klinik performans	28
Yeniden üretilebilirlik*	29
Kendi kendine toplanan (serviko-)vajinal numuneler üzerinde performans	29
Olumsuz etkileyen maddeler*	29
Referanslar	30
Sorun Giderme Kılavuzu	32
Semboller	34
İletişim Bilgileri.....	35
Sipariş Bilgileri.....	36
Belge Revizyon Geçmişi.....	38

Kullanım Amacı

QIAScreen HPV PCR Test, aşağıdaki 15 (muhtemelen) yüksek riskli HPV genotipinin insan papillomavirüs (human papillomavirus, HPV) DNA'sının kalitatif saptanması için bir in vitro real-time PCR bazlı tahlildir: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 ve 68.

QIAScreen HPV PCR Test ile test edilebilecek örnekler arasında, aşağıdaki yöntemlerle toplanan numunelerden izole edilen DNA yer almaktadır:

- Fırça/süpürge tipi bir toplama cihazı kullanılarak toplanan servikal numuneler (bir doktor tarafından toplanır)
- Fırça-süpürge veya lavaj cihazı kullanılarak toplanan vajinal numuneler (hastanın kendisi tarafından toplanır)

Kullanım endikasyonları:

- Kadınlarda servikal (pre)kanser risk taramasında, kolposkopi veya diğer takip işlemlerine sevk gereksinimini belirleme amaçlı birincil bir test olarak
- Pap testi sonuçlarında, önemi belirlenemeyen atipik skuamöz hücreler (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) veya düşük dereceli skuamöz intraepitelyal neoplazi (low-grade squamous intra-epithelial lesion, Işil) görülen kadınlarda, kolposkopi veya diğer takip işlemlerine sevk gereksinimini belirleme amaçlı bir takip testi olarak

Bu ürün, in vitro tanı amaçlı prosedürler, moleküler biyoloji teknikleri ve Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM sistemi konusunda eğitimli teknisyenler ve laborantlar gibi profesyonel kullanıcılar tarafından kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

Özet ve Açıklama

İnsan papillomavirüsleri (human papillomavirus, HPV) Papillomaviridae ailesine aittir ve küçük çift iplikli DNA virüslerinden oluşur. Dairesel genom boyut olarak yaklaşık 7,9 kilo bazdır. İçinde HPV 16 ve 18 gibi yüksek riskli HPV'ler (high-risk HPV, hrHPV) olarak bilinen ve ilerleyerek malignansiye dönebilen mukozal lezyonların indüksiyonu ile ilişkilendirilen belirli tiplerin de bulunduğu 100'den fazla HPV tipi tanımlanmıştır. Servikal kanser ve bunun prekürsör lezyonları (servikal intraepitelyal neoplazi (Cervical Intraepithelial Neoplasia, CIN)) yüksek riskli bir HPV tipi (1-3) olan kalıcı bir enfeksiyonun en iyi bilinen komplikasyonlarıdır.

Viral genom, sırasıyla HPV yaşam döngüsünün erken ve geç evreleri için gerekli olan proteinleri kodlayan erken (early, E) ve geç (late, L) genler içerir. hrHPV tiplerinin E6 ve E7 gen ürünleri kanserojen özelliklere sahiptir ve konak hücrenin kötü huylu dönüşümü için gereklidir (4). Kötü huylu ilerleme çoğu zaman konak hücrenin genomuna viral entegrasyonla ilişkilendirilir (5). Entegrasyon, E1'den L1 açık ölçüm çerçevesine uzanabilecek bir bölgede viral genomun engellenmesiyle sonuçlanır (6). Bunun, söz konusu bölgelerde viral DNA'nın PCR aracılı amplifikasyonuna yönelik sonuçları olabilir. Dönüşmüş fenotipin hem başlangıcı hem de sürdürülmesi viral onkoproteinlerin sürekli ekspresyonuna bağlı olduğu için (7, 8), viral E6/E7 bölgesi servikal kanserlerde her zaman entegre viral genomlarda tutulur (6). QIAscreen HPV PCR Test, E7 geni içinde korunmuş bir bölgeyi hedefler. Tahlil, diğer çalışmalarda ve HPV saptama tahlilleri için uluslararası ilkelere göre klinik olarak doğrulanmıştır (9, 10, 14, 15).

Prosedür Prensibi

QIAscreen HPV PCR Test, bir veya daha fazla biriken PCR ürününün saptanması için floresan problardan yararlanan 15 (muhtemelen) hrHPV tipinin E7 genine yöneltilmiş multipleks, real-time PCR bazlı bir tahlildir. Her bir PCR döngüsü esnasında floresan sinyal, logaritmik bir şekilde artarak bir amplifikasyon eğrisine yol açar. Hedefin amplifikasyon eğrisi, eşliğinin üzerine geldiği anda örnek söz konusu hedef için pozitif kabul edilir. Multipleks format reaksiyon başına dört farklı floresan boyanın aynı anda saptanmasına izin verir; burada her bir floresan boya farklı hedefleri temsil eder. Söz konusu dört farklı hedef aşağıdadır: **1.** HPV 16, **2.** HPV 18, **3.** bir havuz olarak diğer 13 hrHPV tipi ve **4.** insan β -globin geni. QIAscreen HPV PCR Test, HPV 16'yı, HPV 18'i ve diğer 13 hrHPV genotipinden oluşan havuzu ayrı ayrı saptar. İnsan β -globin geni hem örnek DNA'nın kalitesini hem de potansiyel inhibe edici maddelerin varlığını belirleyen örnek kontrolü olarak kullanılır.

Sağlanan Materyaller

Kit içeriđi

QIAscreen HPV PCR Test Kit

72 Reaksiyon

Katalog no.

617005

QIAscreen Master Mix (QIAscreen Ana Karışımı) (1 tüp)	Şeffaf renk	1080 µL
QIAscreen Positive Control (QIAscreen Pozitif Kontrolü) (1 tüp)	Şeffaf renk	100 µL
QIAscreen Negative Control (QIAscreen Negatif Kontrolü) (1 tüp)	Şeffaf renk	100 µL
QIAscreen HPV PCR Test Kullanma Talimatı (El Kitabı)		1

Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Malzemeler

Kimyasallar ile çalışırken daima uygun laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için ürün tedarikçisinden temin edilebilecek uygun güvenlik veri sayfalarına (Safety Data Sheets, SDS'ler) başvurun.

Örnek hazırlığı için sarf malzemeleri, reaktifler ve cihazlar

- Hologic PreservCyt® Solution (kendi kendine toplanan örneklerin saklanması için)
- QIAamp® DSP virus spin kit (QIAGEN, kat. no. 61704) ve QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit (QIAGEN, kat. no. 937055) ve NucleoMag 96 Tissue kit (Macherey-Nagel, kat. no. 744300) gibi standart DNA ekstraksiyon kitleri
- PreservCyt toplama ortamında servikal numunelerin kullanımına yönelik PBS
- SurePath ve CellSolutions toplama ortamında toplanan servikal numunelerin ön işlemi için AL buffer (QIAGEN, kat.no. 19075)

Rotor-Gene Q MDx Cihazı için sarf malzemeleri

- 0,1 mL Strip Tubes and Caps, 72-well rotor ile kullanım için (QIAGEN, kat. no. 981103 veya kat. no. 981106)

Ekipman

- Özel pipetler* (ayarlanabilir), PCR için (1-10 µL; 10-100 µL)
- Özel, filtre tapalı, steril, DNaz içermeyen pipet uçları
- Tek kullanımlık eldiven
- Masaüstü santrifüj*
- Vorteks karıştırıcı*

* Cihazların üreticinin önerilerine göre kontrol ve kalibre edilmiş olduğundan emin olun.

Ekstraksiyon ve real-time PCR için ekipmanlar

- QIASymphony SP Modülü (kat. no. 9001297) (isteğe bağlı ekstraksiyon otomasyonu için)
- Rotor-Gene Q yazılım sürümü 2.3.1 veya üzerine sahip Rotor-Gene Q 5plex HRM System (kat. no. 9002033) veya Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM cihazı (kat. no. 9002032)*
- Rotor-Gene Q için QIAScreen çalışma şablonu. Şablonun ismi "**QIAScreen RGQ profile v1.0.ret'dir**".
- Yeşil (HPV 16), sarı (HPV Diğer), turuncu (β -globin) ve kırmızı (HPV 18) kanallar için QIAScreen kanal analiz şablonları. Şablonlar ".qut" dosya uzantısına sahip olur.

* Varsa Ocak 2010 veya daha sonra üretilmiş Rotor-Gene Q 5plex HRM cihazı. Üretim tarihi bilgisi, cihazın arkasındaki seri numarasından elde edilebilir. Seri numarası, "mm" ibaresinin basamak olarak üretim ayını, "yy" ibaresinin üretim yılının son iki basamağını ve "nnn" ibaresinin benzersiz cihaz tanımlayıcıyı gösterdiği "mmyyynn" biçimindedir.

Uyarılar ve Önlemler

Güvenlik bilgileri

Kimyasallar ile çalışırken daima uygun laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için lütfen uygun güvenlik veri sayfalarına (Safety Data Sheets, SDS'ler) başvurun. Bunlar, her bir QIAGEN kiti ve kit bileşenine ait SDS'yi bulabileceğiniz, görüntüleyebileceğiniz ve yazdırabileceğiniz www.qiagen.com/safety adresinde çevrimiçi olarak kullanışlı ve kompakt PDF biçiminde mevcuttur.

- QIAScreen HPV PCR Test'in pozitif ve negatif kontrolleri koruyucu olarak sodyum azit içerir (%0,01). Sodyum azit, kurşun ve bakır tesisatlarla reaksiyona girerek patlayıcı metal azitler oluşturabilir. Lavabodan bertaraf yapılan durumlarda azit birikimini engellemek için giderlerden bol miktarda soğuk su akıtın.

Genel önlemler

PCR testlerinin kullanımı ekipmanların bakımı dahil olmak üzere, moleküler biyolojiye özel ve yürürlükteki yönetmeliklere ve ilgili standartlara uygun iyi laboratuvar uygulamaları gerektirir.

Her zaman aşağıdakilere dikkat edin:

- Numuneleri kullanırken koruyucu tek kullanımlık pudrasız eldivenler, bir laboratuvar önlüğü ve göz koruması kullanın.
- Numune ve kitin mikrobiyal ve nükleaz (DNaz) kontaminasyonunu engelleyin. DNaz, DNA şablonunun bozunmasına yol açabilir.
- Yalancı pozitif sinyalle sonuçlanabilecek DNA veya PCR ürünü taşınmasından kaynaklı kontaminasyonu önleyin.
- Daima aerosol bariyerli, DNaz içermeyen tek kullanımlık pipet uçları kullanın.

- QIAScreen HPV PCR Test'in reaktifleri optimum olarak seyreltilir. Performans kaybı yaşanabileceği için, reaktifleri daha fazla seyreltmeyin.
- QIAScreen HPV PCR Test'te tedarik edilmiş tüm reaktifler, yalnızca aynı kit ile tedarik edilen reaktiflerle birlikte kullanılacak üzere geliştirilmiştir. Performans etkilenebileceği için bir kittedeki herhangi bir reaktifin yerine, aynı lottan olsalar dahi başka bir QIAScreen HPV PCR Test kit'in reaktifini kullanmayın.
- İlave uyarılar, önlemler ve prosedürler için Rotor-Gene Q MDx cihazı kullanım kılavuzuna bakın.
- Günün ilk çalışmasından önce, Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM için 95 °C'de 10 dakikalık bir ısınma çalışması gerçekleştirin.
- İnkübasyon sürelerinin ve sıcaklıkların değiştirilmesi hatalı veya uyumsuz verilere neden olabilir.
- Son kullanma tarihi geçmiş veya yanlış şekilde saklanmış kit bileşenlerini kullanmayın.
- Bileşenlerin ışığa maruz kalmasını en aza indirin; reaksiyon karışımları maruz kalma sonucu değişebilir.
- Karışımların PCR reaktifleri içinde bulunan sentetik maddelerle kontamine olmasını önlemek için çok dikkatli olun.
- Örneği ve tahlil atıklarını, yerel güvenlik prosedürlerinize uygun olarak imha edin.

Reaktif Saklama ve Kullanma

Gönderim koşulları

QIAScreen HPV PCR Test kuru buz üzerinde taşınır. Teslimat esnasında QIAScreen HPV PCR Test'in herhangi bir bileşenin donmuş olmadığını, dış ambalajın nakliye esnasında açılmış olduğunu veya paket içinde ambalaj notu, el kitabı veya reaktiflerin bulunmadığını fark ederseniz, lütfen QIAGEN Teknik Servis Departmanı'yla veya yerel dağıtıcılarla irtibata geçin (www.qiagen.com adresini ziyaret edin).

Saklama koşulları

QIAScreen HPV PCR Test, teslim alınmasından hemen sonra -30 ile -15 °C arasında sabit sıcaklıklı bir dondurucuda saklanmalı ve ışıktan korunmalıdır.

Stabilite


QIAScreen HPV PCR Test, belirtilen saklama koşullarında saklandığı zaman kutu etiketinde belirtilen son kullanma tarihine kadar stabil kalır.

Açıldıktan sonra, reaktifler -30 °C ila -15 °C sıcaklıkta, orijinal ambalajları içinde saklanabilir. Tekrarlanan çözdürme ve dondurma işlemlerinden kaçınılmalıdır. En fazla 5 dondurma-çözdürme döngüsünü aşmayın.

- Tüpü 10 defa ters çevirerek hafifçe karıştırın ve tüm tüpleri açmadan önce santrifüjleyin.
- Her reaktif için son kullanma tarihleri ayrı bileşen etiketlerinde belirtilmiştir. Doğru saklama koşulları altında, aynı bileşen lotları kullanıldığı sürece ürün stabilite süresi boyunca performansını koruyacaktır.
- QIAGEN'deki kalite kontrol prosedürleri her bir kit lotu için işlevsel kit piyasaya sürüm testi barındırır. Farklı kitlerden reaktifleri aynı lot ürünü olsalar dahi karıştırmayın.

Tüm bileşenlerin kutusunda ve etiketlerinin üstünde yazılı olan son kullanma tarihlerine ve saklama koşullarına dikkat edilmelidir. Süresi dolmuş veya hatalı saklanmış bileşenleri kullanmayın.

Numune Saklama ve Kullanma

<p>DİKKAT</p> 	<p>Tüm numunelere enfeksiyöz olabilecek materyal gibi muamele edilmelidir.</p>
--	--

Servikal numuneler

QIAscreen HPV PCR Test, servikal numunelerden (kazıntılar) elde edilen genomik DNA örnekleri ile kullanım içindir. Servikal numuneler (kazıntılar) için doğrulanmış toplama ortamları PreservCyt, CellSolutions®, Pathtest® ve Surepath® toplama ortamlarıdır. Klinik örneklerin optimum saklama sıcaklığı laboratuvara gelişten itibaren 2–8 °C'dir. Bu depolama koşullarında PreservCyt toplama ortamındaki örnekler DNA ekstraksiyonundan önce 3 ay, Surepath toplama ortamındaki örnekler ise DNA ekstraksiyonundan önce 2 hafta stabil kalır.

PreservCyt içinde toplanan servikal örnekler, 18-25 °C'de örnek toplama sonrası 210 güne, 2-8 °C'de iki buçuk yıla ve <20 °C'de 2 yıla kadar saklanabilir. Surepath içinde toplanan servikal örnekler, 2-30 °C'de örnek toplama sonrası 10 haftaya, 2-8 °C'de iki buçuk yıla ve <20 °C'de 210 güne kadar saklanabilir.

Hasta tarafından toplanan vajinal fırça numuneleri

QIAscreen HPV PCR Test kendi kendine toplanan vajinal fırça ve kendi kendine toplanan serviko-vajinal lavaj numunelerinden ekstrakte edilen genomik DNA örnekleriyle kullanım amaçlıdır. Kendi kendine toplanan vajinal fırça numuneleri kuru olarak veya salin içinde (%0,9 a/h NaCl) toplanıp sevk edilebilir ve laboratuvara geldiğinde PreservCyt içinde saklanabilir. Kendi kendine toplanan serviko-vajinal lavaj numuneleri salin içinde (%0,9 a/h NaCl) toplanıp sevk edilir ve laboratuvara geldiğinde PreservCyt içinde saklanır. PreservCyt içinde kendi kendine toplanan örnekler, 18-25 °C'de örnek toplama sonrası 210 güne, 2-8 °C'de iki buçuk yıla ve <20 °C'de 2 yıla kadar saklanabilir.

Genomik DNA örnekleri

Genomik DNA bir kez çıkarıldıktan sonra kısa süreli saklama (≤ 2 gün) için 2-8 °C'de, 12 aya kadar saklama için ise -30 °C ila -15 °C'de saklanabilir.

Örnek Hazırlama

DNA ekstraksiyonu

Standart DNA ekstraksiyonu kitleri (QIAamp® DSP Virus spin kit, QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit ve NucleoMag 96 Tissue kit, (Macherey-Nagel) gibi kolon ve manyetik boncuk temelli kitler) bu tahlille uyumludur. QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi için çalışma ayrıntıları aşağıda belirtilmiştir.

PreservCyt veya PathTezt toplama ortamında klinik numuneler

PreservCyt veya PathTezt toplama ortamı içinde süspansedilen servikal numuneler (kazıntılar) için PCR'de giriş olarak kullanılacak DNA fraksiyonu, 20 ml PreservCyt ya da PathTezt servikal kazıntı örneğinin %0,125'ini temsil eder. Bu, orijinal örnek türlerinin 25 µL'sine denk gelir. PCR'de giriş olarak en fazla yalnızca 5 µL ekstrakte edilmiş DNA kullanılabilir için, DNA ekstraksiyon prosedürleri PCR'de doğru servikal örnek fraksiyonu kullanıldığından emin olunması amacıyla 5 µL DNA ekstraktı 25 µL servikal numune (kazıntı) örneğine denk gelecek şekilde gerçekleştirilmelidir. Formaldehid içeren (örn. Surepath) veya içermeyen (örn. PreservCyt) eşdeğer ortamlar da aynı şekilde işlenmelidir.

Önemli: PreservCyt ortamı DNA ekstraksiyonu işlemi etkileyebilir. Bu durum iki farklı yolla çözülebilir.

1. DNA ekstraksiyonuna başlamadan önce, PreservCyt numunesinin alikotunu eşdeğer bir hacimde DNA ekstraksiyon kitinden PBS veya lizis tamponu içinde seyreltin ve karıştırın. Toplam örnek hacminin DNA ekstraksiyon kitine uygun olduğundan emin olun. Toplam hacim, ekstraksiyon kiti için çok fazlaysa aşağıda belirtilen yöntem 2'nin kullanılması önerilir.

2. PreservCyt örneğini (10 dakika boyunca $\geq 3400 \times g$) santrifüjleyin ve süpernatanı uzaklaştırın. Pellet, DNA ekstraksiyon kitiyle uyumlu olan uygun hacimde PBS veya lizis tamponu içinde yeniden süspense edilir (QIAamp DSP Virus spin kit için: 200 μL PBS içinde yeniden süspense edin ve üreticinin DNA ekstraksiyonu talimatlarını izleyin, 100 μL içinde elüe edin; Margery Nagel Nucleomag96 tissue kit için: bu kitin 100 μL tampon T1'inde yeniden süspense edin ve üreticinin talimatlarını izleyin, 100 μL içinde elüe edin).

Eşdeğer ortam benzer şekilde işlenmelidir.

QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit'i çalıştırma ayrıntıları

QSDSP protokolü: PreservCyt içinde 500 μL servikal örnek 500 μL PBS ile karıştırılır. Complex800_V6_DSP protokolünü gerçekleştiren entegre bir çalışma, "QIASymphony® SP/AS Birleştirilmiş Kullanım Kılavuzu – 12.3 Entegre çalışma" içinde açıklanan adımlar izlenerek QIASymphony üzerinde başlatılır. DNA, 60 μL içinde elüe edilir ve 5 μL , QIAScreen HPV PCR Test için kullanılır. Yalnızca QIASymphony SP modülünü kullanıyorsanız Complex800_V6_DSP protokolünü gerçekleştiren bir örnek hazırlama çalışması, QIASymphony SP aracı kullanılarak gerçekleştirilir. "QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit Kullanım Talimatları (El Kitabı) – Genel Safılaştırma Protokolü" içinde açıklanan adımları izleyin.

SurePath veya CellSolutions toplama ortamı içinde süspense edilen servikal numuneler (kazıntılar) için PCR'de giriş olarak kullanılacak DNA fraksiyonu, 10 mL SurePath veya CellSolutions servikal kazıntı örneğinin %0,25'ini temsil eder. Bu, orijinal örneğin 25 μL 'sine denk gelir. PCR'de giriş olarak en fazla yalnızca 5 μL ekstrakte edilmiş DNA kullanılabildiği için, örnek hacmi ve DNA elüsyon hacmi PCR'de doğru servikal örnek fraksiyonu kullanıldığından emin olunması amacıyla 5 μL DNA ekstraktı 25 μL servikal numune (kazıntı) örneğine denk gelecek şekilde gerçekleştirilmelidir.

ÖNEMLİ: SurePath ve CellSolutions ortamında toplanan klinik numuneler, formaldehid indüklü çapraz bağlamayı önlemek için aşağıda açıklanan protokol kullanılarak kullanım öncesi ön işleme tabi tutulmalıdır.

SurePath ve CellSolutions ortamında toplanan klinik numunelerin ön işlemleri:

1. SurePath veya CellSolutions numunesini 1:1 hacimde AL buffer (QIAGEN) ile karıştırıp iyice karıştırın.
2. 20 dakika boyunca 90 °C'de inkübe edin, ardından DNA ekstraksiyonuna geçmeden önce oda sıcaklığına getirin.

Formaldehid içeren eşdeğer ortamlar benzer şekilde işlenmelidir.

Hologic PreservCyt Solution içinde süspansiyon edilen kendi kendine toplanan vajinal fırça numuneleri için DNA ekstraksiyon prosedürleri, PCR'de giriş olarak kullanılan 5 µL DNA ekstraktı vajinal örneğin %0,5'ini temsil edecek şekilde gerçekleştirilmelidir. Örneğin, kendi kendine toplanan vajinal örnek, 2 mL PreservCyt Solution içinde süspansiyon edilecek ve ardından 5 µL giriş DNA'sı kendi kendine toplanan örnek süspansiyonununun 10 µL'sine denk gelecektir.

Kendi kendine toplanan serviko-vajinal lavaj numuneleri için PCR'de giriş olarak kullanılacak DNA fraksiyonu kendi kendine toplanan lavaj örneğinin %0,5'ini temsil eder. Dolayısıyla, toplam 3 mL'lik bir lavaj hacmi söz konusu olduğunda DNA ekstraksiyon prosedürleri, 5 µL giriş DNA'sı orijinal kendi kendine toplanan lavaj örneğinin 15 µL'sine denk gelecek şekilde gerçekleştirilmelidir.

Protokol: Rotor-Gene Q MDx cihazında QIAscreen HPV PCR Test

Başlamadan önce önemli noktalar

Protokole başlamadan önce Rotor-Gene Q MDx cihazı hakkında bilgi edinin. Cihaz kullanım kılavuzuna bakın.

Günün ilk çalışmasından önce, Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM için 95 °C'de 10 dakikalık bir ısınma çalışması gerçekleştirin.

Testin çalıştırılması için bir Rotor-Gene Q serisi yazılım şablonu gerekir. QIAscreen RGQ profile v1.0.ret şablonunun kullanıldığından emin olun.

Testin, dört saptama kanalının her birine yönelik olarak analiz edilmesi için bir Rotor-Gene Q serisi yazılım şablonu gerekir. Her bir kanal için aşağıda gösterilen şekilde doğru şablonun kullanıldığından emin olun:

- Yeşil kanaldaki (HPV 16) sinyallerin analizi için "QIAscreen RGQ Green Channel analysis template.qut" kullanılmalıdır.
- Turuncu kanaldaki (β -globin) sinyallerin analizi için "QIAscreen RGQ Orange Channel analysis template.qut" kullanılmalıdır.
- Sarı kanaldaki (HPV Diğer) sinyallerin analizi için "QIAscreen RGQ Yellow Channel analysis template.qut" kullanılmalıdır.
- Kırmızı kanaldaki (HPV 18) sinyallerin analizi için "QIAscreen RGQ Red Channel analysis template.qut" kullanılmalıdır.

72 tüplük rotora sahip Rotor-Gene Q MDx cihazlarında örnek işleme

Aynı deney içinde bir pozitif kontrol ve bir negatif kontrolün yanı sıra 70 adede kadar genomik DNA örneği test edilebilir. Tablo 1'de gösterilen şema QIAscreen HPV PCR Test ile bir deney için örnek bir yükleme bloğu veya rotor kurulumu sunar. Sayılar, yükleme bloğu içindeki konumları gösterir ve nihai rotor konumunu belirtir.

Tablo 1. Rotor-Gene Q MDx cihazında QIAscreen HPV PCR Test ile bir deney için plaka ve rotor kurulumu

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

Not: Tüm kullanılmayan pozisyonları boş tüplerle doldurun.

72 tüplük rotora sahip Rotor-Gene Q MDx cihazlarında PCR

1. QIAScreen HPV PCR Test'in kurulumunu yapın.

Not: PCR reaksiyon kontaminasyonu riskini en aza indirmek için UV ışınlama özelliğine sahip bir PCR kabini kullanmanızı şiddetle tavsiye ederiz.

Önemli: QIAScreen Master Mix'in dağıtımı, DNA ekstraksiyonunun yapıldığı alandan farklı bir alanda yapılmalıdır.

1a. DNA bozan bir solüsyonla kullanmadan önce şablon veya nükleaz kontaminasyonunu engellemek için tezgah alanını, pipetleri ve tüp askısını temizleyin.

Not: Yanlış pozitif sonuçlar alınmasına yol açabilecek spesifik olmayan şablon veya reaksiyon karışımı kontaminasyonunu önlemek için her bir tüp arasında uçları değiştirin.

1b. 10 kez ters yüz ederek karıştırın ve solüsyonu tüpün altında toplamak için kullanım öncesinde kısa süreli santrifüj edin.

1c. Tüp striplerinin uygun tüplerine 15 µL QIAScreen Master Mix dağıtın (Rotor-Gene Q MDx çalışması başına en fazla 72 tüpte). Reaksiyon kurulumu oda sıcaklığında yapılmalıdır.

1d. Malzeme bozunmasından kaçınmak için QIAScreen Master Mix'i tekrar dondurucuya koyun. QIAScreen Positive Control'ü ve örnek DNA'yı dağıtmak için tüpleri ayrı bir alana taşıyın.

1e. Tüp pozisyonu 2'ye 5 µL negatif kontrol ekleyin, bunu aşağı-yukarı pipetleme yaparak veya tüpü ters çevirerek karıştırın ve tüp üzerindeki kapağa basarak tüpü kapatın.

1f. Tüp pozisyonu 1'e 5 µL QIAScreen Positive Control ekleyin, bunu aşağı-yukarı pipetleme yaparak veya tüpü ters çevirerek karıştırın ve tüpü kapatın.

Not: Yanlış pozitif sonuçlar alınmasına yol açabilecek spesifik olmayan şablon veya reaksiyon karışımı kontaminasyonunu önlemek için her bir tüp arasında uçları değiştirin.

- 1g. QIAscreen Master Mix içeren uygun tüplere 5 µL örnek DNA ekleyin, bunu aşağı-yukarı pipetleme yaparak veya tüpleri ters çevirerek karıştırın ve tüpler üzerindeki kapaklara basarak tüpleri kapatın.
- 1h. 4 tüplük bir set doldurulduktan sonra tüplerin kapaklarını kapatın.
Not: PCR tüpleri, örneklerin PCR tüplerine pipetlenmesi ile deneyin makinede 2-8 °C'de, karanlıkta başlatılması arasında 30 dakika saklanabilir.
2. Rotor-Gene Q MDx'i hazırlayın ve deneyi aşağıdaki şekilde başlatın:
Önemli: Günün ilk çalışmasından önce, Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM için 95 °C'de 10 dakikalık bir ısınma çalışması gerçekleştirin.
 - 2a. Rotor tutucu üzerine bir 72-well rotor koyun.
 - 2b. Rotoru Tablo 1 üzerinde gösterildiği şekilde atanmış pozisyonlara göre pozisyon 1'den başlayarak ve kullanılmayan tüm pozisyonlara boş kapaklı şerit tüpleri yerleştirerek şerit tüpleriyle doldurun.
Not: İlk tüpün pozisyon 1'e yerleştirildiğinden ve strip tüplerinin Tablo 1 üzerinde gösterildiği şekilde doğru yönelim ve pozisyonda yerleştirildiğinden emin olun.
 - 2c. Kilitleme halkasını takın.
 - 2d. Rotoru ve kilitleme halkasını Rotor-Gene Q MDx cihazına yükleyin; cihaz kapağını kapatın.
 - 2e. **New Run** (Yeni Çalışma) penceresine gidin ve **Open a template in another folder...** (Başka klasörde bir şablon aç...) seçeneğine tıklayın.
 - 2f. **QIAscreen RGQ profile v1.0.ret** adlı QIAscreen run template'i (QIAscreen çalışma şablonu) seçin.
 - 2g. Rotor type (Rotor tipi): **72-well rotor** (72 kuyulu rotor) ve **Locking ring attached** (Kilitleme halkası takılı) öğesini seçip **Next** (Sonraki) öğesine tıklayın.
 - 2h. Operator (Operatör) kısmında baş harfleri girin ve **Next** (Sonraki) öğesine tıklayın.
 - 2i. Takip eden pencerede **Next** (Sonraki) öğesine tıklayın.
 - 2j. **Start run** (Çalışmayı başlat) öğesine tıklayın.
Örnek adları girmek için **Edit samples** (Örnekleri düzenle) öğesine tıklayın (bu, çalışma tamamlandıktan sonra da yapılabilir).

Tablo 2. Hedef ve kanal ayarları*

Hedef	Saptama Kanalı
β -globin	Orange
HPV 16	Green
HPV 18	Red
HPV Diğer*	Yellow

* HPV Diğer, 13 adet 16/18 dışı HPV tipinden meydana gelen havuzu oluşturur.

3. Verileri analiz edin.

- 3a. Analiz için kullanılacak tüpleri seçin.
 - 3b. **Analysis tool** (Analiz aracı) penceresine gidin, **Cycling A. Green** ögesini seçin ve **Show** (Göster) ögesine tıklayın. **Imported Settings** (İçer Aktarılan Ayarlar) kısmının (pencerenin sağ alt kısmı) altında **Import** (İçer Aktar) ögesine tıklayın ve **QIAScreen RGQ Green Channel analysis template.qut** dosyasını seçin. **Cycling A. Green** ögesini seçin ve **Hide** (Gizle) ögesine tıklayın.
 - 3c. **Cycling A. Orange** ögesini seçin ve **Show** (Göster) ögesine tıklayın. **Imported Settings** (İçer Aktarılan Ayarlar) kısmının altında **Import** (İçer Aktar) ögesine tıklayın ve **QIAScreen RGQ Orange Channel analysis template.qut** dosyasını seçin. **Cycling A. Orange** ögesini seçin ve **Hide** (Gizle) ögesine tıklayın.
 - 3d. **Cycling A. Red** ögesini seçin ve **Show** (Göster) ögesine tıklayın. **Imported Settings** (İçer Aktarılan Ayarlar) kısmının altında **Import** (İçer Aktar) ögesine tıklayın ve **QIAScreen RGQ Red Channel analysis template.qut** dosyasını seçin. **Cycling A. Red** ögesini seçin ve **Hide** (Gizle) ögesine tıklayın.
 - 3e. **Cycling A. Yellow** ögesini seçin ve **Show** (Göster) ögesine tıklayın. **Imported Settings** (İçer Aktarılan Ayarlar) kısmının altında **Import** (İçer Aktar) ögesine tıklayın ve **QIAScreen RGQ Yellow Channel analysis template.qut** dosyasını seçin.
 - 3f. **Save** (Kaydet) ögesine tıklayın.
 - 3g. İSTEĞE BAĞLI: Sonuçların yorumlanması için veriler bir .csv dosyası olarak dışa aktarılabilir. **File > Save as > Excel Analysis Sheet** (Dosya > Farklı kaydet > Excel Analiz Sayfası) ögesine gidin ve dışa aktarım dosyasını kaydedin.
4. Rotor-Gene Q MDx cihazını boşaltın ve strip tüpleri yerel güvenlik düzenlemelerine uygun şekilde imha edin.

Sonuçların Yorumlanması

Çalışma ve örnek doğrulama kriterler, sırasıyla A ve B altında gösterilmektedir. Bir (veya daha fazla) kriterin karşılanmaması durumunda uygun olan tedbirler belirtilmiştir.

A. QIAscreen HPV PCR Test kontrollerinin doğrulama kriterleri

QIAscreen Positive Control'deki hedefler β -globin için 29'dan, HPV 16 ve HPV 18 için 30'dan ve HPV Diğer için 32'den düşük olan C_T değerlerini vermelidir. Durumun böyle olmaması ve analiz ayarlarının doğru olması halinde deney tekrarlanmalıdır.

QIAscreen Negative Control'deki hedeflerden hiçbiri PCR çalışmasının sonunda tek eşğin üzerinde bir sinyal vermemelidir (örneğin 40 veya tanımlanmamış). Döngü 40'tan önce bir sinyal görülmesi ve analiz ayarlarının doğru olması halinde deney tekrarlanmalıdır.

Not: Kontrollerin belirlenen limitlere uymaması ve tekrarların teknik hataları elemesi durumunda aşağıdaki unsurları kontrol edin:

- Reaktif paketi üzerindeki son kullanma tarihi
- Reaktiflerin sıcaklığı
- PCR sisteminin ve yazılımın ayarları
- Kontaminasyon

Kontrollerin hala geçersiz olması halinde üreticinin müşteri hizmetleriyle veya yerel distribütörünüzle irtibat kurun.

B. Örnek sonuçlarının yorumlanması

Bir örnek için sonuç aşağıdaki şekilde belirlenir (Tablo 3).

Tablo 3. Sonuçların yorumlanması

	C_T değeri HPV hedefleri	C_T değeri β-globin	Yorumlama
1	HPV 16 ve/veya HPV 18 <36 ve/veya HPV Diğer <33,5	Herhangi biri	HPV pozitif
2	HPV 16 ve HPV 18 ≥36 veya tanımlanmamış ve HPV Diğer ≥33,5 veya tanımlanmamış	≤30	HPV negatif
3	HPV 16 ve HPV 18 ≥36 veya tanımlanmamış ve HPV Diğer ≥33,5 veya tanımlanmamış	>30	Geçersiz

1. HPV pozitif. C_T değerleri HPV 16 ve/veya HPV 18 için <36 ve/veya Diğer HPV için <33,5 olduğunda (β-globin C_T değeri fark etmeksizin). Kanal mevcut tipleri gösterir. **2. HPV negatif.** β-globin için C_T değeri ≤30 ve HPV 16 ile HPV 18 için C_T değerleri ≥36 olduğunda veya sinyal göstermediğinde ve HPV Diğer için ≥33,5 olduğunda veya sinyal göstermediğinde. **3. Geçersiz.** β-globinin C_T değeri >30 ve HPV 16 ile HPV 18'in C_T değerleri ≥36 olduğunda veya sinyal göstermediğinde ve Diğer HPV için değer ≥33,5 olduğunda veya sinyal göstermediğinde.

Sınırlamalar

- Belirtilen kullanım amacı için test, servikal kazıntı numuneleri veya kendi kendine toplanan (serviko-)vajinal numuneler üzerinde gerçekleştirilmelidir. Ancak QIAscreen HPV PCR Test aynı zamanda formalinle fikse edilmiş ve parafine gömülmüş (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE) biyopsi numunelerinden ekstrakte edilen DNA ile kullanım için de değerlendirilmiştir.
- Numune toplanması, taşınması ve saklanması numunedeki bir hedefin kopya sayısını etkileyerek potansiyel bir yalancı pozitif veya yalancı negatif sonuca yol açabilir.
- Bu talimatlar yalnızca Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM cihazı için geçerlidir.
- Zayıf DNA ekstraksiyon performansı geçersiz test sonuçlarına yol açabilir. Bunun devam etmesi durumunda DNA ekstraksiyon protokolü hakkında teknik tavsiye için yerel dağıtıcınızla veya üreticinin müşteri hizmetleriyle irtibat kurun.
- Düşük hedef kopyası sayısı sebebiyle ortada sonuçlar veren örnekler tekrar analizle teyit edilebilir.
- Nadir durumlarda servikal lezyonlar QIAscreen HPV PCR Test tarafından hedeflenmeyen doğal HPV varyantları veya HPV tipleri tarafından indüklenebilir.
- QIAscreen HPV PCR Test reaktifleri sadece in vitro tanı amaçlı kullanılabilir.
- PCR testlerinin kullanımı ekipmanların bakımı dahil olmak üzere, moleküler biyolojiye özel ve yürürlükteki yönetmeliklere ve ilgili standartlara uygun iyi laboratuvar uygulamaları gerektirir.
- QIAscreen HPV PCR Test için sağlanan reaktifler ve talimat optimum performans için doğrulanmıştır.
- QIAscreen HPV PCR Test, Rotor-Gene Q MDx cihazlarının kullanımında eğitimli laboratuvar uzmanları tarafından kullanılmalıdır.
- Ürün sadece real-time PCR teknikleri ve in vitro diagnostik işlemler konusunda özel talimat almış ve eğitimli personel tarafından kullanılmalıdır. Elde edilmiş herhangi bir tanı amaçlı sonucun diğer klinik ve laboratuvar bulguları ile birlikte yorumlanması gerekir.

- Optimum QIAscreen HPV PCR Test sonuçları için Kullanma Talimatına (el kitabı) kati bir şekilde uyulması gerekir.
- Tüm bileşenlerin kutu ve etiketlerinde basılı son kullanma tarihlerine dikkat edilmelidir. Son kullanma tarihi geçmiş bileşenleri kullanmayın.
- QIAscreen HPV PCR Test'te tedarik edilmiş tüm reaktifler, yalnızca aynı kit ile tedarik edilen reaktiflerle birlikte kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Aksi takdirde bu performansı etkileyebilir.
- Bu ürünün herhangi bir etiket dışı kullanımı ve/veya bileşenlerin değiştirilmesi Self-screen B.V. sorumluluğunu geçersiz kılar.
- Laboratuvarlarında kullanılan ve performans çalışmalarının kapsamında olmayan herhangi bir prosedür için sistem performansını doğrulamak kullanıcının sorumluluğundadır.

Performans Özellikleri

Tespit Sınırı (Limit of Detection, LoD)

Tespit sınırı (Limit of Detection, LoD), bir HPV genotipinin E7 geninin bir kısmını içeren g Bloklar (çift iplikli genomik DNA blokları) kullanılarak belirlenmiştir. Hedeflerin 15 HPV tipinin (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 ve 68) seri 3 katlı g Blok dilüsyon serileri, 50 ng insan DNA'sı arka planında hazırlanmış ve 8 katlı olarak test edilmiştir. β -globin için LoD, 8 katlı olarak test edilen β -globin geninin bir kısmını içeren bir g Bloğun su içinde 3 katlı seri bir dilüsyon serisinde değerlendirilmiştir.

Tablo 4. 15 HPV tipinin ve β -globin geninin QIAscreen HPV PCR Test tahlilinin tespit sınırı (limit of detection, LoD)

Hedef	LoD (PCR başına kopya)
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

Analitik özgüllük*

Analitik özgüllük, hedeflenmemiş HPV genomlarının (HPV 6, 11, 26, 40, 42, 43, 53, 61 ve 70) plazmid DNA'larına karşı en az 46.000 kopya/test yoğunlukta ve potansiyel olarak en patojenik 3 vajinal mikroorganizma olan *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* ve *Candida albicans*'a karşı en az 10.000 kopya/test yoğunlukta belirlenmiştir. Test, hedeflenmeyen HPV tipleri 6, 11, 26, 40, 42, 43, 53 ve 61 veya mikroorganizmalar ile herhangi bir çapraz reaktivite göstermemiştir. "HPV Diğer" kanalında (13 adet 16/18 dışı HPV tipinden oluşan havuzu saptayan kanal) yalnızca HPV 70 için pozitif bir sinyal gözlemlenmiştir ve bu, ilave seyreltme sonrasında >17.000 kopya/test yoğunlukta saptanabilmektedir. HPV 70 epidemiyolojik, filogenetik ve fonksiyonel çalışmalar temelinde muhtemelen kanserojen kabul edilmektedir (11-13).

Servikal numuneler (kazıntılar) üzerinde klinik performans

PreservCyt içinde saklanan servikal numunelerde (kazıntılar) servikal intraepitelyal neoplazi evre 2 veya üstü (CIN 2+) için testin klinik duyarlılığı ve özgüllüğü, servikal kanser taraması için HPV test gerekliliklerine ilişkin uluslararası ilkeler çerçevesinde yüksek riskli HPV GP5+/6+ PCR(10) veya Hybrid Capture 2'ye (14) nispeten eşit etkinlik özellikli bir analiz ile iki farklı çalışmada doğrulanmıştır (9). Sırasıyla CIN 2+ için klinik duyarlılıklar %96,8 (61/63) ve %92,9 (91/98), CIN 2+ için klinik özgüllükler ise %95,1 (783/823) ve %94,2 (933/990) olmuştur. Klinik duyarlılık ve özgüllük referans tahliller GP5+/6+ PCR (10) veya Hybrid Capture 2'ninkilere (14) kıyasla eşit etkinlikte olmuştur; bu çok iyi bir klinik performansa işaret etmektedir. ASC-US veya LSIL görülen kadınlarda, CIN2+ için klinik duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla, %97,4 (37/38; %95 CI 83,5-99,6) ve %59,8 (52/87; %95 CI: 49,2-69,5) olmuştur.(14)

* Performans özellikleri test versiyonu ABI7500 için gösterilmiştir. Eşdeğerlik analizi, Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM için QIAscreen HPV PCR Test'e yönelik olarak benzer performans ve doğrulama göstermiştir.

Yeniden üretilebilirlik*

Testin laboratuvar için yeniden üretilebilirliği ve laboratuvarlar arası tutarlılığı, servikal kanser taraması için HPV test gerekliliklerine ilişkin uluslararası ilkelere göre doğrulanmıştır (9). Zaman içinde servikal numuneler (kazıntılar) üzerindeki laboratuvar için yeniden üretilebilirlik 0,99'lük bir kappa değeri ile %99,5 (544/547) ve laboratuvarlar arası tutarlılık 0,98'lik bir kappa değeri ile %99,2 (527/531) olmuştur; bu da çok iyi bir tutarlılık olduğunu göstermektedir (10).

Kendi kendine toplanan (serviko-)vajinal numuneler üzerinde performans*

Testin kendi kendine toplanan (serviko-)vajinal numunelerdeki performansı iki farklı numune alma yöntemi için doğrulanmıştır: 1) kendi kendine toplanan lavaj numuneleri ve 2) hasta tarafından toplanan fırça numuneleri. Kendi kendine toplanan lavaj numuneleri için GP5+/6+ PCR referans tahlil ile tutarlılık %91,4'lük (21/23) CIN 2+ duyarlılığı ile %96,7 (59/61) olmuştur (10). Hasta tarafından toplanan fırça numuneleri için GP5+/6+ PCR ile tutarlılık %93,9'lük (31/34) CIN 2+ duyarlılığı ile %92,9 (104/112) olmuştur (10).

Olumsuz etkileyen maddeler*

Eser miktarda EDTA (0,5 M), HCl (1 N), Silika boncuk (1 µL), Kan (1 µL), Üre (40 g/100 mL) ve lizis tamponu testin performansını olumsuz etkilemiştir. ETOH %96 (1 µL) ve DMSO %4 (h/h) testin performansı üzerinde inhibe edici etkiye sahip olmamıştır. İnhibisyon örnek kontrolü (örneğin β-globin hedefi) tarafından izlenir.

* Performans özellikleri test versiyonu ABI7500 için gösterilmiştir. Eşdeğerlik analizi, Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM için QAscreen HPV PCR Test'e yönelik olarak benzer performans ve doğrulama göstermiştir.

Referanslar

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

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

Sorun Giderme Kılavuzu

Bu sorun giderme kılavuzu, ortaya çıkabilecek sorunların çözümünde yardımcı olabilir. Daha fazla bilgi için ayrıca Teknik Destek Merkezimizdeki Sık Sorulan Sorular sayfasına bakın: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. QIAGEN Teknik Servislerindeki bilim insanları bu el kitabındaki bilgi ve protokollerle ya da örnek ve/veya tahlil teknolojileriyle ilgili herhangi bir sorunuzu cevaplandırmaktan daima mutlu olacaktır (iletişim bilgileri için www.qiagen.com adresini ziyaret edin).

Yorumlar ve öneriler

Örnek geçersiz değerlendirildi: β -globin amplifikasyonu çok düşük veya yok

- | | | |
|----|--|--|
| a) | Pipetleme hatası veya atlanmış reaktifler. Bkz. "72 tüplük rotora sahip Rotor-Gene Q MDx cihazlarında PCR", sayfa 20 | Pipetleme şemasını ve reaksiyon kurulumunu kontrol edin. Örneği tekrarlayın. |
| b) | DNA elüatını kontrol edin | DNA ekstraksiyonunu tekrarlayın. |

Pozitif kontrol geçersiz değerlendirildi: hedeflerin biri veya daha fazlası için amplifikasyon çok düşük veya yok

- | | | |
|----|--|--|
| a) | Pipetleme hatası veya atlanmış reaktifler. Bkz. "72 tüplük rotora sahip Rotor-Gene Q MDx cihazlarında PCR", sayfa 20 | Pipetleme şemasını ve reaksiyon kurulumunu kontrol edin. Örneği tekrarlayın. |
| b) | Kısmi bozunma | Kit içeriklerini -15 ila -30 °C'de saklayın.
Dondurma ve çözündürme döngülerini en fazla beş defa olacak şekilde sınırlayın. |
| c) | PCR reaktiflerinde kısmi bozulma | Kit içeriklerini -15 ila -30 °C'de saklayın ve reaksiyon karışımlarını ışıktan koruyun.
Tekrarlanan dondurma ve çözündürme işlemlerinden kaçının. |
| d) | Strip tüpün ters dönmesi | Pipetleme şemasını ve reaksiyon kurulumunu kontrol edin. |
| e) | Son kullanma tarihi | Kullanılan kitin son kullanma tarihini kontrol edin. |
| f) | Örneklerin pipetlenmesi ve çalışmanın başlatılması arasındaki gecikme süresi | PCR karışımları, PCR'de örneklerin pipetlenmesi ile makinede çalışmanın $2-8$ °C'de, karanlıkta başlatılması arasında 30 dakika saklanabilir. |

Yorumlar ve öneriler

Şablonsuz kontrol (No template control, NTC) geçersiz

- | | | |
|----|--|--|
| a) | Pipetleme hatası veya atlanmış reaktifler. Bkz. "72 tüplük rotora sahip Rotor-Gene Q MDx cihazlarında PCR", sayfa 20 | Pipetleme şemasını ve reaksiyon kurulumunu kontrol edin. Örneği tekrarlayın. |
|----|--|--|


















Örnekte sinyal yok veya düşük ama kontrol çalışması iyi

- | | | |
|----|---|--|
| a) | İnhibe edici etkiler | DNA ekstraksiyonu esnasında her zaman tampon kalıntısı olup olmadığını kontrol edin.
DNA ekstraksiyonunu tekrarlayın. |
| b) | Pipetleme hatası. Bkz. "72 tüplük rotora sahip Rotor-Gene Q MDx cihazlarında PCR", sayfa 20 | Pipetleme şemasını ve reaksiyon kurulumunu kontrol edin. PCR çalışmasını tekrarlayın. |

Eğer sorun devam ederse, QIAGEN Teknik Servisi ile kontak kurun.

Semboller

Aşağıdaki semboller ambalaj ve etiket üzerinde görülebilir:

Sembol	Sembol tanımı
	Son kullanma tarihi
	İn vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz
	CE-IVD işaretli sembol
	Katalog numarası
	Lot numarası
	Materyal numarası
	Bileşenler
	İçindekiler
	Numara
	R Kullanma Talimatı (El Kitabı) revizyonudur ve n revizyon numarasıdır
	Küresel Ticaret Parça Numarası
	Sıcaklık sınırlaması
	Üretici
	Güneş ışığından uzak tutun
	Kullanım talimatlarına başvurun
	Dikkat
	Dikkat

İletişim Bilgileri

Teknik destek ve daha fazla bilgi için lütfen www.qiagen.com/Support adresindeki Teknik Destek Merkezi'ne bakın, 00800-22-44-6000 numarasını arayın ya da QIAGEN Teknik Servis Bölümlerinden birine veya yerel dağıtıcılara başvurun (arka kapağa bakın veya www.qiagen.com adresini ziyaret edin).

Sipariş Bilgileri

Ürün	İçerik	Kat. no.
QIAscreen HPV PCR Test	72 reaksiyon içindir, aşağıdakileri kapsar: Master Karışım, Pozitif Kontrol, Negatif Kontrol, Kullanma Talimatı	617005
QIASymphony SP	QIASymphony örnek hazırlama modülü (ekstraksiyon için isteğe bağlı)	9001297
Rotor-Gene Q MDx		
Rotor-Gene Q MDx HRM System	5 kanal (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) artı HRM kanallı real-time PCR döngüleyici ve Yüksek Çözünürlüklü Eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar: parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti dahildir, kurulum ve eğitim dahildir	9002035
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	5 kanal artı HRM kanallı (yeşil, sarı, turuncu, kırmızı, kızıl) real-time PCR döngüleyici ve Yüksek Çözünürlüklü Eritme analizörü, dizüstü bilgisayar, yazılım, aksesuarlar parçalar ve işçilik için 1 yıllık garanti dahildir kurulum ve eğitim dahil değildir	9002032
Rotor-Gene Q MDx Aksesuarları		
Loading Block 72 x 0.1 mL Tubes	72 x 0,1 mL tüplerde tek kanallı pipetle manuel reaksiyon kurulumu için alüminyum blok	9018901

Strip Tubes and Caps, 0.1 mL (250)	1000 reaksiyon için 4 tüp ve kapaklı 250 strip	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 mL (2500)	10.000 reaksiyon için 4 tüp ve kapaklı 10 x 250 strip	981106

Güncel lisanslama bilgisi ve ürüne özgü yasal uyarılar için ilgili QIAGEN kiti el kitabı veya kullanım kılavuzuna bakın. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları www.qiagen.com adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Servisleri veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Belge Revizyon Geçmişi

Tarih

Değişiklikler

R2, Ağustos 2018

Uyarılar ve Önlemler kısmı güncellendi; Numune Saklama ve Kullanma kısmına ve Ticari Markalara CellSolutions® eklendi; Kesirle temsil edilen değerler yüzde değerleriyle değiştirilerek Örnek Hazırlama kısmı revize edildi; RGQ MDx için QIAscreen HPV PCR Test Protokolü güncellendi; RGQ MDx için QIAscreen HPV PCR Test Protokolünde Tablo 1'in 3. sütunu güncellendi; Önemli not eklenerek ve New experiment (Yeni deney), New Run (Yeni Çalışma) penceresi olarak değiştirilerek, 72 tüplük rotora sahip RGQ MDx'te PCR kısmı güncellendi; Performans Özellikleri kısmı güncellendi; QIAscreen HPV PCR Test için katalog numarası düzeltildi; Düzen güncellemeleri yapıldı

R3, Haziran 2023

Numune saklama ve kullanma kısmı güncellendi; Örnek hazırlama kısmı SurePath içinde saklanan örneklerin ön işlemeyle ve QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi kit kullanılarak QIASymphony ile DNA ekstraksiyonu ve QIAamp DSP Virus Spin kit ile DNA ekstraksiyonu talimatlarıyla güncellendi; SurePath içinde saklanan örnekler için klinik performans güncellendi ve SurePath içinde saklanan örneklerin doğrulanmasına yönelik referans eklendi.

QIAscreen HPV PCR Test için Sınırlı Lisans Sözleşmesi

Bu ürünün kullanımı herhangi bir alıcının veya ürün kullanıcısının aşağıdaki koşulları kabul ettiği anlamına gelir:

- Ürün yalnızca ürüne ve bu el kitabında verilen protokollere uygun olarak kullanılabilir ve yalnızca kitin içinde bulunan bileşenlerle kullanım içindir. QIAGEN, ürüne sağlanan protokoller, bu el kitabı ve www.qiagen.com adresinden ulaşılabilen ek protokollerde belirtilenlerin dışında bu kitin içinde yer almayan herhangi bir bileşenle kitin içindeki bileşenlerin kullanımı veya birleştirilmesi için kendi fikri mülkiyet haklarının herhangi biri altında lisans hakkı vermez. Bu ek protokollerden bazıları QIAGEN kullanıcıları tarafından QIAGEN kullanıcıları için sağlanmıştır. Bu protokoller QIAGEN tarafından kapsamlı şekilde test edilmiş veya optimize edilmiştir. QIAGEN üçüncü tarafların haklarını ihlal etmediğini garanti etmez ve beyan etmez.
- Açıkça belirtilen lisanslar dışında, QIAGEN bu panel ve/veya kullanımlarının üçüncü tarafların haklarını ihlal etmeyeceğini garanti etmez.
- Bu panel ve bileşenleri bir kez kullanım için lisanslıdır ve tekrar kullanılamaz, yenilenemez veya tekrar satılamaz.
- QIAGEN açıkça ifade edilenlerin dışında açık veya zımnı diğer tüm lisansları açıkça reddeder.
- Panelin alıcısı veya kullanıcısı yukarıda yasaklanan eylemlere neden olabilecek veya bu eylemleri kolaylaştıracak herhangi bir girişimde bulunmayacağını ve başka birisine izin vermeyeceğini kabul eder. QIAGEN herhangi bir Mahkemede bu Sınırlı Lisans Anlaşması yasaklamalarını uygulayabilir ve bu sınırlı lisans anlaşmasının veya panel ve/veya bileşenleriyle ilgili fikri mülkiyet haklarının herhangi birinin uygulanmasına yol açan tüm durumlarda avukat ücreti dahil tüm soruşturma ve mahkeme masraflarını geri alabilir.

Güncellenmiş lisans şartları için bkz. www.qiagen.com.

Ticari Markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIASymphony®, MinElute®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); PreservCy® (Hologic, Inc.); CellSolutions®; Pathtezt® (Pathtezt); SurePath® (Becton Dickinson and Company). Bu belgede geçen tescilli adlar, ticari markalar vb. açıkça bu şekilde belirtilmemiş olsa bile yasalarda korunmaktadır.

Self-screen B.V., QIAscreen HPV PCR Test'in yasal üreticisidir.

QIAscreen HPV PCR Test, QIAGEN için Self-screen B.V. tarafından üretilmektedir.

1132289TR 06/2023 HB-2579-004 © 2023 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

