

2023. június

QIAscreen[®] HPV PCR Test – használati útmutató (kézikönyv)



1-es verzió

IVD

In vitro diagnosztikai használatra

Rotor-Gene[®] Q MDx készülékekkel való használatra

CE

REF

617005



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

R3 MAT

1132289HU

Tartalom

Alkalmazási terület	4
Összefoglalás és magyarázat	5
Az eljárás elve	6
Szállított anyagok	7
Szükséges, de nem biztosított anyagok	8
Fogyóeszközök, reagensek és eszközök a minta-előkészítéshez	8
Fogyóeszközök a Rotor-Gene Q MDx készülékhez	8
Eszközök	8
Kivonáshoz és real-time PCR-hez szükséges eszközök	9
Figyelmeztetések és óvintézkedések	10
Biztonsági információk	10
Általános óvintézkedések	10
A reagensek tárolása és kezelése	12
A minták kezelése és tárolása	13
Minta-előkészítés	15
Protokoll: QIAscreen HPV PCR Test a Rotor-Gene Q MDx készülékben	18
PCR a 72 csöves rotorral rendelkező Rotor-Gene Q MDx készülékeken	21
Az eredmények értelmezése	25
Korlátozások	27
Teljesítményjellemzők	29
Kimutatási határ (LoD)	29
Analitikai specifititás	30

Klinikai teljesítmény méhnyaki minták (kaparék) esetén	30
Reprodukálhatóság*	31
A teljesítmény vizsgálata az otthoni mintavétellel vett (méhnyaki- hüvelyi mintákon)	31
Zavaró anyagok*	31
Hivatkozások	32
Hibaelhárítási útmutató	34
Szimbólumok	36
Kapcsolatfelvételi adatok	38
Rendelési információk	39
A dokumentum átdolgozási előzményei	41

Alkalmazási terület

A QIAscreen HPV PCR Test real-time PCR (valós idejű PCR) alapú in vitro assay a humán papillomavírus (HPV) DNS-ének kvalitatív kimutatásához a következő 15 (valószínűsíthetően) magas kockázatú HPV genotípus esetében: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68.

A QIAscreen HPV PCR Test alkalmazásával az alábbi módszerekkel levett mintákból izolált DNS vizsgálata végezhető el:

- Kefe vagy seprű típusú eszközzel vett, méhnyakból származó minták (orvos veszi le)
- Kefe vagy seprű típusú vagy mosóeszközzel vett hüvelyi minták (a beteg saját magának veszi le)

Használati javallatok:

- Elsődleges tesztként méhnyakrák, illetve rákmegelőző állapot tekintetében veszélyeztetett nők szűrése során annak megállapításához, hogy szükség van-e kolposzkópos vagy egyéb utánkövető eljárások elvégzésére
- Utánkövető tesztként olyan nőknél, akiknél a méhnyakkenet vizsgálata ismeretlen jelentőségű atípusos laphámsejtek (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) vagy enyhe fokú laphám eredetű intraepithelialis neoplázia (low-grade squamous intra-epithelial neoplasia, LSIL) jelenlétét igazolta, annak megállapításához, hogy szükség van-e kolposzkópos vagy egyéb utánkövető eljárások elvégzésére

A termék az in vitro diagnosztikai eljárásokban, molekuláris biológiai technikákban és a Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System kezelésében jártas professzionális felhasználók, például technikusok és laborasszisztensek általi használatra szolgál.

Összefoglalás és magyarázat

A humán papillomavírusok (HPV) a Papillomaviridae családba tartozó kettős szálú, kisméretű DNS-vírusok. A cirkuláris genom mérete hozzávetőlegesen 7,9 kilobázis. A több mint 100 azonosított HPV-típus közül bizonyos, magas kockázatúként számon tartott HPV-típusok (high-risk HPV, hrHPV), például a 16-os és a 18-as típus, olyan nyálkahártyaléziókat idéznek elő, amelyek esetében rosszindulatú elfajulás alakulhat ki. A HPV magas kockázatú típusaival történő tartós fertőzés legismertebb szövődménye a méhnyakrák és az azt megelőző léziók (cervicalis intraepithelialis neoplasia, CIN) (1–3).

A vírusgenom korai (early, E) és késői (late, L) géneket tartalmaz, amelyek a HPV életciklusának korai, illetve késői szakaszához szükséges fehérjéket kódolnak. A hrHPV típusok karcinogén tulajdonságokkal rendelkező E6 és E7 géntermékei szükségesek a gazdasejt malignus transzformációjához (4). A malignus progresszió gyakran a vírusnak a gazdasejt genomjába történő beépülésével függ össze (5). A beépülés eredményeként a vírusgenom az E1-től akár az L1 nyitott leolvasási keretig terjedő régióban megszakad (6). Ez következményekkel járhat a vírus DNS PCR-mediált amplifikációja tekintetében e régiókban. Minthogy a transzformált fenotípusnak nem csupán a kialakulása függ a vírus-onkoproteinek folyamatos expressziójától, hanem a fenntartása is (7, 8), a vírus E6/E7 régiója méhnyakrák esetén változatlan marad a beépült vírusgenomban (6). A QIAscreen HPV PCR Test az E7 génen belüli egyik konzervált régiót célozza meg. Az assay-t a HPV-kimutatási assay-kre vonatkozó nemzetközi irányelveknek és más vizsgálatoknak megfelelően klinikailag validálták (9, 10, 14, 15).

Az eljárás elve

A QIAscreen HPV PCR Test egy többszörös, real-time PCR (valós idejű PCR) alapú assay, amely 15 (valószínűsíthető) hrHPV típus E7 génjét célozza meg, és fluoreszcens próbákat alkalmaz egy vagy több felhalmozódó PCR-termék kimutatására. A fluoreszcens jel minden PCR-ciklus során logaritmikusan növekszik, így egy amplifikációs görbe jön létre. Amint a célszegmens amplifikációs görbéje átlépi a küszöbértékét, a minta az adott célszegmensre pozitívnak minősíthető. A többszörös forma négy különböző fluoreszcens festék egyidejű detektálását teszi lehetővé reakciónként, és mindegyik fluoreszcens festék más és más célszegmensnek felel meg. A négy különböző célszegmens a következő: **1.** HPV 16, **2.** HPV 18, **3.** a másik 13 hrHPV típus összesítve, valamint **4.** a humán β -globin gén. A QIAscreen HPV PCR Test külön észleli a HPV 16-os típust, a HPV 18-as típust és a 13 másik, összevont hrHPV genotípust. A humán β -globin gén kontrollmintaként szolgál a minta DNS minőségének, valamint a potenciális gátlóanyagok jelenlétének meghatározásához.

Szállított anyagok

A kit tartalma

QIAscreen HPV PCR Test Kit **72 reakció**

Katalógusszám **617005**

QIAscreen Master Mix (QIAscreen mesterkeverék) (1 cső)	Átlátszó színű	1080 µl
QIAscreen Positive Control (QIAscreen pozitív kontroll) (1 cső)	Átlátszó színű	100 µl
QIAscreen Negative Control (QIAscreen negatív kontroll) (1 cső)	Átlátszó színű	100 µl
QIAscreen HPV PCR Test – használati útmutató (kézikönyv)		1

Szükséges, de nem biztosított anyagok

Vegyszerhasználat során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információkat a megfelelő biztonsági adatlapok (Safety Data Sheet, SDS) tartalmazznak, amelyek az adott termék gyártójától szerezhetők be.

Fogyóeszközök, reagensek és eszközök a minta-előkészítéshez

- Hologic PreservCyt® Solution (az otthoni mintavétel során nyert minta tárolására)
- Standard DNS-kinyerő kitek, például QIAamp® DSP virus spin kit (QIAGEN, katalógusszám: 61704) és QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit (QIAGEN, katalógusszám: 937055) és NucleoMag 96 Tissue kit (Macherey-Nagel, katalógusszám: 744300)
- PBS méhnyaki minták PreservCyt gyűjtőműködésben történő kezelésére
- AL puffer (QIAGEN, katalógusszám: 19075) SurePath és CellSolutions gyűjtőműködésben gyűjtött méhnyaki minták előkezelésére

Fogyóeszközök a Rotor-Gene Q MDx készülékhez

- 0,1 ml Strip Tubes and Caps 72 cellás rotorral való használatra (QIAGEN katalógusszám: 981103 vagy 981106)

Eszközök

- PCR-hez való pipetták* (állítható) (1–10 µl; 10–100 µl)
- Erre a célra rendszeresített steril, szűrővel ellátott, DN-áz-mentes pipettahegyek
- Egyszer használatos kesztyűk
- Asztali centrifuga*
- Vortex keverő*

* Ellenőrizze, hogy a műszereket a gyártó ajánlásai szerint ellenőrizték és kalibrálták-e.

Kivonáshoz és real-time PCR-hez szükséges eszközök

- QIASymphony SP Module (katalógusszám: 9001297) (vagy a kivonás opcionális automatizálására)
- Rotor-Gene Q 5plex HRM System (katalógusszám: 9002033) vagy Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM készülék (katalógusszám: 9002032) 2.3.1-es vagy újabb verziójával* Rotor-Gene Q szoftverrel*
- QIAScreen futtatási sablon a Rotor-Gene Q-hoz. A sablon neve: **“QIAScreen RGQ profile v1.0.ret”**.
- QIAScreen csatornaelemző sablonok a zöld (HPV 16), sárga (HPV egyéb), narancssárga (β -globin) és piros (HPV 18) csatornához. A sablonok fájlkiterjesztése „.qut”.

* Lehetőség szerint Rotor- Gene Q 5plex HRM készülék, amelynek gyártási dátuma 2010. január vagy annál későbbi. A gyártási dátum a készülék hátoldalán található sorozatszámról olvasható le. A sorozatszám formátuma „hhéésszsz”, ahol a „hh” a gyártási hónap, az „éé” a gyártás évének utolsó két számjegye, az „sszsz” pedig egy egyedi készülékazonosító.

Figyelmeztetések és óvintézkedések

Biztonsági információk

Vegyszerhasználat során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információkat a megfelelő biztonsági adatlapok (Safety Data Sheet, SDS) tartalmazznak. Az egyes QIAGEN kitek és összetevők biztonsági adatlapjai praktikus és kisméretű PDF-fájl formájában online megtalálhatók, megtekinthetők és kinyomtathatók a www.qiagen.com/safety weboldalon.

- A QIAScreen HPV PCR Test pozitív és negatív kontrolljai tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak (0,01%). A nátrium-azid az ólom és réz lefolyócsövekkel reakcióba lépve robbanékony fém-azidokat képezhet. A lefolyóba történő kiöntést követően az azid-felhalmozódás megelőzése érdekében öblítse át a csöveket bőséges mennyiségű hideg vízzel.

Általános óvintézkedések

A PCR-tesztek alkalmazásakor be kell tartani a helyes laboratóriumi gyakorlatot, ami magában foglalja a molekuláris biológiai célra készült, valamint a vonatkozó szabályozásoknak és a megfelelő szabványoknak megfelelő berendezések karbantartását.

Mindig tartsa szem előtt az alábbiakat:

- A minták kezelésekor viseljen egyszer használatos, hintőpormentes védőkesztyűt, laboratóriumi köpenyt és védőszemüveget.
- Óvja meg a mintát és a kitet a mikrobiális és nukleáz (DN-áz) szennyeződésektől. A DN-áz a DNS-templát lebomlását idézheti elő.
- Kerülje a DNS, illetve a PCR-termék előző vizsgálati anyaggal történő szennyezését (átszennyezés), mivel az álpozitív jelet eredményezhet.

- Minden esetben használjon DN-áz mentes, aeroszolszűrővel ellátott egyszer használatos pipettahegyeket.
- A QIAscreen HPV PCR Test reagensei optimális hígításúak. Ne hígítsa tovább a reagenseket, mivel az teljesítménycsökkenéshez vezethet.
- A QIAscreen HPV PCR Testben biztosított reagensek kizárólag az ugyanabban a kitben lévő többi reagenssel együtt használhatók. Ne helyettesítse az egyik kitben lévő reagenst egy másik QIAscreen HPV PCR Test Kit-ben lévő ugyanolyan reagenssel, még akkor sem, ha ugyanabból a gyártási tételből származnak, mivel az befolyásolhatja a teljesítményt.
- További figyelmeztetéseket, óvintézkedéseket és eljárásokat a Rotor-Gene Q MDx készülék felhasználói kézikönyvében olvashat.
- Minden nap az első futtatás előtt végezze el a RotorGene Q MDx 5plex HRM bemelegítő futtatását 95 °C-on, 10 percen keresztül.
- Az inkubációs idők és hőmérsékletek megváltoztatása hibás vagy ellentmondásos adatokat eredményezhet.
- Ne használja a kit lejárt szavatosságú vagy nem megfelelően tárolt összetevőit.
- Minimalizálja az összetevők fényexpozícióját, mivel a reakcióelegyek az expozíció hatására módosulhatnak.
- Különösen ügyeljen arra, hogy az elegyek ne szennyeződjenek a PCR-reagensekben lévő szintetikus anyagokkal.
- A mintákat és az assay során képződő hulladékokat a helyi biztonsági eljárásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

A reagensek tárolása és kezelése

Szállítási körülmények

A QIAscreen HPV PCR Test szárazjégen tárolva kerül szállításra. Ha a QIAscreen HPV PCR Test valamelyik összetevője az érkezéskor nincs fagyott állapotban, ha a külső csomagolást a tranzit során felbontották, vagy ha a leszállított termékből hiányzik a csomagolási feljegyzés, a kézikönyv vagy a reagensek, forduljon a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálati részlegéhez vagy a helyi forgalmazóhoz (látogasson el a www.qiagen.com oldalra).

Tárolási feltételek

A QIAscreen HPV PCR Test kitet közvetlenül az átvételt követően állandó hőmérsékletű fagyasztóban -30 és -15 °C között, fénytől védve kell tárolni.

Stabilitás


A megadott tárolási körülmények között tárolva a QIAscreen HPV PCR Test a doboz címkéjén jelzett lejárat dátumig stabil.

Felbontást követően a reagensek eredeti csomagolásukban -30 °C és -15 °C. között tárolhatók. Az ismételt felolvasztás és lefagyasztás kerülendő. Legfeljebb 5 fagyasztás/olvasztás ciklusra kerülhet sor.

- Felbontás előtt az összes csövet óvatosan, 10-szer átfogatva keverje fel és centrifugálja.
- Az egyes reagensek lejárat dátuma az adott összetevő címkéjén található. Helyes tárolási körülmények mellett a termék a stabilitási időn belül megőrzi teljesítményét, feltéve, hogy azonos gyártási tételbe tartozó összetevőket használnak.
- Minőség-ellenőrzési eljárásainak részeként a QIAGEN a kit felszabadítása során elvégzi minden egyes kit-tétel funkcionális vizsgálatát. Ne keverje össze a különböző kitekből származó reagenseket, még akkor sem, ha azok azonos gyártási sarzsba tartoznak.

Vegye figyelembe a dobozon és az egyes összetevők címkéjén feltüntetett lejárat időt és tárolási körülményeket. Ne használjon lejárt szavatosságú vagy helytelenül tárolt összetevőket.

A minták kezelése és tárolása

FIGYELEM 	Minden mintát potenciálisan fertőző anyagként kell kezelni.
--	---

Méhnyakból származó minták

A QIAscreen HPV PCR Test méhnyakból származó mintából (kaporék) nyert genomiális DNS-mintákkal alkalmazandó. A méhnyakból származó minta (kaporék) vételére validált gyűjtőművel a PreservCyt, a CellSolutions®, a Pathtest®, valamint a SurePath® gyűjtőművel. A klinikai minták optimális tárolási hőmérséklete a laboratóriumba érkezést követően 2–8 °C. Ilyen tárolási körülmények mellett a PreservCyt gyűjtőművelben lévő minták 3 hónapig, a SurePath gyűjtőművelben lévő minták 2 hétig maradnak stabilak a DNS-kinyerés előtt.

A PreservCyt-ben gyűjtött méhnyaki minták a mintavétel után 210 napig tárolhatók 18–25 °C-on, két és fél évig 2–8 °C-on, és legfeljebb 2 évig < 20 °C-on. A Surepath gyűjtőművelben gyűjtött méhnyaki minták 2 és 30 °C közötti hőmérsékleten legfeljebb 10 hétig, 2 és 8 °C közötti hőmérsékleten legfeljebb két és fél évig, < 20 °C-on pedig legfeljebb 210 napig tárolhatók a mintavételtől számítva.

Otthoni mintavétellel vett hüvelyi kaporékminták

A QIAscreen HPV PCR Test otthoni mintavétellel vett hüvelyi kaporékmintákból és otthoni mintavétellel vett méhnyaki-hüvelyi mosófolyadékból nyert genomiális DNS-mintákkal alkalmazandó. Az otthoni mintavétellel vett hüvelyi kaporékminták szárazon vagy sóoldatban (0,9% w/v NaCl) gyűjthetők és szállíthatók, a laboratóriumba történő érkezést

követően pedig PreservCyt médiumban tárolhatók. Az otthoni mintavétellel vett méhnyaki-hüvelyi mosófolyadék-mintákat sóoldatba (0,9 w/v% NaCl) kell gyűjteni és abban kell szállítani, a laboratóriumba érkezést követően pedig PreservCyt médiumban kell tárolni. A PreservCyt gyűjtőmédiumban tárolt, otthoni mintavétellel vett minták 18 és 25 °C közötti hőmérsékleten legfeljebb 210 napig, 2 és 8 °C közötti hőmérsékleten legfeljebb két és fél évig, < 20 °C-on pedig legfeljebb 2 évig tárolhatók a mintavételtől számítva.

Genomiális DNS-minták

A genomiális DNS a kinyerést követően 2– 8 °C-on rövid ideig (≤ 2 nap), – 30 °C és –15 °C között pedig legfeljebb 12 hónapig tárolható.

Minta-előkészítés

DNS-kinyerés

A szabványos DNS-kinyerő kitek (például oszlop- és mágneses gyöngy alapú kitek, mint például a QIAamp® DSP Virus spin kit, QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit, és NucleoMag 96 Tissue kit, (Macherey-Nagel) kompatibilisek ezzel az assay-vel. A QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi működési részletei alább szerepelnek.

Klinikai minták PreservCyt vagy PathTezt gyűjtőmédiumban

A PreservCyt vagy PathTezt gyűjtőmédiumban szuszpendált méhnyaki minták (kaparékok) esetében a PCR-ben bemenetként használandó DNS-hányad a 20 ml-es PreservCyt vagy PathTezt méhnyaki kaparék minta 0,125%-át képviseli. Ez az eredeti mintatípusok 25 µl-ének felel meg. Mivel legfeljebb csupán 5 µl kinyert DNS vihető be a PCR-be, a DNS-kinyerési eljárásokat úgy kell elvégezni, hogy 5 µl DNS-kivonat 25 µl méhnyaki mintának (kaparék) feleljen meg; így biztosítható, hogy a PCR során a méhnyaki minta megfelelő hányada kerüljön felhasználásra. Az egyenértékű, formaldehidet tartalmazó (például SurePath) vagy nem tartalmazó (például PreservCyt) médiumokat hasonlóan kell feldolgozni.

Fontos: A PreservCyt kivonási médium megzavarhatja a DNS-kivonás folyamatát. Ezt két különböző módon lehet leküzdeni.

1. A PreservCyt minta alikvot részének a DNS kivonási kitből származó azonos térfogatú PBS-ben vagy lízispufferben való hígításával, és a DNS kivonás megkezdése előtt végzett összekeverésével. Győződjön meg arról, hogy a teljes mintatérfogat kompatibilis a DNS kivonási kittel. Ha a teljes térfogat túl nagy a kivonási kítchez, ajánlatos az alábbiakban ismertetett 2. módszert használni.
2. Centrifugálja a PreservCyt mintát ($\geq 3400 \times g$ -vel 10 percig), és távolítsa el a felülúszót. A pelletet megfelelő térfogatú PBS-ben vagy lízispufferben szuszpendálja, ami

kompatibilis a DNS-kivonási kittel (QIAamp DSP Virus spin kit esetén: szuszpendálja újra 200 µl PBS-ben, és kövesse a gyártó utasításait a DNS-kivonására, eluálja 100 µl-ben; Margery Nagel Nucleomag96 szövetkit: szuszpendálja újra a kit 100 µl T1 pufferében, és kövesse a gyártó utasításait, eluálja 100 µl-ben).

Az egyenértékű médiumokat hasonlóan kell feldolgozni.

A QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit működési részletei

QSDSP protokoll: 500 µl méhnyaki mintát PreservCyt-ben keverjen össze 500 µl PBS-sel. A Complex800_V6_DSP protokollt végrehajtó integrált futtatás elindul a QIASymphony rendszeren a „QIASymphony® SP/AS Consolidated Operating Guide – 12.3 Integrated run” (QIASymphony® SP/AS egyesített használati útmutató – 12.3 Integrált futtatás) című részben leírt lépéseket követve. A DNA eluálása 60 µl-ben történik, és 5 µl lesz felhasználva a QIAScreen HPV PCR Test vizsgálathoz. Ha csak a QIASymphony SP modult használja, Complex800_V6_DSP protokollt végrehajtó minta-előkészítő futtatásra kerül sor a QIASymphony SP készülék használatával. Kövesse a „QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit használati útmutató (Kézikönyv) – Általános tisztítási protokoll” dokumentumban leírt lépéseket.

A SurePath vagy CellSolutions gyűjtőmédiumban szuszpendált, méhnyakból származó minták (kaparék) esetében a PCR-be kerülő DNS hányad a 10 ml SurePath vagy CellSolutions méhnyaki kaparék minta esetében a minta 0,25%-a. Ez az eredeti minta 25 µl-ének felel meg. Mivel legfeljebb csupán 5 µl kinyert DNS vihető be a PCR-be, a mintatérfogatot és a DNS-elúciós térfogatot úgy kell kiválasztani, hogy 5 µl DNS-kivonat 25 µl méhnyaki mintának (kaparék) feleljen meg; így biztosítható, hogy a PCR során a méhnyaki minta megfelelő hányada kerüljön felhasználásra.

FONTOS: A SurePath és CellSolutions médiumon gyűjtött klinikai mintákat használat előtt elő kell kezelni a formaldehid által kiváltott térhálósodás leküzdése érdekében az alábbiakban leírt protokoll szerint.

SurePath és CellSolutions médiumon gyűjtött klinikai minták előkezelése:

3. Keverje a SurePath vagy CellSolutions mintát 1:1 térfogatarányú AL pufferrel (QIAGEN), és alaposan keverje össze.
4. Inkubálja 90 °C-on 20 percig, majd szobahőmérsékleten hagyja kiegyenlítődni, mielőtt folytatná a DNS-kivonást.

Az egyenértékű, formaldehidet tartalmazó médiumokat hasonlóan kell feldolgozni.

A Hologic PreservCyt Solution oldatban szuszpendált, otthoni mintavétellel vett hüvelyi kaparékminták esetében a DNS-kinyerési eljárásokat úgy kell végezni, hogy a PCR-be kerülő 5 µl kinyert DNS a hüvelyi minta 0,5%-ának feleljen meg. Például, ha az otthoni mintavételt követően a hüvelyi mintát 2 ml PreservCyt Solution oldatba helyezik, akkor 5 µl bevitt DNS 10 µl otthoni mintavétellel vett minta szuszpenziójának felel meg.

Otthoni mintavétellel vett méhnyaki-hüvelyi mosófolyadék-minták esetében a PCR-be kerülő bevitt DNS az otthoni mintavétellel vett mosófolyadék-minta 0,5%-ának felel meg. Így 3 ml teljes mosófolyadék-térfogat esetén a DNS-kinyerési eljárásokat úgy kell végezni, hogy 5 µl bevitt DNS az otthoni mintavétellel vett eredeti mosófolyadék-minta 15 µl-ének feleljen meg.

Protokoll: QIAscreen HPV PCR Test a Rotor-Gene Q MDx készülékben

A kezdés előtt figyelembe veendő fontos szempontok

Az eljárás indítása előtt hagyjon időt arra, hogy megismerje a Rotor-Gene Q MDx készüléket. Olvassa el a készülék felhasználói kézikönyvét.

Minden nap az első futtatás előtt végezze el a Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM bemelegítő futtatását 95 °C-on, 10 percen keresztül.

A teszt futtatásához egy Rotor-Gene Q sorozatú szoftversablon szükséges. Győződjön meg arról, hogy a QIAscreen RGQ profile v1.0.ret sablont használja.

A négy detektáló csatorna mindegyikét érintő tesztelemzéshez egy Rotor-Gene Q sorozatú szoftversablon szükséges. Győződjön meg arról, hogy minden csatornához a megfelelő sablont használja az alábbiak szerint:

- A zöld csatorna (HPV 16) jeleinek elemzéséhez a „QIAscreen RGQ Green Channel analysis template.qut” használandó.
- A narancssárga csatorna (β -globin) jeleinek elemzéséhez a „QIAscreen RGQ Orange Channel analysis template.qut” használandó.
- A sárga csatorna (HPV egyéb) jeleinek elemzéséhez a „QIAscreen RGQ Yellow Channel analysis template.qut” használandó.
- A piros csatorna (HPV 18) jeleinek elemzéséhez a „QIAscreen RGQ Red Channel analysis template.qut” használandó.

Mintafeldolgozás a 72 csöves rotorral rendelkező Rotor-Gene Q MDx készülékeken

Egy vizsgálaton belül egy pozitív és egy negatív kontroll mellett legfeljebb 70 genomiális DNS-minta vizsgálható. Az 1. táblázatban közölt elrendezés példa a QIAscreen HPV PCR Testtel végzett vizsgálat betöltő blokkjára, illetve rotorbeállítására. A számok a betöltő blokkban elfoglalt pozíciókat és a végső rotorpozíciókat jelzik.

1. táblázat: Lemez- és rotorbeállítások a QIAscreen HPV PCR Testtel Rotor-Gene Q MDx készüléken végzett vizsgálathoz

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

Megjegyzés: Az összes nem használt pozíciót töltsé fel üres csövekkel.

PCR a 72 csöves rotorral rendelkező Rotor-Gene Q MDx készülékeken

1. A QIAScreen HPV PCR Test előkészítése.

Megjegyzés: A PCR-reakció szennyeződési kockázatának minimalizálása érdekében kifejezetten javasolt az UV-besugárzási funkcióval rendelkező PCR-fülke használata.

Fontos: A QIAScreen Master Mix adagolását a DNS-kinyerés helyétől eltérő területen kell elvégezni.

1a. A templát- és nukleáz-szennyeződés megelőzése érdekében a DNS-degradáló oldat használata előtt tisztítsa meg a munkafületet, a pipettákat és a csőtartó állványt.

Megjegyzés: Az egyes csövek között cseréljen pipettahegyet, hogy elkerülje a nem specifikus templát- vagy reakcióelegy-szennyeződést, ami álpozitív eredményekhez vezethet.

1b. A csöveket 10-szer óvatosan megforgatva keverje meg a csövek tartalmát, majd használat előtt rövid ideig centrifugálja a csöveket, hogy az oldat a cső alján gyűljön össze.

1c. A QIAScreen Master Mixből adagoljon 15 µl-t a csőfüzér megfelelő csöveibe (Rotor-Gene Q MDx készüléken futtatásonként legfeljebb 72 csőbe). A reakció előkészítése szobahőmérsékleten végezhető.

1d. Az anyag lebomlásának elkerülése érdekében tegye vissza a QIAScreen Master Mixet a fagyasztóba. Vigye át a csöveket egy külön területre a QIAScreen Positive Control és minta DNS kiadagolásához.

1e. Mérjen 5 µl negatív kontrollt a 2. pozícióban lévő csőbe, pipettával végzett felszívással és leengedéssel vagy a cső óvatos ütögetésével keverje össze a cső tartalmát, és a kupakot a csőre nyomva zárja le a csövet.

1f. Mérjen 5 µl QIAScreen Positive Controlt az 1. pozícióban lévő csőbe, pipettával végzett felszívással és leengedéssel vagy a cső óvatos ütögetésével keverje össze a cső tartalmát, és zárja le a csövet.

Megjegyzés: Az egyes csövek között cseréljen pipettahegyet, hogy elkerülje a nem specifikus templát- vagy reakcióelegy-szennyeződést, ami álpozitív eredményekhez vezethet.

- 1g. Mérjen 5 µl minta DNS-t a QIAScreen Master Mixet tartalmazó megfelelő csövekbe, pipettával végzett felszívással és leengedéssel vagy a cső óvatos ütögetésével keverje össze a cső tartalmát, és a kupakot a csőre nyomva zárja le a csövet.
- 1h. Minden 4 csőből álló csoport megtöltése után zárja le kupakkal a csöveket.

Megjegyzés: A PCR-csövek a minták PCR-csőbe pipettázását követően a vizsgálat elindítása előtt 30 percig tárolhatók a berendezésben 2–8 °C-on, sötétben.

2. Készítse elő a Rotor-Gene Q MDx készüléket, és az alábbiak szerint kezdje el a vizsgálatot:

Fontos: Minden nap az első futtatás előtt végezze el a Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM bemelegítő futtatását 95 °C-on, 10 percen keresztül.

- 2a. Helyezzen egy 72 cellás rotort a rotortartóba.
- 2b. Töltse fel a rotort csőfüzerekkel a kijelölt pozícióknak megfelelően az 1. táblázatban bemutatottak szerint, az 1. pozícióval kezdve, és az összes nem használt pozícióba helyezzen üres, kupakkal ellátott csőfüzereket.

Megjegyzés: Ügyeljen rá, hogy az első cső az 1-es pozícióba kerüljön, és a csőfüzerek helyes irányban, a megfelelő pozíciókban helyezkedjenek el, az 1. táblázatban közölteknek megfelelően.

- 2c. Helyezze fel a zárógyűrűt.
- 2d. Töltse be a rotort a zárógyűrűvel együtt a Rotor-Gene Q MDx készülékbe, és zárja le a készülék fedelét.
- 2e. Lépjen **New Run (Új futtatás) ablakba**, és kattintson az **Open a template in another folder...** (Sablon megnyitása másik mappában) opcióra.
- 2f. Válassza ki a **QIAScreen RGQ profile v1.0.ret** című QIAScreen run template (QIAScreen futtatási sablon) elemet.
- 2g. Rotor type (Rotortípus) kiválasztása: Válassza ki a **72-well rotor** (72 cellás rotor) és **Locking ring attached** (Zárógyűrű felhelyezve) lehetőséget, majd kattintson a **Next** (Tovább) gombra.

- 2h. Az operator (kezelő) területen írja be a név kezdőbetűit, és kattintson a **Next** (Tovább) gombra.
- 2i. A következő ablakban kattintson a **Next** (Tovább) gombra.
- 2j. Kattintson a **Start run** (Futtatás indítása) gombra.
- A minták nevének beviteléhez kattintson az **Edit samples** (Minták szerkesztése) menüpontra (ez a futtatás befejezése után is megtehető).

2. táblázat: Célszegmens és csatorna beállításai*

Célszegmens	Detektáló csatorna
β-globin	Orange
HPV 16	Green
HPV 18	Red
HPV egyéb*	Yellow

* A HPV egyéb a többi 13 összevont, nem HPV 16/18 típust tartalmazza.

3. Az adatok elemzése.
- 3a. Válassza ki az elemzéshez felhasználandó csöveket.
- 3b. Lépjen az **Analysis tool** (Elemzési eszköz) ablakba, válassza ki a **Cycling A. Green** menüpontot, és kattintson a **Show** (Megmutat) lehetőségre. Kattintson az **Import** (Importálás) opcióra az **Imported Settings** (Importált beállítások) alatt (az ablak jobb alsó sarkában), és válassza ki a **QIAscreen RGQ Green Channel analysis template.qut** fájlt. Válassza ki a **Cycling A. Green** menüpontot, és kattintson a **Hide** (Elrejt) lehetőségre.
- 3c. Válassza ki a **Cycling A. Orange** menüpontot, és kattintson a **Show** (Megmutat) lehetőségre. Az **Imported Settings** (Importált beállítások) alatt kattintson az **Import** (Importálás) lehetőségre, és válassza ki a **QIAscreen RGQ Orange Channel analysis template.qut** fájlt. Válassza ki a **Cycling A. Orange** menüpontot, és kattintson a **Hide** (Elrejt) lehetőségre.

- 3d. Válassza ki a **Cycling A. Red** menüpontot, és kattintson a **Show** (Megmutat) lehetőségre. Az **Imported Settings** (Importált beállítások) alatt kattintson az **Import** (Importálás) lehetőségre, és válassza ki a **QIAScreen RGQ Red Channel analysis template.qut** fájlt. Válassza ki a **Cycling A. Red** menüpontot, és kattintson a **Hide** (Elrejt) lehetőségre.
 - 3e. Válassza ki a **Cycling A. Yellow** menüpontot, és kattintson a **Show** (Megmutat) lehetőségre. Az **Imported Settings** (Importált beállítások) alatt kattintson az **Import** (Importálás) lehetőségre, és válassza ki a **QIAScreen RGQ Yellow Channel analysis template.qut** fájlt.
 - 3f. Kattintson a **Save** (Mentés) gombra.
 - 3g. OPCIONÁLIS: Az eredmények értelmezéséhez az adatok .csv fájlba exportálhatók. Lépjen a **File** (Fájl) > **Save as** (Mentés másként) > **Excel Analysis Sheet** (Excel elemzőlap) menüpontba, és mentse el az export fájlt.
4. Ürítse ki a Rotor-Gene Q MDx készüléket és ártalmatlanítsa a csőfüzérek a helyi biztonsági szabályozásoknak megfelelően.

Az eredmények értelmezése

A futtatásra és a mintára vonatkozó validálási kritériumok az alábbi A, illetve B bekezdésben találhatóak. A pontos mérési értékeket akkor jelzi ki a rendszer, ha egy (vagy több) feltétel nem teljesül.

A. A QIAscreen HPV PCR Test kontrollok validálási kritériumai

A QIAscreen Positive Controlban lévő célszekvenciák C_T értékének β -globin esetén 29 alatt, HPV 16 és HPV 18 esetén 30 alatt, HPV egyéb esetén pedig 32 alatt kell lennie. Ellenkező esetben, amennyiben az elemzés beállításai megfelelőek, meg kell ismételni a vizsgálatot.

A QIAscreen Negative Controlban lévő célszegmensek egyike sem adhat küszöbérték feletti jelet a PCR-futtatás végéig (azaz a 40. vagy nem meghatározott számú ciklusig). Ha a 40. ciklus előtt jel látható, és az elemzés beállításai megfelelőek, akkor meg kell ismételni a vizsgálatot.

Megjegyzés: Ha a kontrollok nem felelnek meg a meghatározott határértékeknek, és az ismétlés kizárja a technikai hibákat, ellenőrizze a következőket:

- A reagens csomagolásán lévő lejárat dátum
- A reagensek hőmérséklete
- A PCR rendszer és a szoftver beállításai
- Szennyeződés

Ha a kontrollok továbbra is érvénytelenek, forduljon a gyártó ügyfélszolgálatához vagy a helyi forgalmazóhoz.

B. A minta eredményeinek értelmezése

A minta eredményének meghatározása a következőképpen történik (3. táblázat).

3. táblázat: Az eredmények értelmezése

	C_T érték – HPV célszegmens(ek)	C_T érték – β-globin	Értelmezés
1	A HPV 16 és/vagy a HPV 18 < 36 és/vagy a HPV egyéb < 33,5	Bármilyen	HPV pozitív
2	A HPV 16 és a HPV 18 ≥ 36 vagy nem meghatározott, és a HPV egyéb ≥ 33,5 vagy nem meghatározott	≤ 30	HPV negatív
3	A HPV 16 és a HPV 18 ≥ 36 vagy nem meghatározott, és a HPV egyéb ≥ 33,5 vagy nem meghatározott	> 30	Érvénytelen

1. HPV pozitív. Ha a HPV 16 és/vagy a HPV 18 C_T értéke < 36, és/vagy a HPV Egyéb < 33,5 (a β-globin C_T értékétől függetlenül). A csatorna jelzi a jelen lévő típus(oka)t. **2. HPV negatív.** Ha a β-globin C_T értéke ≤ 30, és a HPV 16 és a HPV 18 C_T értéke ≥ 36 vagy nem látható jel, valamint a HPV egyéb értéke ≥ 33,5 vagy nem látható jel. **3. Érvénytelen.** Ha a β-globin C_T értéke > 30, és a HPV 16 és HPV 18 C_T értéke ≥ 36 vagy nem látható jel, valamint a HPV Egyéb értéke ≥ 33,5 vagy nem látható jel.

Korlátozások

- A feltüntetett alkalmazási terület esetében a tesztet méhnyaki kaparékmintával vagy otthoni mintavétellel vett (méhnyaki-) hüvelyi mintákkal kell végezni. A QIAScreen HPV PCR Testet azonban formalinban fixált, paraffinba ágyazott (Formalin-Fixed Paraffin-Embedded, FFPE) biopsziás mintákból kinyert DNS-sel való használatra is kiértékeltek.
- A mintagyűjtés, a szállítás, valamint a tárolás befolyásolhatja a célszegmensek számát a mintában, ami esetleg hamis pozitív vagy hamis negatív eredményhez vezethet.
- Ez az útmutatás kizárólag a Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM készülékre vonatkozik.
- A nem megfelelő DNS-kinyerés érvénytelen teszteredményekhez vezethet. A DNS-kinyerési protokollal (amennyiben van ilyen) kapcsolatos technikai tanácsért forduljon a helyi forgalmazóhoz vagy a gyártó ügyfélszolgálatához.
- A célszegmensek alacsony kópiaszáma miatti nem egyértelmű eredmények esetén ismételt elemzés végezhető az eredmény tisztázására.
- Ritkán a méhnyaki elváltozásokat természetes HPV variánsok vagy a QIAScreen HPV PCR Test által nem vizsgált HPV-típusok idézik elő.
- A QIAScreen HPV PCR Test reagensei kizárólag in vitro diagnosztikai célra használhatók.
- A PCR-tesztek alkalmazásakor be kell tartani a helyes laboratóriumi gyakorlatot, ami magában foglalja a molekuláris biológiai célra készült, valamint a vonatkozó szabályozásoknak és a megfelelő szabványoknak megfelelő berendezések karbantartását.
- A QIAScreen HPV PCR Testhez biztosított reagenseket és útmutatást az optimális teljesítmény céljából validálták.
- A QIAScreen HPV PCR Testet a Rotor-Gene Q MDx készülékek kezelésében képzett laboratóriumi szakemberek használhatják.
- Ezt a terméket kizárólag olyan személy használhatja, aki képzett és gyakorlott a real-time PCR és az in vitro diagnosztikai eljárások területén. A kapott diagnosztikai eredményeket mindig az egyéb klinikai vagy laboratóriumi leletekkel összefüggésben kell értelmezni.
- Az optimális QIAScreen HPV PCR Test eredmények elérése érdekében szigorúan be kell tartani a használati útmutatóban (kézikönyvben) foglaltakat.

- Vegye figyelembe a dobozon és az egyes összetevők címkéjén feltüntetett lejárati időt. Ne használjon lejárt reagenst.
- A QIAscreen HPV PCR Testben biztosított reagensek kizárólag az ugyanabban a kitben lévő többi reagenssel együtt használhatók. Máskülönben befolyásolhatják a teljesítményt.
- A termék nem előírászerű alkalmazása és/vagy az összetevők módosítása semmissé teszi a Self-screen B.V. felelősségét.
- Azoknak a laboratóriumi eljárásoknak az esetében, amelyekre nem terjednek ki a teljesítményértékelő vizsgálatok, a felhasználónak kell elvégeznie a rendszer teljesítményének validálását.

Teljesítményjellemzők

Kimutatási határ (LoD)

A kimutatási határ (Limit of Detection, LoD) meghatározása egy HPV genotípus E7 génjének egy részét tartalmazó gBlocks (vagyis kettős szálú genomiális DNS-blokkok) alkalmazásával történt. A többi 15 célzott HPV-típus (azaz 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67 és 68) esetében sorozatos 3-szoros gBlock hígítási sort készítettek 50 ng humán DNS háttérrel, és az elemzést 8 párhuzamossal végezték. A β -globin esetében a kimutatási határ meghatározása a β -globin gén egy részét tartalmazó gBlock 3-szoros hígítási sorozatával történt vízben, és az elemzést 8 párhuzamossal végezték.

4. táblázat: 15 HPV-típus és a β -globin gén kimutatási határa (Limit of Detection, LoD) QIAscreen HPV PCR Test assay alkalmazásával

Célszegmens	LoD (kópiák száma PCR-enként)
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

Analitikai specificitás*

Az analitikai specificitást nem célzott HPV-genomokat (vagyis HPV 6, 11, 26, 40, 42, 43, 53, 61 és 70 típusú) tartalmazó plazmid DNS-ekkel határozták meg, legalább 46 000 kópia/teszt koncentráció mellett, valamint a 3 leginkább patogén hüvelyi mikroorganizmussal (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* és *Candida albicans*), legalább 10 000 kópia/teszt koncentráció mellett. A teszt nem mutatott keresztreaktivitást a nem célzott HPV típusokkal (6, 11, 26, 40, 42, 43, 53 és 61), illetve a mikroorganizmusokkal. Csak a HPV 70 esetén volt megfigyelhető pozitív jel a HPV egyéb csatornán (ez a csatorna detektálja a másik 13 összevont, nem 16-os/18-as HPV-típust), amely további hígítást követően > 17 000 kópia/teszt értékig kimutatható volt. A HPV 70 az epidemiológiai, filogenetikai és funkcionális vizsgálatok alapján vélhetően karcinogén (11-13).

Klinikai teljesítmény méhnyaki minták (kaporék) esetén

A teszt PreservCyt-ben tárolt 2-es stádiumú vagy annál súlyosabb cervicalis intraepithelialis neoplasia (CIN 2+) méhnyaki mintákban (kaporékokban) való kimutatására vonatkozó klinikai szenzitivitását és specificitását a méhnyakrák szűrésére alkalmazott HPV-tesztek követelményeit tartalmazó nemzetközi irányelveknek megfelelően, non-inferiority elemzéssel két különböző vizsgálatban validálták, magas kockázatú HPV GP5+/6+ PCR(10) vagy a Hybrid Capture 2 (14)teszthez hasonlítva (9). A CIN 2+ klinikai érzékenységei 96,8% (61/63) és 92,9% (91/98), a CIN 2+ klinikai specificitásai pedig 95,1% (783/823), illetve 94,2% (933/990) voltak. A klinikai szenzitivitás és specificitás nem volt rosszabb (non-inferior), mint a GP5+/6+ PCR (10) vagy a Hybrid Capture 2 (14) referenciaassay-k esetén, ami nagyon jó klinikai teljesítményt jelez. Azoknál a nőknél, akiknél ASC-US vagy LSIL volt jelen, a CIN 2+ esetében a klinikai szenzitivitási és specificitási érték 97,4% (37/38; 95% CI 83,5–99,6), illetve 59,8% (52/87; 95% CI: 49,2– 69,5) volt.(14)

* A teljesítményjellemzők az ABI7500 tesztverzióra vonatkoznak. Az egyenértékű elemzés hasonló teljesítményt és validálást igazolt a QIAscreen HPV PCR Test Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM készüléken történő alkalmazása esetén.

Reprodukálhatóság*

A tesztre vonatkozó, laboratóriumon belüli reprodukálhatóságot és laboratóriumok közötti egyezést a méhnyakrák szűrésére alkalmazott HPV-tesztek követelményeit tartalmazó nemzetközi irányelveknek megfelelően validálták (9). A különböző időpontokban vizsgált méhnyaki mintákkal (kaparékokkal) kapott eredmények laboratóriumon belüli reprodukálhatósága 99,5% (544/547) volt, 0,99-es kappa érték mellett, a laboratóriumok közötti egyezés pedig 99,2% (527/531) volt, 0,98-as kappa érték mellett, ami nagyon jó egyezést jelez (10).

A teljesítmény vizsgálata az otthoni mintavétellel vett (méhnyaki-) hüvelyi mintákon*

A teszt teljesítményét az otthoni mintavétellel vett (méhnyaki-) hüvelyi minták esetében két különböző mintavételi módszerre validálták: 1) otthoni mintavétellel vett mosófolyadék-minták és 2) otthoni mintavétellel vett kaparék. Az otthoni mintavétellel vett mosófolyadék-minták esetében a GP5+/6+ PCR referenciaassay-ekkel való egyezés 96,7% (59/61), a CIN 2+ szenzitivitás pedig 91,4% (21/23) volt (10). Az otthoni mintavétellel vett kaparékminták esetében a GP5+/6+ PCR teszttel való egyezés 92,9% (104/112), a CIN 2+ szenzitivitás pedig 93,9% (31/34) volt (10).

Zavaró anyagok*

A nyomokban jelenlévő EDTA (0,5 M), HCl (1 N), szilikongyöngyök (1 µl) vér (1 µl), karbamid (40 g/100 ml) és lízispuffer gátolta a teszt teljesítményét. 96%-os ETOH (1 µl) és 4%-os (v/v) DMSO nem gyakorolt gátló hatást a teszt teljesítményére. A gátlást a kontrollmintával (például β-globin célszegmens) monitorozták.

* A teljesítményjellemzők az ABI7500 tesztverzióra vonatkoznak. Az egyenértékű elemzés hasonló teljesítményt és validálást igazolt a QIAscreen HPV PCR Test Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM készüléken történő alkalmazása esetén.

Hivatkozások

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.

Hibaelhárítási útmutató

Ez a hibaelhárítási útmutató bármely felmerülő hiba esetén segíthet a megoldásban. További információkért, kérjük, olvassa el műszaki támogatási oldalunkon a gyakran ismételt kérdéseket: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. A QIAGEN műszaki ügyfélszolgálat kutató szakemberei örömmel állnak rendelkezésére, ha bármilyen kérdése van akár ennek a kézikönyvnek a tartalmával és/vagy a benne szereplő protokollokkal, akár a mintafeldolgozás és az assay módszerével kapcsolatban (az elérhetőség a következő címen található: www.qiagen.com).

Megjegyzések és javaslatok

A minta érvénytelen értékelést kapott: A β -globin-amplifikáció túlságosan gyenge vagy nem történt meg

- | | | |
|----|--|---|
| a) | Pipettázási hiba vagy kihagyott reagensek. Lásd „PCR a 72 csöves rotorral rendelkező Rotor-Gene Q MDx készülékeken”, 21. oldal | Ellenőrizze a pipettázási sémát és a reakcióbeállításokat. Ismételje meg a minta vizsgálatát. |
| b) | Ellenőrizze a DNS-eluátumot | Ismételje meg a DNS-kinyerést. |

A pozitív kontroll érvénytelen értékelést kapott: Az amplifikáció túlságosan gyenge vagy nem történt meg egy vagy több célszegmens esetén

- | | | |
|----|--|---|
| a) | Pipettázási hiba vagy kihagyott reagensek. Lásd „PCR a 72 csöves rotorral rendelkező Rotor-Gene Q MDx készülékeken”, 21. oldal | Ellenőrizze a pipettázási sémát és a reakcióbeállításokat. Ismételje meg a minta vizsgálatát. |
| b) | Részleges lebomlás | A kit összetevőit –15 és –30 °C között tárolja.
Legfeljebb öt alkalommal végezze el a lefagyasztási és felolvasztási ciklust. |
| c) | A PCR-reagensek részleges lebomlása | A kit összetevőit –15 és –30 °C között, a reakcióelegyeket pedig fénytől védve tárolja.
Kerülje az ismétlődő lefagyasztást és felolvasztást. |
| d) | A csőfűző megfordulása | Ellenőrizze a pipettázási sémát és a reakcióbeállításokat. |
| e) | Lejárat dátum | Ellenőrizze az alkalmazott kit lejárat dátumát. |
| f) | Időbeli késlekedés a minták pipettázása és a futtatás elindítása között | A PCR-elegyek a minták PCR-csőbe pipettázását követően a futtatás elindítása előtt 30 percig tárolhatók a berendezésben 2–8 °C-on, sötétben. |

Megjegyzések és javaslatok

A templátot nem tartalmazó kontroll (NTC) érvénytelen

- | | | |
|----|--|--|
| a) | Pipettázási hiba vagy kihagyott reagensek. Lásd „PCR a 72 csöves rotorral rendelkező Rotor-Gene Q MDx készülékeken”, 21. oldal | Ellenőrizze a pipettázási sémát és a reakcióbeállításokat. Ismétlje meg a minta vizsgálatát. |
|----|--|--|













A minta nem ad jelet vagy gyenge jelet ad, de a kontroll futtatása rendben van

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Gátló hatások | Minden esetben ellenőrizze, hogy a DNS-kinyerés során nincs-e jelen puffermaradék.
Ismétlje meg a DNS-kinyerést. |
| b) | Pipettázási hiba. Lásd „PCR a 72 csöves rotorral rendelkező Rotor-Gene Q MDx készülékeken”, 21. oldal | Ellenőrizze a pipettázási sémát és a reakcióbeállításokat. Ismétlje meg a PCR-futtatást. |

Ha a hiba továbbra is fennáll, forduljon a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálatához.

Szimbólumok

A csomagoláson és a címkéken a következő szimbólumok szerepelhetnek:

Szimbólum	Szimbólum meghatározása
	Lejárat dátum
	<i>In vitro</i> diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	CE-IVD jelölés szimbólum
	Katalógusszám
	Tételszám
	Anyagszám
	Komponensek
	Tartalom
	Szám
Rn	Az R a Használati útmutató (Kézikönyv) módosítását, az n pedig a módosítás számát jelöli
	Globális kereskedelmi áruazonosító szám
	Hőmérsékleti korlátozás
	Gyártó

Szimbólum

Szimbólum meghatározása



Napfénytől védve tartandó



Lásd a használati útmutatót



Figyelem!

Kapcsolatfelvételi adatok

Műszaki segítségnyújtásért és további információkért tekintse meg műszaki támogatásunk weblapját a www.qiagen.com/Support címen, hívja a 00800- 22- 44- 6000 telefonszámot, vagy forduljon a QIAGEN valamelyik műszaki szervizosztályához vagy a területileg illetékes forgalmazóhoz (lásd a hátsó borítón vagy a www.qiagen.com webhelyen).

Rendelési információk

Termék	Tartalom	Katalógusszám
QIAscreen HPV PCR Test	72 reakcióhoz, tartalom: Mesterkeverék, pozitív kontroll, negatív kontroll, használati útmutató	617005
QIAsymphony SP	QIAsymphony minta-előkészítő modul (opcionális a kivonáshoz)	9001297
Rotor-Gene Q MDx		
Rotor-Gene Q MDx HRM System	Real-time PCR berendezés és nagy felbontású olvadási görbe- analizáló (High Resolution Melt, HRM) 5 csatomával (zöld, sárga, narancs, piros, karmazsin) és HRM csatomával, laptop, szoftver, tartozékok: az alkatrészekre és a kivitelezésre 1 éves garanciát, üzembe helyezést és oktatást is tartalmaz	9002035
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Real-time PCR berendezés és nagy felbontású olvadási görbe- analizáló (High Resolution Melt, HRM) 5 csatomával (zöld, sárga, narancs, piros, karmazsin), HRM csatorna, laptop, szoftver, tartozékok: az alkatrészekre és a kivitelezésre 1 éves garanciát tartalmaz; üzembe helyezést és oktatást nem tartalmaz	9002032

Rotor-Gene Q MDx tartozékok

Loading Block 72 x 0.1 mL Tubes	Alumínium egység a reakciók manuális összeállítására egycsatornás pipettával 72 db 0,1-es csőben	9018901
Strip Tubes and Caps, 0.1 mL (250)	250, egyenként 4, kupakkal ellátott csövet tartalmazó strip 1000 reakcióhoz	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1 mL (2500)	10 x 250 strip 4 csővel és kupakkal 10 000 reakcióhoz	981106

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN kit kézikönyvében vagy felhasználói kézikönyvében található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói kézikönyvei a www.qiagen.com webhelyen érhetők el, illetve a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

A dokumentum átdolgozási előzményei

Dátum	Módosítások
R2, 2018. augusztus	A Figyelmeztetések és óvintézkedések fejezet frissítése; a CellSolutions® beillesztése a Mintatárolás és mintakezelés fejezetbe és a védjegyek közé; A Minta-előkészítés fejezet átdolgozása úgy, hogy a törtszámok helyett százalékos értékek szerepeljenek; protokollfrissítés: QIAscreen HPV PCR Test RGQ MDxhez; az 1. táblázat 3. oszlopának átdolgozása a QIAscreen HPV PCR Test RGQ MDxhez protokollban; az RGQ MDx-en végzett PCR frissítése a 72 csöves rotor fejezettel és fontos megjegyzés beillesztésével, valamint a New experiment (Új vizsgálat) cseréje New Run (Új futtatás) ablakra; a Teljesítményjellemzők fejezet frissítése; a QIAscreen HPV PCR Test katalógusszámának javítása; szerkezeti felépítés frissítése
R3, 2023. június	Frissítettük a mintatárolási és -kezelési részt; Frissítettük a minta-előkészítési szakaszt a SurePath-ban tárolt minták előkezelésével és a DNS-kivonásra vonatkozó utasításokkal a QIAamp DSP Virus Spin kittel, valamint a DNS-kivonással a QIAAsymphony-val a QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi kit használatával; Frissítettük a SurePath-ban tárolt minták klinikai teljesítményét, és kiegészítettük a SurePath-ban tárolt minták validálásához szükséges hivatkozással.

Korlátozott licencszerződés a QIAscreen HPV PCR Test használatához

A termék használatával a termék vásárlója vagy felhasználója elfogadja a következő feltételeket:

1. A terméket kizárólag a hozzá tartozó protokollok és a jelen kézikönyv szerint, valamint a kithez tartozó komponensekkel együtt szabad használni. A QIAGEN a szellemi tulajdonát képező termékek egyikének esetében sem engedélyezi, hogy a kithez tartozó komponenseket a termékhez mellékelt protokollokban, a jelen kézikönyvben és a www.qiagen.com webhelyen elérhető további protokollokban leírtak kivételével más, nem a kithez tartozó komponensekbe beépítsék, vagy azokkal együtt használják. A további protokollok némelyikét a QIAGEN felhasználói bocsátják más QIAGEN felhasználók rendelkezésére. A QIAGEN nem végezte el ezeknek a protokolloknak az alapos vizsgálatát és optimalizálását. A QIAGEN nem vállal jótállást ezekért a protokollokért, és nem garantálja azt sem, hogy azok nem sértek harmadik felek jogait.
2. Az itt leírt licenccen kívül a QIAGEN nem vállal garanciát arra, hogy ez a panel és/vagy ennek használata nem sérti harmadik felek jogait.
3. A panel és összetevőinek licence csak egyszeri használatra jogosít; újrafelhasználása, felújítása vagy újraértékesítése tilos.
4. A QIAGEN az itt leírtakon kívül kifejezetten kizár minden más konkrét vagy vélelmezett jogot.
5. A panel vásárlója és felhasználója elfogadja, hogy semmilyen olyan lépést nem tesz, és másnak sem engedélyezi semmilyen olyan lépés megtételét, amely a fentiekben előírtak megszegéséhez vezet vagy azt elősegíti. A QIAGEN jogosult a jelen korlátozott licencszerződésben foglalt tilalmak bármely bíróságon kereszttüli érvényesítésére és a korlátozott licencre vonatkozó jelen szerződés vagy a panellel és/vagy összetevőivel kapcsolatos bármilyen szellemi tulajdonjog érvényesítése céljából indított peres eljárásban felmerülő összes vizsgálati és perköltség követelésére, beleértve az ügyvédi költségeket is.

A legújabb licencfeltételekről a www.qiagen.com webhelyen tájékozódhat.

Védjegyek: QIAGEN®, Minta az Insight®-hoz, QIAamp®-hoz, QIAAsymphony®-hoz, MinElute®-hoz, Rotor-Gene®-hez (QIAGEN Group); PreservCyt®-hez (Hologic, Inc.); CellSolutions®-hoz; Pathtezt®-hez (Pathtezt); SurePath®-hoz (Becton Dickinson and Company). A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvény védelmének kívül esőnek, ha nincsenek külön jelöléssel ellátva.

A Self-screen B.V. a QIAscreen HPV PCR Test hivatalos gyártója.

A QIAscreen HPV PCR Testet a Self-screen B.V. gyártja a QIAGEN részére.

1132289HU 06/2023 HB-2579-004 © 2023 QIAGEN, minden jog fenntartva.

Rendelés: www.qiagen.com/shop | Műszaki támogatás: support.qiagen.com |
Webhely: www.qiagen.com