

HPV-Q

Real-Time PCR Kit

HPV-Q Real-Time PCR Kit for OnePCR

REF

G610013

SEZNAM VÝROBKŮ

Název kitu	SKU	Velikost balení
HPV-Q Real-Time PCR Kit for OnePCR	G610013-3	24T

Předchozí REF č.: G2M706721

Toto je neautorizovaný pracovní překlad anglického originálu návodu k použití (IFU) do češtiny, vyhotovený pro interní referenční účely. Rozhodující je vždy anglický originální dokument výrobce; před použitím produktu si jej prosím ověřte.

Pouze pro diagnostiku *in vitro*.

Č.	Obsah	Číslo strany
1.	Účel použití	3
2.	Určený uživatel	3
3.	Souhrn	3
4.	Přístroje kompatibilní se soupravou	3
5.	Pokyny pro uchovávání a stabilitu	3
6.	Odběr a příprava vzorku	3
One PCR Ultra-Fast RT PCR System		
•	Princip testu	4
•	Dodávaný materiál	4
•	Materiál potřebný, ale nedodávaný	4
•	Postup testu	4
7	Interpretace výsledků	15
8	Charakteristiky výkonu	16
9	Varování a bezpečnostní opatření	17
10	Omezení	18

Účel použití

HPV-Q Real-Time PCR Kit je diagnostický test *in vitro* založený na technologii real-time PCR, určený k kvalitativní detekci HPV-16, HPV-18 a 12 dalších vysoce rizikových genotypů HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68) v klinických vzorcích.

Určený uživatel

Test je určen k provádění laboratorním odborníkem v klinické laboratoři.

Souhrn

Infekce lidským papilomavirem (HPV infekce) je hlavní příčinou rakoviny děložního čípku a existují důkazy o tom, že HPV je relevantním faktorem i u dalších anogenitálních nádorů (anus, vulva, vagina a penis) a nádorů hlavy a krku. Existuje více než 100 různých typů HPV, z nichž přibližně 40 různých typů infikuje lidskou anogenitální sliznici. Nicméně mezi nimi jsou HPV16 a HPV18 zodpovědné za přibližně 70 % všech případů rakoviny děložního čípku na celém světě. HPV se přenáší především pohlavním stykem a většina sexuálně aktivních žen a mužů se v určitém okamžiku svého života nakazí, přičemž některé osoby mohou být infikovány opakovaně. Ačkoli se většina infekcí HPV nakonec spontánně vyléčí a většina prekancerózních lézí se spontánně vyřeší, existuje u všech žen riziko, že infekce HPV se stane chronickou a prekancerózní léze přejdou do invazivního karcinomu děložního čípku. U žen se slabým imunitním systémem, například s neléčenou infekcí HIV, k tomu může dojít rychleji, a tyto ženy mají tak šestkrát vyšší riziko rozvoje rakoviny děložního čípku.

Přístroje kompatibilní se soupravou

- **One PCR:** Ultra-Fast RT PCR System (Genes 2Me Private Limited)
- Zajistěte, aby všechny používané přístroje byly řádně instalovány, kalibrovány, kontrolovány a udržovány podle pokynů a doporučení výrobce.

Pokyny pro uchovávání a stabilitu

- Komponenty soupravy jsou expedovány při teplotě 10 °C až 30 °C a musí být uchovávány při teplotě 2 °C až 8 °C.
- Všechny komponenty mají dobu použitelnosti 12 měsíců od data výroby.
- Souprava zůstává stabilní do data expirace uvedeného na krabici nebo obalu, pokud je uchovávána podle těchto pokynů.
- ☀ Pro zachování optimální funkčnosti je nezbytné chránit soupravu před přímým slunečním zářením.

Odběr a příprava vzorku

- Odebírejte vzorky (cervikální výtěry) podle doporučených pokynů uvedených na příbalovém letáku soupravy. Po odběru výtěrového vzorku by měl být okamžitě vložen do transportní zkumavky a co nejrychleji dopraven do laboratoře.
- Vzorky lze uchovávat až 4 dny při teplotě 2 °C až 8 °C.
- Se vzorky zacházejte a uchovávejte je opatrně, aby byla zachována jejich stabilita.
- Zajistěte stálou teplotu během přepravy, aby nedošlo k výkyvům.
- Uzavřený obal obsahující vzorek postříkejte 75 % etanolem v biologicky bezpečnostní skříni.

One PCR: Ultra-Fast RT PCR System

Princip testu

HPV-Q Real-Time PCR Kit je uzpůsobena pro použití se systémem One PCR Ultra-Fast RT PCR System a poskytuje bezproblémový pracovní postup založený na technologii real-time PCR pro extrahovaný vzorek DNA z lidských klinických vzorků. Obsahuje předplněnou extrakční cartridge pro účinnou extrakci jednoho vzorku a lyofilizovanou zkumavku Ready Mix pro real-time PCR amplifikaci. Extrakční cartridge obsahuje předplněné lyzační a promývací pufr, dále eluční pufr a proprietární magnetické kuličky společnosti Genes 2Me. Jedná se o multiplexní test v jedné zkumavce, kde zkumavka Ready Mix obsahuje všechna základní činidla pro multiplexní PCR, včetně enzymů a speciálně navržených párů primerů a sond cílících na odlišné oblasti v genomech HPV-16 (značeno HEX), HPV-18 (značeno FAM) a 12 dalších sloučených vysoce rizikových genotypů HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68 – značeno Texas Red). Tento test umožňuje simultánní detekci více genotypů v jedné reakční zkumavce, přičemž využívá více párů primerů a sond k amplifikaci a detekci více než jedné cílové sekvence. Každý test navíc obsahuje interní kontrolu – gen beta-aktinu (značeno Cy5) pro kontrolu zpracování během extrakce a real-time RT-PCR, což zajišťuje komplexní monitorování validace kvality vzorku v průběhu celého procesu extrakce a PCR reakce.

Během procesu amplifikace je fluorescence emitována a měřena systémem OnePCR, což poskytuje výsledky v real time pro přesnou a včasnou diagnostiku.

Dodávaný materiál

Tabulka 1. (Pro 24 testů)

Obsah soupravy	Popis	Kód obsahu soupravy	Množství (G610013-3)
HPV-Q Cartridge Box	Cartridge-1	G2MA3-2532-1	24 X 1T
	Cartridge-2	G2MA3-2533-1	24 X 1T
	Adaptér pro Cartridge-2	G2MA3-2534-1	24 X 1T
Pufry	Rekonstituční pufr	G2MA3-2485-1	1 X 0,5 ml
HPV-Q PC	Pozitivní kontrola	G2MA3-1797-2	2 X 1T

Poznámka: Pokyny pro pipetování

Můžete opakovaně použít pipety s pevným objemem nebo použít pipety s nastavitelným objemem podle potřeby k dosažení požadovaného objemu.

Materiál potřebný, ale nedodávaný

- Souprava / nádoba pro odběr vzorků
- Mikropipeta s pevným objemem (Genes 2Me Private Limited)
- Jednorázové špičky s bariérovým filtrem (10 µl, 25 µl a 200 µl)

- Voda bez nukleáz (NFW)
- Jednorázové bezpudrové rukavice
- Mikrozkušavky
- One PCR Ultra-Fast RT PCR System (Genes 2Me Private Limited) (IG2M5001UF)

Postup testu

Kontrola kvality pro 24reakční soupravu

- Systém OnePCR zjednodušuje celý proces tím, že kombinuje extrakci jednoho vzorku a real-time PCR amplifikaci v jednom běhu.
- Pro každý test se soupravou HPV-Q Real-Time PCR Kit vyjměte ze soupravy Cartridge-1 a Cartridge-2.
- Před zahájením testování zajistěte provedení následujících kontrol kvality pro každou 24reakční soupravu:
- **Kontrola bez templátu (NTC):** Jako vzorek pro validaci NTC použijte 200 µl vody bez nukleáz (NFW). Tím se ověří, že v nepřítomnosti cílové RNA nedochází ke kontaminaci ani amplifikaci.
- **Pozitivní kontrola (PC):** Přidejte 200 µl NFW do zkumavky s lyofilizovanou PC a použijte ji jako pozitivní vzorek k validaci funkčnosti testu.
- Tyto kontroly by měly být provedeny na začátku, aby byla před testováním vzorků ověřena výkonnost a přesnost soupravy.

Pracovní postup OnePCR a podrobné instrukce:

Krok 1: Zapnutí přístroje

1. Zapněte přístroj:

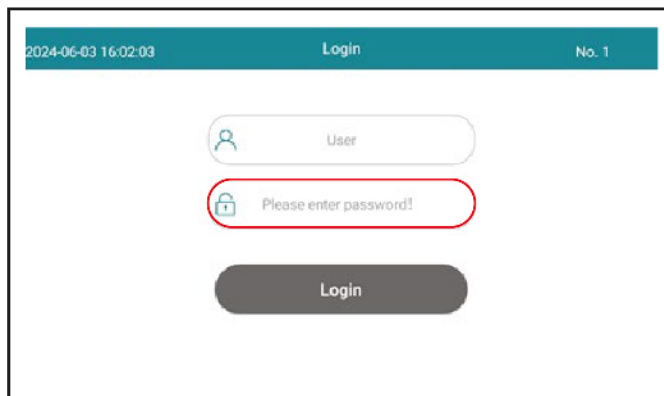
Vyhledejte vypínač na zadní straně přístroje OnePCR a zapněte jej. Přístroj se spustí, inicializuje a provede vlastní test (Obrázek 1).



Obrázek 1: Přepněte vypínač do polohy „ON“ na zadní straně přístroje

2. Přihlášení do přístroje:

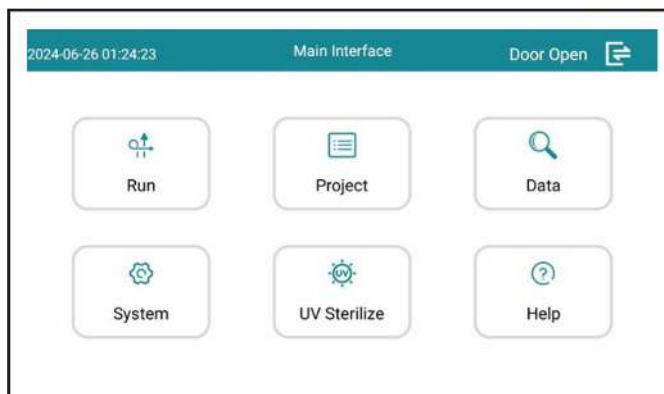
Po vyzvání zadejte přihlašovací údaje svého účtu (výchozí heslo: 1234) (Obrázek 2).



Obrázek 2: Přihlašovací rozhraní uživatele

3. Přístup do hlavního rozhraní:

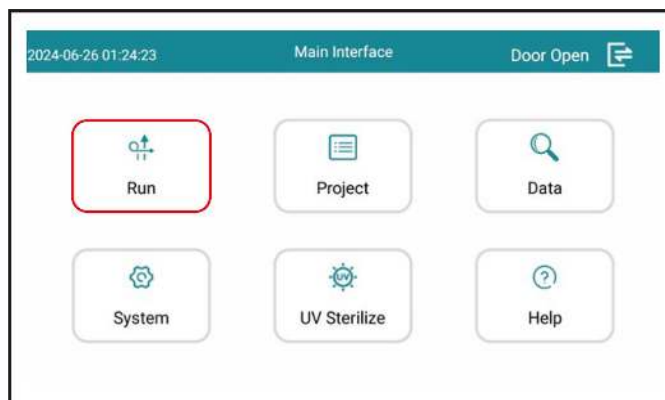
Na hlavní obrazovce se zobrazí 6 možností: Run (Spustit), Project (Projekt), Data, System (Systém), UV Sterilize (UV sterilizace) a Help (Nápověda), společně s tlačítkem Door Open (Otevřít dveře) (Obrázek 3).



Obrázek 3: Hlavní rozhraní přístroje

4. Vyberte možnost „Run“:

Pro pokračování stiskněte možnost „Run“ (Obrázek 4).

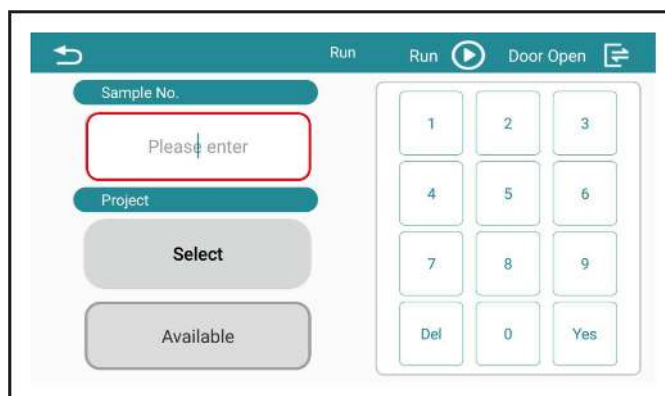


Obrázek 4: Výběr možnosti „Run“ v hlavním rozhraní přístroje

Krok 2: Zadání údajů o pacientovi

1. Manuální zadání ID pacienta:

Přejděte na záložku „Sample“ (Vzorek) a zadejte ID pacienta (Obrázek 5).



Obrázek 5: Manuální zadání čísla vzorku / ID pacienta

2. Skenování ID pacientů:

Alternativně můžete pomocí čtečky čárových kódů zadat ID pacientů do sloupce „Sample No.“ (Číslo vzorku) (Obrázek 6).



Obrázek 6: Funkce čtečky čárových kódů pro automatizované zadání čísla vzorku / ID pacienta

3. Naskenujte QR kód Cartridge-1:

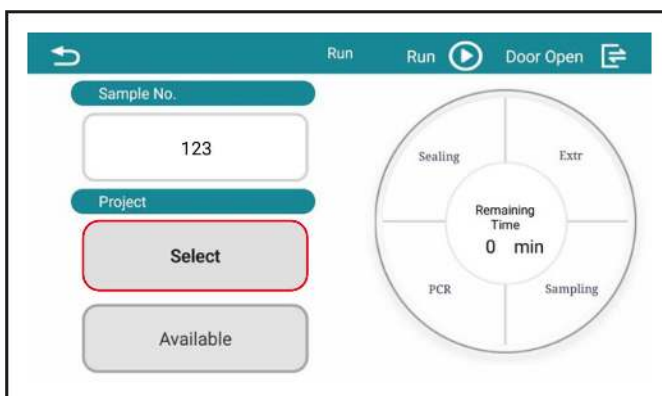
Zajistěte, aby byl QR kód na Cartridge-1 viditelný pro skenování. Naskenováním QR kódu se program automaticky vybere (Obrázek 7).



Obrázek 7: Skener QR kódu pro automatizovaný výběr programu

4. Manuální výběr programu:

Pokud skenování není možné, klikněte na „Select“ (Vybrat) a zvolte přednastavený program „HPV-Q“ (Obrázek 8).



Obrázek 8: Manuální výběr programu z přednastaveného seznamu

Krok 3: Příprava cartridge

1. Připravte Cartridge-1:

Pevně poklepejte na Cartridge-1, aby se kapalina usadila, a zkontrolujte přítomnost vzduchových bublin (Obrázek 9).



Obrázek 9: Poklepání Cartridge-1 na desce stolu

2. Odloupněte fólii Cartridge-1:

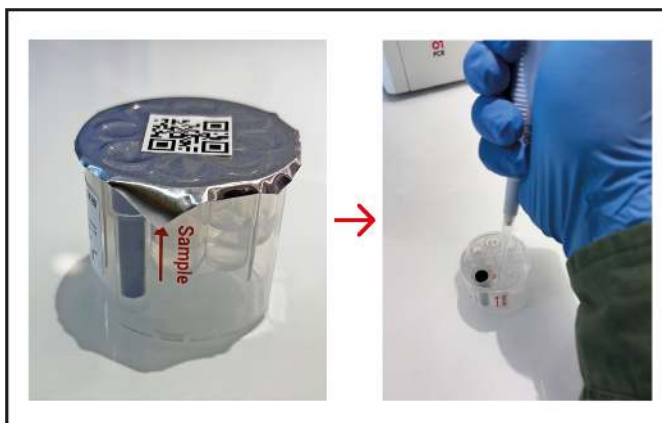
Opatrně odloupněte ochrannou fólii z Cartridge-1 (Obrázek 10).



Obrázek 10: Odloupnutí fólie Cartridge-1

3. Přidejte vzorek pacienta do Cartridge-1:

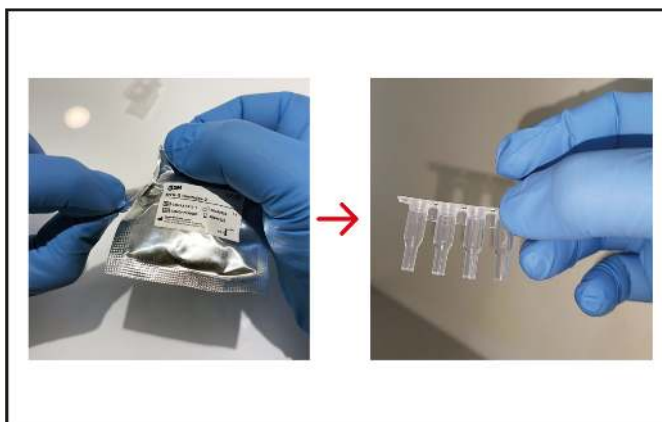
Do jamky „A“ Cartridge-1, označené červeně nápisem „Sample“ (Vzorek), přidejte 200 µl vzorku pacienta (Obrázek 11).



Obrázek 11: Přidání vzorku do jamky „Sample“ Cartridge-1

4. Připravte Cartridge-2:

Otevřete balení Cartridge-2. Poklepáním na Cartridge-2 usadíte lyofilizovaný materiál (Obrázek 12).



Obrázek 12: Otevření Cartridge-2

5. Přidejte rekonstituční pufr:

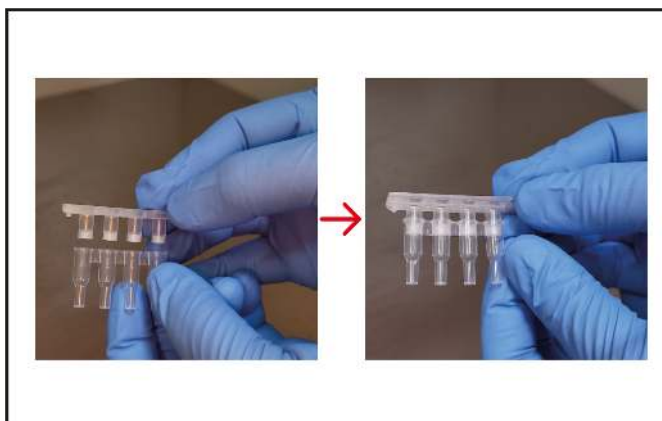
Odstraňte víčka zkumavek z Cartridge-2 a podle potřeby přidejte a důkladně promíchejte 10 µl rekonstitučního pufru do pozice A (Obrázek 13).



Obrázek 13: Rekonstituce lyofilizovaných činidel v Cartridge-2

6. Připevněte Cartridge-2 k adaptéru:

Pro zpracování připevněte k Cartridge-2 dodaný adaptér pro zkumavky (Obrázek 14).



Obrázek 14: Připevnění adaptéru k Cartridge-2

7. Umístěte adaptér:

Zajistěte, aby prodloužená přechínající část adaptéru byla umístěna v pozici A (Obrázek 15).

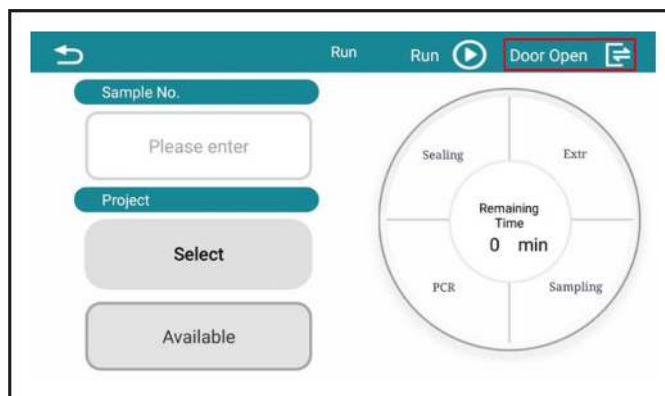


Obrázek 15: Správná orientace připevnění adaptéru na Cartridge-2

Krok 4: Vložení cartridge

1. Otevřete dvířka přístroje:

Stisknutím tlačítka „Door Open“ (Otevřít dveře) v pravém horním rohu obrazovky otevřete dvířka přístroje (Obrázek 16).



Obrázek 16: Otevření dvířek přístroje

2. Vložte Cartridge-1:

Pro správné umístění zarovnejte plochý výřez Cartridge-1 s plochou stranou přístroje (Obrázek 17).



Obrázek 17: Správná orientace pro vložení Cartridge-1 do přístroje

3. Vložte Cartridge-2:

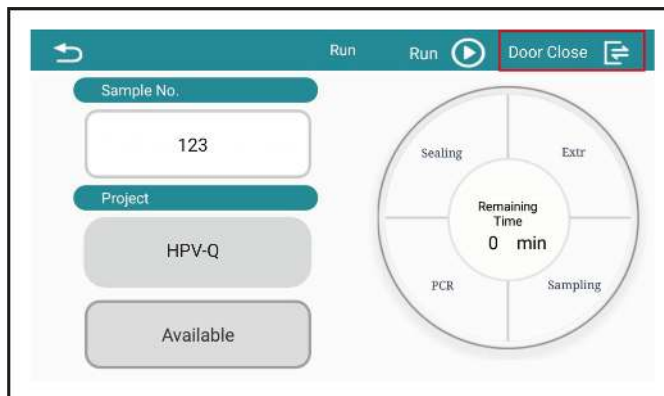
Umístěte Cartridge-2 do příslušné pozice (A, B, C a D) podle instalační příručky (Obrázek 18).



Obrázek 18: Správná orientace pro vložení Cartridge-2 do přístroje

3. Zavřete dvířka přístroje:

Stisknutím tlačítka „Door Close“ (Zavřít dveře) zavřete dvířka (Obrázek 19).

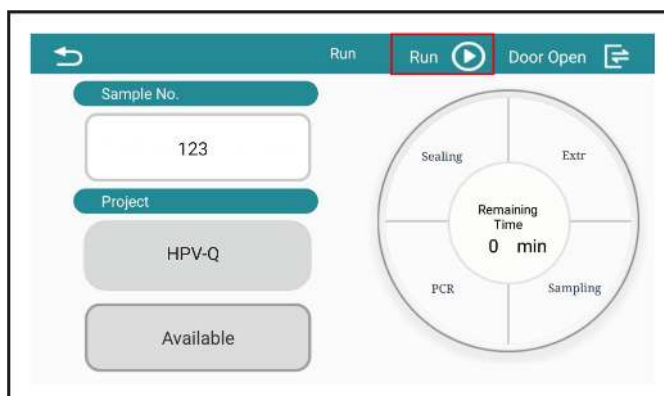


Obrázek 19: Zavření dvířek přístroje

Krok 5: Spuštění přístroje

1. Zahajte běh:

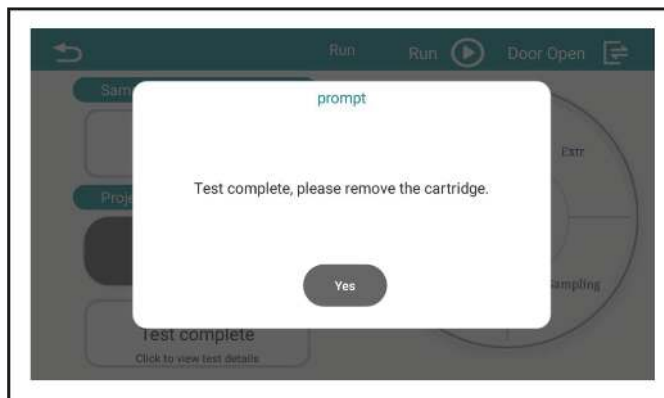
Stisknutím tlačítka „Run“ zahájíte extrakci vzorku a Real-Time PCR amplifikaci. Systém vzorky zpracuje automaticky (Obrázek 20).



Obrázek 20: Kliknutím na „Run“ zahájíte běh OnePCR

2. Dokončení běhu:

Po dokončení běhu vyzve přístroj k vyjmutí cartridge (Obrázek 21).



Obrázek 21: Výzva přístroje k vyjmutí cartridge po dokončení běhu

Krok 6: Vyjmutí cartridge

Otevřete dvířka a opatrně vyjměte cartridge:

Po dokončení běhu otevřete dvířka a opatrně vyjměte Cartridge-1 i Cartridge-2 (Obrázek 22).

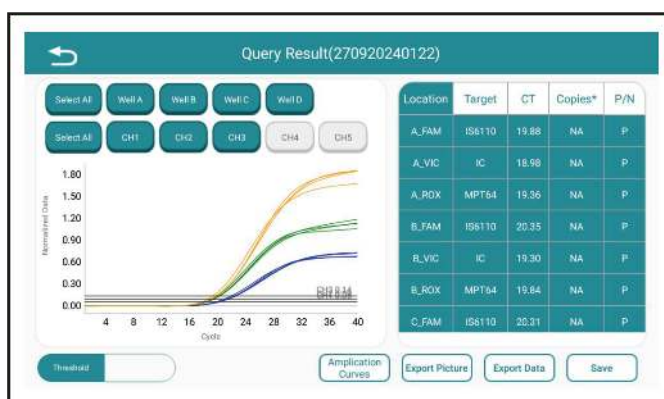


Obrázek 22: Otevření dvířek přístroje a vyjmutí cartridge

Krok 7: Zobrazení výsledků

1. Zobrazení výsledků:

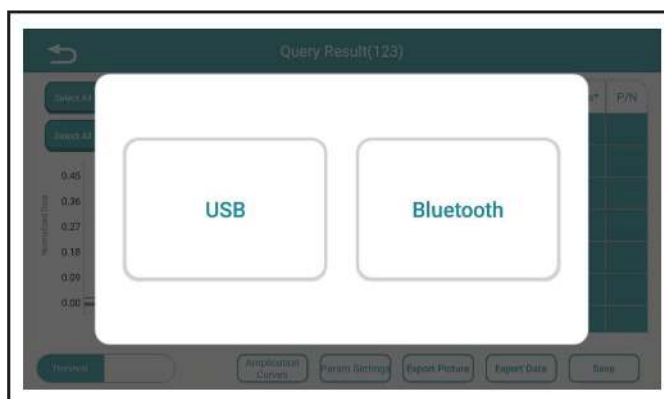
Po dokončení běhu software zobrazí výsledky pro každý vzorek jako pozitivní nebo negativní (P/N), včetně hodnot Ct a amplifikačních křivek (Obrázek 23).



Obrázek 23: Výsledky vygenerované softwarem OnePCR po dokončení běhu

2. Export reportů:

Pomocí funkce „Export“ exportujte data prostřednictvím možností „USB“ nebo „Bluetooth“ (Obrázek 24).

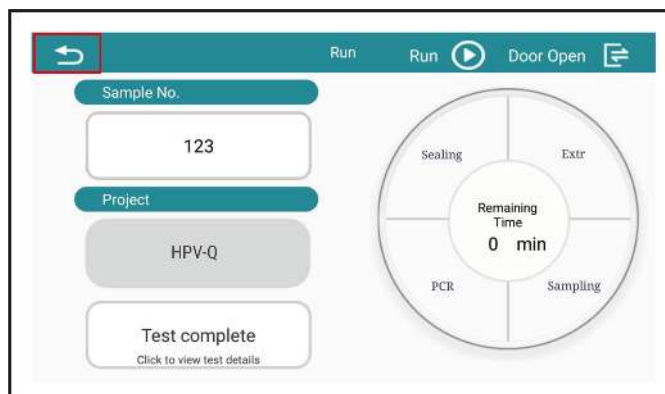


Obrázek 24: Možnosti exportu dat vygenerovaných po běhu

Krok 8: Zobrazení uložených výsledků

1. Přístup k předchozím běhům:

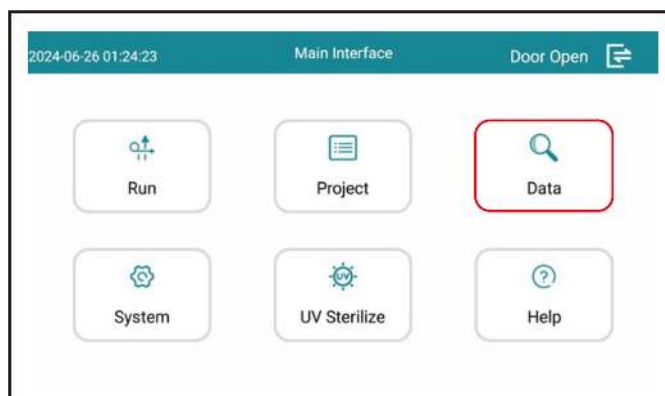
Kliknutím na ikonu „↩“ přejdete do hlavního rozhraní (Obrázek 25).



Obrázek 25: Přejchod do hlavního rozhraní pro přístup k předchozím běhům

2. Zobrazení dat:

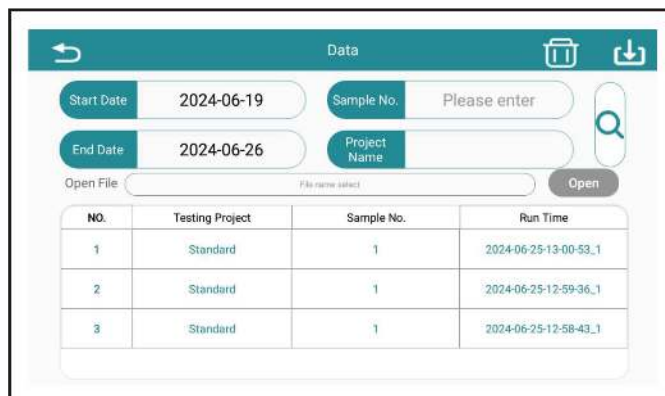
Vyberte možnost „Data“ pro zobrazení seznamu předchozích běhů (Obrázek 26).



Obrázek 26: Kliknutím na „Data“ v hlavním rozhraní zobrazíte uložené výsledky

3. Vyberte uložený běh k zobrazení:

Ze seznamu uložených běhů vyberte požadovaný soubor pro zobrazení dat a amplifikačních křivek daného běhu (Obrázek 27).



Obrázek 27: Výběr požadovaného běhu pro zobrazení dat a amplifikačních křivek

Krok 9: Vypnutí přístroje

1. Vypnutí:

Vypněte přístroj pomocí vypínače umístěného na zadní straně (Obrázek 28).



Obrázek 28: Přepnutí vypínače do polohy „off“ na zadní straně přístroje

Interpretace výsledků

Tabulka 2.

Cílové organismy	Signál real time PCR				
HPV16 (VIC/HEX)	+	-	-	-	-
HPV18 (FAM)	-	+	-	-	-
HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 & 68 (ROX/Texas Red)	-	-	+	-	-
Interní kontrola (Cy5)	+/-	+/-	+/-	+	-
Kontrola bez templátu (NTC)	-	-	-	-	-
Výsledek	Pozitivní výsledek pro HPV16	Pozitivní výsledek pro HPV18	Pozitivní výsledek pro HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	Negativní výsledek	Neplatný výsledek

Charakteristiky výkonu

Tabulka 3.

Č.	Parametry	Pozorování
1	Přesnost	Opakovatelnost v rámci běhu: CV <3,4 %
2		Opakovatelnost mezi dny: CV <3,5 %
3		Reprodukovatelnost mezi pracovišti: CV <3,5 %
4		Reprodukovatelnost mezi obsluhou: CV <3,4 %
5	Meze detekce	LOD: 1000 kopií/ml
6	Analytická specifická	Studie interference: hemoglobin – 2 g/l, celá krev – 5–10 % (v/v), lidská genomová DNA – $\geq 10^6$ kopií/ml → nebyla zjištěna žádná interference
7		Studie zkřížené reaktivity: <i>Chlamydia trachomatis</i> – 1×10^6 kopií/ml, <i>Neisseria gonorrhoeae</i> – 1×10^6 kopií/ml, CMV – 1×10^6 kopií/ml → nebyla zjištěna žádná zkřížená reaktivita
8	Klinická senzitivita	98 %
9	Klinická specifická	99 %

Výpočet klinického hodnocení			
Diagnostická přesnost			
Výsledek testu	Onemocnění přítomno	Onemocnění nepřítomno	Celkem
Pozitivní	TP=49	FP=1	TP+FP=50
Negativní	FN=1	TN=99	FN+TN=100
Celkem	TP+FN=50	FP+TN=100	150

TP: pravdivě pozitivní výsledek; FP: falešně pozitivní výsledek; TN: pravdivě negativní výsledek; FN: falešně negativní výsledek.

Varování a bezpečnostní opatření

- ⚠ Před použitím si pečlivě přečtěte tento návod k použití (IFU) a seznamte se s postupy obsluhy a bezpečnostními opatřeními.
- Pracovní plocha a různé pomůcky používané při testování musí být pravidelně dezinfikovány 1 % roztokem chlornanu sodného nebo 75 % alkoholem.
 - Tento test je určen pouze pro diagnostiku *in vitro*.
 - Se všemi klinickými vzorky zacházejte, jako by obsahovaly infekční agens; vždy používejte vhodné ochranné prostředky, včetně rukavic a laboratorních plášťů.
 - Postupy provádějte v dobře větraném prostoru a dodržujte pokyny pro odpovídající úroveň biologické bezpečnosti podle typu vzorku.
 - Zabraňte křížové kontaminaci používáním nových rukavic a pipetovacích špiček pro každý vzorek a kontrolu.
 - Veškerý biologicky nebezpečný odpad, jako jsou špičky, použité cartridge, rukavice apod., likvidujte v souladu s místními předpisy.
 - Zajistěte řádnou kalibraci a údržbu přístrojů, aby nedocházelo k chybným výsledkům.
 - Nepoužívejte komponenty soupravy po datu expirace.
 - Uchovávejte činidla řádně při teplotě 2 °C až 8 °C a zabraňte opakovanému zmrazování a rozmrazování.
 - Před použitím zajistěte, aby rekonstituční pufr a ostatní komponenty byly vyrovnány na pokojovou teplotu.
 - Používejte vodu bez nukleáz a certifikovaný spotřební materiál, abyste zabránili kontaminaci.
 - Nemíchejte činidla z různých šarží soupravy.
 - V případě rozlití dezinfikujte postižené místo vhodným dezinfekčním prostředkem a bezpečně zlikvidujte kontaminovaný materiál.
 - Nevystavujte soupravu přímému slunečnímu záření ani extrémním teplotám, protože by to mohlo ovlivnit její funkčnost.
 - Při odtrhávání krytu Cartridge-1 na ni jemně poklepejte, abyste zabránili vylití činidel; případné rozlití okamžitě očistěte.
 - Při manipulaci s Cartridge-1 se vyvarujte třesení nebo jejího obrácení, aby nedošlo k úniku činidel.
 - Zajistěte správné plnění rekonstitučním pufrům do Cartridge-2: u jednozkumavkových testů přidejte do zkumavky A; u dvouzkumavkových testů do zkumavek A a B; u třízkumavkových testů do zkumavek A, B a C; u čtyřzkumavkových testů do zkumavek A, B, C a D.
 - Zajistěte, aby byla Cartridge-2 vložena do přístroje ve správné orientaci (A, B, C, D), aby nedošlo k záměně výsledků.
 - Při pipetování do jamek cartridge zajistěte přesné dávkování objemu, aby nedošlo k falešným výsledkům.
 - Zajistěte, aby byly cartridge v přístroji řádně usazeny; volné uložení může způsobit poruchu.
 - Pravidelně kalibrujte a udržujte přístroj OnePCR, aby byl zajištěn přesný teplotní cyklus a detekce fluorescence.
 - Nedotýkejte se vnitřku jamek cartridge; používejte sterilní pipetovací špičky a rukavice.
 - Zabraňte kontaminaci činidel a vzorků heparinem, protože může interferovat s výsledky testu.

Omezení

- Pro dosažení optimálních výsledků je nezbytné důsledně dodržovat příbalový leták soupravy neboli návod k použití (IFU). Výsledky tohoto testu jsou citlivé na způsob odběru, transportu, uchovávání a zpracování vzorku a jakékoli nesrovnalosti mohou vést k nepřesným výsledkům. Například křížová kontaminace, pokud není během zpracování vzorku řádně kontrolována, může vést k falešně pozitivním výsledkům.
- Test je omezen na specifikovaná extrakční činidla, typy vzorků a příslušné přístroje.
- Pro optimální provedení tohoto testu je nezbytné důsledné dodržování správné laboratorní praxe (GLP).
- Případné mutace v cílových oblastech genomu, na které se váží primery/sondy použité při návrhu soupravy, mohou vést k nekonzistentním výsledkům.
- Stejně jako u jakéhokoli diagnostického testu musí být výsledky testu této soupravy interpretovány podle části „interpretace výsledků“ tohoto návodu, s ohledem na všechny klinické a laboratorní nálezy.

Symbole použité na označení

Symbole	Definice
	CHRAŇTE PŘED SLUNEČNÍM ZÁŘENÍM
	TEPLOTNÍ OMEZENÍ
	DIAGNOSTICKÝ ZDRAVOTNICKÝ PROSTŘEDEK IN VITRO
	TOUTO STRANOU NAHORU
	ŘÍDTE SE NÁVODEM K POUŽITÍ
	KÓD ŠARŽE
	KATALOGOVÉ ČÍSLO
	DATUM POUŽITELNOSTI
	DATUM VÝROBY
	VÝROBCE
	OBSAH DOSTAČUJÍCÍ PRO <n> TESTŮ
	UPOZORNĚNÍ
	NEPOUŽÍVEJTE, POKUD JE OBAL POŠKOZEN
	ZPLNOMOCNĚNÝ ZÁSTUPCE PRO EVROPSKÉ SPOLEČENSTVÍ / EVROPSKOU UNII
	EVROPSKÁ SHODA

Genes 2Me Private Limited Plot No - 33 Sector-5, IMT Manesar, Gurugram, Haryana - 122052 (India), Telefonní čísla: +91 18001 214030 / +91 88000 23600 / +91 8800821778, E-mail: contact@genes2me.com

OBELIS S.A. Bd General Wahis 53 B-1030 Brussels Belgium, Tel: +3227325954, Fax: +3227326003, E-mail: mail@obelis.net