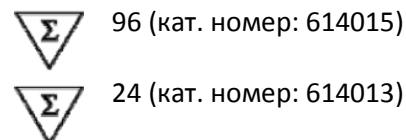


## Справочное руководство по использованию набора *careHPV™* для определения вируса папилломы человека



Версия 1

**IVD**

Для определения 14 генотипов вируса папилломы человека (ВПЧ) с высоким риском развития рака шейки матки - при помощи гибридизации ДНК

Предназначено для совместного использования со следующими позициями:

- Система тестирования *careHPV*, каталожный номер 9001772
- Специальная щеточка для забора мазка со слизистой шейки матки *careBrush*, каталожный номер. 619024
- Набор среды для забора *careHPV*, каталожный номер. 619025



614015, 614013



1058802EN



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1  
D-40724

R1



1058802EN



---

Работа с образцами и аналитические технологии

## **Работа с образцами и аналитические технологии с компанией QIAGEN**

QIAGEN является ведущим поставщиком инновационных технологий по работе с образцами и аналитических технологий, что позволяет изолировать и определить состав любого биологического объекта. Наши передовые, высококачественные изделия и услуги обеспечивают успешное взятие образца ткани и получение достоверного результата.

### **QIAGEN устанавливает стандарты для следующих мероприятий:**

- Очистка ДНК, РНК и протеинов
- Анализ нуклеиновой кислоты и протеинов
- исследование микроРНК и РНК-интерференции
- Автоматизация исследований образцов и аналитических технологий

Наша миссия состоит в том, чтобы позволить вам добиться потрясающих успехов и прорывов. Для получения более подробной информации, посетите сайт [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## **Оглавление**

**Назначение 4**

**Краткое содержание и объяснение 4**

**Принцип процедуры 5**

**Материалы 7**

Содержание тестового набора 7

**Необходимые материалы, не включенные в набор 8**

**Предупреждения и меры предосторожности 9**

Предупреждения 9

Меры предосторожности 11

**Хранение реагентов и правильное обращение с ними 12**

**Правила обращения с образцами ткани и их хранение 12**

**Процедура 12**

Подготовка образцов 12

Подготовка реагентов 13

**Протоколы**

■ **1: Подготовка микропланшетов и 30-минутная инкубация 14**

■ **2: Добавление реагента 2 и 15-минутная инкубация 16**

■ **3: Добавление реагента 3 и 30-минутная инкубация 17**

■ **4: Добавление реагента 4 и инкубация 18**

■ **5: Добавление реагента 5 и промывание микропланшетов 20**

■ **6: Добавление реагента 6, инкубация и измерение полученных результатов на микропланшетах 21**

**Интерпретация результатов 22**

**Контроль качества 23**

**Ограничения 23**

**Технические характеристики 24**

**Ссылки 30**

**Символы 33**

**Контактная информация 33**

**Приложение: Лист регистрации данных тестирования 34**

**Информация для заказа 35**

## Назначение

В наборе *CareHPV Test* используется технология гибридизации нуклеиновых кислот в условиях *in vitro*, анализ выполняется на микропланшетах с использованием для усиления сигнала метода хемилюминесценции для качественного определения в образцах тканей, взятых из шейки матки 14 типов ДНК ВПЧ с высокой степенью риска развития рака шейки матки. С помощью теста можно обнаружить следующие типы ВПЧ с высоким риском развития рака шейки матки: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 и 68.

Данный тест предназначен для использования в качестве первичного скринингового теста у женщин 30 лет и старше с целью обнаружения ВПЧ-инфекции с высокой вероятностью развития рака шейки матки, что является фактором риска для формирования цервикальной интраэпителиальной неоплазии с высокой степенью злокачественности (CIN 2/3+).

Этот тест предназначен «только для профессионального использования» и должен выполняться специально обученным, имеющим опыт, официально допущенным к работе в соответствии с юридическими нормами персоналом лаборатории. Перед использованием теста внимательно прочитайте эти инструкции по эксплуатации.

CareHPV Test не предназначен для скрининга у женщин в возрасте до 30 лет или беременных женщин. Кроме того, тест не используется и результаты его не оцениваются в следующих случаях:

- наличие патологических изменений, выявленных при предварительном цитологическом или гистологическом исследовании;
- состояние после гистерэктомии;
- период постменопаузы;
- у ВИЧ-позитивных женщин с дополнительными факторами риска;
- иммунодефицитные состояния;
- прием диэтилстильбэстрола;
- наличие заболеваний, передающихся половым путем.

## Краткое содержание и пояснения

Наличие определенных типов ВПЧ в женских половых путях связано с рядом заболеваний, в том числе с кондиломой, бовеноидным папулезом, цервикальной, вагинальной, вульварной интраэпителиальной неоплазией и раком [4, 5]. Идентифицировано более 100 типов ВПЧ с высоким или низким риском в зависимости от наличия или отсутствия связи с раком и предраком, высокоградной интраэпителиальной неоплазией (CIN 2/3+). Принято считать, что эти вирусы передаются преимущественно половым путем и что типы ВПЧ высокого риска являются основным признанным фактором риска для развития рака шейки матки [5-9]. Инфицирование шейки матки ВПЧ с высокой степенью риска может ассоциироваться с цитологическими и гистологическими изменениями, которые обнаруживаются с помощью цитологического скрининга, кольпоскопии или биопсии.

Вирусы папилломы человека состоят из икосаэдрической вирусной частицы (вириона), содержащей 8000 пар оснований двухцепочечной кольцевой молекулы ДНК, окруженной белками капсида. После инфицирования эпителиальных клеток вирусная ДНК распространяется по всей толщине эпителия, но

интактные вирионы можно найти только в верхних слоях ткани. Таким образом, вирусную ДНК, можно найти либо в вирионах или эписомальных или интегрированных последовательностях ВПЧ, в зависимости от типа и степени поражения.

Исторически сложилось так, что 16-й и 18-й типы ВПЧ были связаны с высокой степенью риска [5, 10, 11], тогда как 31-й, 33-й и 35-й типы ВПЧ связаны с промежуточной степенью риска [5, 12]. Промежуточная степень риска заключается в том, что эти типы ВПЧ чаще обнаруживаются при CIN 2/3 +, а не при раке. Таким образом, инвазивный раковый процесс, связанный с наличием этих видов встречается реже, чем рак, развитие которого связано с инфицированием 16-м и 18-м типами ВПЧ, относящимся к высокому риску развития рака [5, 13]. Эти 5 типов ВПЧ, объединенные вместе, составляют около 80 процентов случаев рака шейки матки [5, 14, 15].

Дополнительные типы ВПЧ с высокой и средней степенью риска, включают 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 и 68, которые были определены в качестве основных типов ВПЧ и обнаруживаются в остальных 20% случаев рака шейки матки [5, 15-21]. ВПЧ 66 был классифицирован как вероятный тип высокой степени риска [22] и был добавлен в набор *careHPV Test* для увеличения специфичности.

Абсолютный риск развития инцидентной цитологической атипии после инфицирования типами ВПЧ, определенными при помощи набора *careHPV Test*, не были должным образом описаны и, как известно, отличается в разных популяциях [9].

Хотя в современной научной литературе высказываются предположения, что хроническая инфекция ВПЧ с высокой степенью вероятности развития рака является основным фактором риска для развития цервикальной неоплазии с высокой степенью злокачественности и рака шейки матки [5, 7, 8, 11, 23-29], очевидно, что может иметь место непрерывное инфицирование одним типом ВПЧ, несколькими типами ВПЧ или повторное заражение. Тем не менее, женщины, у которых после неоднократного цитологического исследования цервикальных соскобов с окраской по Папаниколау не было выявлено атипичных клеток и не было обнаружено типов ВПЧ с высоким риском развития рака, по-видимому, относятся к группе с низким риском наличия или развития предраковой патологии шейки матки [8, 23, 30, 31].

### **Принцип процедуры**

В наборе *CareHPV Test* используется та же технология гибридизации нуклеиновых кислот (Hybrid Capture<sup>®</sup> 2), что была разработана для набора *HC2 Test (QIAGEN's digene<sup>®</sup> HC2 High-Risk HPV DNA Test<sup>®</sup>)*. *CareHPV Test* позволяет выполнять анализ гибридизации нуклеиновых кислот с усилением сигнала, использованием микропланшета и хемилюминесцентной детекцией. Если в образце материала, взятого из шейки матки, содержится ДНК тех типов ВПЧ, которые обладают высокой степенью риска развития предрака и рака шейки матки, ДНК ВПЧ гибридизуется с комплементарной РНК из смеси зонда. На магнитно-твердой подложке микрочастиц прикрепляются анти-ДНК:РНК гибридные антитела, которые фиксируют ДНК:РНК гибриды, что позволяет разделить и удалить несвязанный неспецифический материал. Далее добавляются соединенные со щелочной фосфатазой анти-гибридные антитела для связывания и обнаружения захваченных гибридов. При последующем промывании удаляются несвязанные конъюгаты щелочной фосфатазы, в результате чего остаются комплексы щелочной фосфатазы, которые связаны с пропорциональным количеством гибридной ДНК ВПЧ. Наконец, добавляется хемилюминесцентный субстрат, который гидролизует связанной щелочной фосфатазой с выделением в результате реакции фотонов света в прямой зависимости от количества щелочной фосфатазы, что коррелирует с количеством гибридизованной на данный момент времени ДНК ВПЧ.

Сигнал от гидролизованного субстрата измеряется и результат отображается в относительных световых единицах (ОСУ), подсчитанных с помощью фотометра. Значение ОСУ, равное или большее, чем уровень отсечки (УО) означает, что образец содержит достаточное количество ДНК высокого риска ВПЧ, что следует рассматривать как клинически положительный случай. Значение ОСУ ниже уровня отсечки означает, что

образец содержит недостаточное количество или вообще не содержит ДНК ВПЧ высокого риска и считается клинически отрицательным случаем.

## Предоставленные материалы

### Состав набора реагентов

Тестовый набор <i>careHPV</i>			(96)	(24)
Каталожный номер			614015	614013
Кол-во тестов			96	24
	Аналитический микропланшет	PLATE	1	1
ОК	Отрицательный калибратор	CAL -	0.5 мл	0.5 мл
ПК	Положительный калибратор	CAL +	0.5 мл	0.5 мл
	Реагент 1 (пурпурная этикетка)	REAG 1	3 мл	3 мл
	Индикаторный краситель	INDIC	0.35 мл	0.35 мл
	Стабилизированные биопрепараты (4):			
	Реагент 2 (желтая этикетка)	REAG 2	1	1
	Реагент 3 (коричневая этикетка)	REAG 3	1	1
	Реагент 4 (красная этикетка)	REAG 4	1	1
	Реагент 6 (зеленая этикетка)	REAG 6	1	1
	Растворители для восстановления препаратов (4):			
	Растворитель для реагента 2 (желтая этикетка)	REAG 2 DIL	4.5 мл	2.0 мл
	Растворитель для реагента 3 (коричневая этикетка)	REAG 3 DIL	3 мл	3 мл
	Растворитель для реагента 4 (красная этикетка)	REAG 4 DIL	5 мл	5 мл
	Растворитель для реагента 6 (зеленая этикетка)	REAG 6 DIL	5 мл	5 мл
	Реагент 5 (синяя этикетка)	REAG 5	250 мл	250 мл
	Наконечник для реагента 5	REAG 5 NOZZLE		
	Справочник	HB		

### Необходимые материалы, не включенные в набор

При работе с химическими веществами, всегда следует носить соответствующую лабораторную спецодежду (халат), одноразовые перчатки и защитные очки. Для получения более подробной информации обратитесь к соответствующим материалам Паспорта безопасности (MSDS), предоставляемого поставщиком изделия.

#### ■ Тестовая система *careHPV* (каталожный номер 9001772), в том числе:

- Контроллер тестовой системы *careHPV*
- Фотометр тестовой системы *careHPV*
- Шейкер тестовой системы *careHPV*
- Держатель магнитной пластины тестовой системы *careHPV*
- Пластиковые пробирки для образцов ткани с закручивающимися крышечками в штативе из пенопласта
- Дозаторная пипетка с фиксированным объемом\*
- Дозаторная пипетка с переменным объемом\*
- Наконечники для дозаторной пипетки с переменным объемом
  - Наконечник объемом 1,25 мл
  - Наконечник объемом 1,0 мл

- Одноразовые экстра-длинные наконечники для дозаторных пипеток объемом 200 микролитров с аэрозольным барьерным фильтром
- Пластинчатые уплотнители
- Перчатки без талька
- Бумажные полотенца

\* Убедитесь, что инструменты были проверены и откалиброваны в соответствии с рекомендациями завода-изготовителя.

## Предупреждения и меры предосторожности

### Предупреждения

Для диагностики в условиях *in vitro*

При работе с химическими веществами всегда носите подходящий медицинский халат, одноразовые перчатки и защитные очки. Для получения более подробной информации, пожалуйста, обратитесь к соответствующим материалам Паспорта безопасности (MSDS). Они доступны онлайн в удобном и компактном формате PDF на [www.qiagen.com/support/MSDS.aspx](http://www.qiagen.com/support/MSDS.aspx), где вы можете найти, просмотреть и распечатать паспорт безопасности для каждого набора QIAGEN и компонентов из наборов.

Обращайтесь со всеми образцами ткани как с потенциально инфицированным материалом, который может распространять инфекционные агенты. Клинические образцы должны быть обеззаражены в соответствии со 2 уровнем биологической безопасности (УББ), что рекомендуется для любого потенциально инфицированного образца сыворотки или крови человека [1, 2].

Очистите и продезинфицируйте все места разливов образцов с использованием подходящего дезинфицирующего средства в соответствии с национальными и местными санитарными нормами и правилами. Также обратитесь к правилам дезинфекции и стерилизации в соответствии с главой руководства по биологической безопасности лабораторий Всемирной организации здравоохранения [3].

Деконтаминация и утилизации всех образцов, реагентов и других потенциально зараженных материалов проводится в соответствии с национальными и местными санитарными правилами и нормами.

Приведенные ниже коды по рискам и безопасности компонентов распространяются на все позиции комплекта *careHPV Test* в любой (высушенной или восстановленной) форме.

### Отчетность по степени риска и безопасности стабилизированных биопрепаратов

#### Реагент 3, стабилизированный биологический.



Содержит азид натрия: опасен для здоровья. Коды риска и безопасности: \* R22-52 / 53, S26-36 / 37 / 39-45.

\* R22: Вреден при проглатывании. R52 / 53: Вреден для водных организмов; может вызывать долгосрочные неблагоприятные изменения в водной среде. S26: В случае попадания в глаза, немедленно промойте их большим количеством воды и обратитесь к врачу. S36 / 37/39: Носить соответствующую защитную одежду, перчатки и защиту для глаз/лица. S45: При несчастном случае или если вы почувствовали недомогание, немедленно обратитесь к врачу (покажите этикетку на реагенте, если это возможно).



#### Реагент 4, стабилизированный биологический



Содержит азид натрия: опасен для здоровья. Коды риска и безопасности: R22, S26-36 / 37 / 39-45.

#### Отчетность по степени риска и безопасности восстановленных реагентов (растворов)

##### Негативный калибратор



Содержит дезоксихолат натрия: опасен для здоровья. Коды риска и безопасности: \* R22, S13-26-36 / 37 / 39-45.

##### Позитивный калибратор



Содержит дезоксихолат натрия: опасен для здоровья. Коды риска и безопасности: \* R22, S13-26-36 / 37 / 39-45.

#### Реагент 1



Содержит гидроксид натрия: едкое вещество. Коды риска и безопасности: \* R35, S26-36 / 37 / 39-45.

#### Растворитель для реагента 2



Содержит гидроксид натрия, BEC: едкое вещество. Коды риска и безопасности: \* R34, S26-36/37/39-45.

\* R22: Вреден при проглатывании. R34: Вызывает ожоги. R35: Вызывает сильные ожоги. S13: Хранить вдали от продуктов питания, напитков и кормов для животных. S26: В случае попадания в глаза, немедленно промыть их большим количеством воды и обратиться к врачу. S36 / 37/39: Носить соответствующую защитную одежду, перчатки и защиту для глаз/лица. S45: При несчастном случае или если вы почувствовали недомогание, немедленно обратитесь к врачу (покажите этикетку на реагенте, если это возможно).

## **24-часовое информирование при возникновении чрезвычайных ситуаций.**

Неотложная медицинская информация на английском, французском и немецком языках может быть получена 24 часа в сутки в информационном центре по ядовитым веществам Майнц, Германия.

Телефон: + 49-6131-19240

### **Меры предосторожности**

- Компоненты этого набора были протестированы как единое целое и не должны использоваться и заменяться на компоненты из других источников или из разных наборов.
- Нуклеиновые кислоты очень чувствительны к нуклеазам окружающей среды и подвергаются деградации. Нуклеазы присутствуют на коже человека, на поверхностях или материалах, которых касались руки человека. Рабочие поверхности должны быть чистыми и покрыты одноразовыми прокладками; при выполнении всех этапов тестирования лаборанты должны носить перчатки без талька.
- Необходимо предотвращать загрязнение аналитического микропланшета и реагента б (маркированного зеленым цветом) экзогенной щелочной фосфатазой. Вещества, которые могут содержать щелочную фосфатазу включают реагент 4 (маркированный красным цветом), бактерии, слюну, волосы и жир с поверхности кожи. Особенно важно соблюдать меры предосторожности при нанесении на планшет реагента 5 и во время последующей инкубации реагента б потому, что экзогенная щелочная фосфатаза может вступать в реакцию с реагентом б, что приводит к появлению ложноположительных результатов.
- Реагенты 1, 2, 3, 4 и б должны быть приготовлены до начала испытания и использоваться в течение 8 часов после их приготовления. Невыполнение этого требования может привести к неправильным результатам анализа. Если анализ является недействительным, тест необходимо повторить с использованием нового набора реагентов.
- Указанные объемы реагентов должны быть точно отмерены. Невыполнение этого требования может привести к ошибочным результатам тестирования. Если происходят предусмотренные изменения цвета, это поможет подтвердить, что необходимые объемы были точно отмерены.
- При использовании дозаторной пипетки переменного объема пользователь должен сначала отмерить несколько раз в резервуар для отходов необходимый объем для промывки наконечника пипетки от пузырьков воздуха и обеспечить подачу точного объема жидкости.
- Лист для записи данных тестирования (смотрите «Приложение: Лист для записи данных тестирования», стр. 34) указывает необходимые позиции микропланшета для отрицательного калибратора (ОК) (лунки А1, В1, С1), положительного калибратора (ПК) (лунки микропланшета D1, E1, F1), и клинических образцов (лунки G1 и все последующие лунки микропланшета).
- При выполнении теста *careHPV* пользователь должен обратиться к руководству по тестовой системе *careHPV* для изучения инструкций по использованию приборов и устранения неисправностей.

## **Хранение реагентов и их использование**

После получения храните комплект *careHPV Test* при температуре 4 °С – 25 °С. Не используйте комплект *careHPV* по истечении срока годности, указанного на этикетке набора.

Свежеприготовленные реагенты хранить при температуре 15 °С – 30 °С в течение не более 8 часов. Необходимо отказаться от использования набора и не применять все приготовленные реагенты, если комплект не был использован для тестирования в течение 8 часов с момента приготовления реагентов.

## **Правила хранения и обращения с полученными образцами тканей шейки матки**

Используйте только образцы шейки матки, которые были собраны и помещены в специальную среду для хранения биологических материалов *careHPV*.

Храните клинические образцы в специальной среде для хранения биологических материалов *careHPV Collection Medium* при температуре 15 °С – 30 °С в течение 14 дней или при температуре 2 °С – 8 °С в течение 30 дней.

## **Процедура**

### **Приготовление образцов**

**1. Запишите следующую информацию в листе для записи данных тестирования (смотрите «Приложение: лист для записи данных тестирования», страница 34): место тестирования, дату тестирования, идентификатор оператора, комнатную температуру, номер лота набора для тестирования *careHPV* и идентификационный номер микропланшета.**

**2. Поместите пробирки с клиническими образцами в пенопластовый штатив. На листе для записи данных тестирования заполните карту планшета, зарегистрируйте ячейки в соответствующих местах микропланшета и идентификационные номера всех образцов, подлежащих заполнению с помощью дозаторной пипетки (ячейка G1 и все последующие ячейки микропланшета).**

**3. Убедитесь, что крышечки пробирок с клиническими образцами плотно закрыты.**

**4. Смешайте все клинические образцы из шейки матки следующим образом.**

**Переверните пенопластовый штатив с закрепленными в нем закрытыми пробирками с клиническими образцами из шейки матки на 180 градусов и быстро и сильно потрясите.**

**Быстро верните пенопластовый штатив с закрепленными в нем закрытыми пробирками с клиническими образцами из шейки матки в исходное вертикальное положение и быстро и сильно потрясите.**

**Повторите этот способ перемешивания непрерывно в течение 5 минут.**

## Приготовление реагентов

Восстановите до рабочих растворов реагенты *careHPV* следующим образом:

**1. Добавьте 1 каплю индикаторного красителя к реагенту 1-го флакона (фиолетовая маркировка). Замените крышку флакона 1-го реагента, 10 раз переверните и тщательно ресуспендируйте реагент.**

**i** Цвет раствора реагента изменяется от прозрачного до фиолетового.

**2. Добавьте содержимое флакона с растворителем реагента 2 (желтая маркировка) во флакон с реагентом 2 (желтая маркировка). Замените крышку флакона с реагентом 2 и 10 раз переверните и тщательно ресуспендируйте реагент.**

**3. Добавьте содержимое флакона с растворителем реагента 3 (коричневая маркировка) во флакон с реагентом 3 (коричневая маркировка). Замените крышку флакона с реагентом 3 и 10 раз переверните и тщательно ресуспендируйте реагент.**

**4. Добавьте содержимое флакона с растворителем реагента 4 (красная маркировка) во флакон с реагентом 4 (красная маркировка). Замените крышку флакона с реагентом 4 и 10 раз переверните и тщательно ресуспендируйте реагент.**

**5. Добавьте содержимое флакона с растворителем реагента 6 (зеленая маркировка) во флакон с реагентом 6 (зеленая маркировка). Замените крышку флакона с реагентом 6 и 10 раз переверните и тщательно ресуспендируйте реагент.**

**i** Используйте готовые реагенты в течение 8 часов с момента приготовления. Невыполнение этого требования может привести к ложным и недействительным результатам анализа.

## Протокол 1: подготовка микропланшетов и 30-минутная инкубация

### Подготовительные работы:

- Очистите рабочую поверхность и накройте ее одноразовыми мягкими прокладками, при выполнении всех этапов испытаний пользуйтесь перчатками без талька.
- Заполните лист для записи данных тестирования (смотрите «Приложение: Лист для записи данных тестирования», стр. 34) путем записи в соответствующих местах микропланшета идентификационных номеров для всех калибраторов, где необходимо выполнять необходимые процедуры при помощи дозаторной пипетки; необходимо соблюдать правильное размещение негативного калибратора (НК) (ячейки A1, B1, C1) и позитивного калибратора (ПК) (ячейки D1, E1, F1).
- Подтвердите место проведения тестирования, дату тестирования, идентификатор оператора, температуру помещения, где проводится исследование, номер лота заводской партии тестового набора *careHPV*, идентификационный номер микропланшета, расположение на микропланшете и идентификационный номер всех клинических образцов, подлежащих забору в пипетированию с помощью дозатора и зарегистрируйте, как описано в разделе «Подготовка образцов», стр. 12.

**1. С помощью дозаторной пипетки переменного объема и используя новый одноразовый наконечник объемом 1,25 мл, добавьте 25 мкл реагента 1 (фиолетовая маркировка) в каждую ячейку микропланшета.**

**2. С помощью дозаторной пипетки с фиксированным объемом и используя новый, чистый одноразовый наконечник пипетки для каждого калибратора или образца добавьте указанные объемы в соответствующие лунки.**

**Добавьте 50 мкл содержимого флакона с негативным калибратором (НК) в микропланшет в лунки A1, B1 и C1.**

**Добавьте 50 мкл содержимого флакона с позитивным калибратором (ПК) в лунки D1, E1, и F1.**

**Добавьте 50 мкл каждого образца на дно остальных лунок, начиная с лунки микропланшета G1. Отметьте в листе для записи данных тестирования любые образцы, которые приобретают темный цвет.**

ⓘ Ложноположительные результаты испытаний могут наблюдаться из-за загрязнения теста *careHPV* неспецифическим РНК/ДНК гибридами из эндогенных клинических образцов шейки матки. Важно учитывать, что во время переноса материала клинического образца в лунки микропланшета образец должен быть нанесен непосредственно на дно лунки микропланшета, при этом наконечник пипетки не должен касаться стенок лунки микропланшета.

ⓘ Образцы, содержащие кровь или другие биологические материалы, окрашиваются в темный цвет; это не влияет на результаты теста, но не может дать правильное стандартное изменение цвета при добавлении реагента 2 согласно протоколу исследования.

**3. Нанесите новый слой защитного покрытия для микропланшетов и надежно закройте микропланшет.**

**4. Поместите микропланшет в шейкер *careHPV* и закройте крышку.**

**5. Нажмите кнопку "1" на контроллере *careHPV*, чтобы начать 30-минутную инкубацию.**

**6. Перейдите к разделу "Протокол 2: добавление реагента 2 и 15-минутная инкубация," на стр. 16.**

## **Протокол 2: добавление реагента 2 и 15-минутная инкубация.**

- 1. После получения соответствующего уведомления контроллера *careHPV* удалите микропланшет из шейкера и поместите микропланшет лунками вверх. Осторожно удалите защитный слой с микропланшета, чтобы предотвратить разбрызгивание и перекрестное загрязнение между отдельными ячейками; выбросьте защитный слой.**
- 2. Быстро вставьте микропланшет обратно в шейкер системы *careHPV*. Перемешайте реагент 2 (желтая маркировка) во флаконе для равномерного смешивания и с помощью пипеточного дозатора переменного объема, используя новый одноразовый наконечник объемом 1,0 мкл, добавьте 40 мкл реагента 2 в каждую лунку микропланшета.**
- 3. Нанесите новый защитный слой на микропланшет и надежно накройте его поверхность. Закройте крышку *careHPV* шейкера.**
- 4. Нажмите кнопку "2" на тест- контроллере *careHPV Test*, чтобы начать 15-минутную инкубацию.**
- 5. Перейдите к разделу "Протокол 3: Добавление реагента 3 и 30-минутная инкубация," на стр. 17.**

### **Протокол 3: Добавление реагента 3 и 30-минутная инкубация**

**1. При включении контроллера *careHPV* удалите микропланшет из шейкера *careHPV* и поместите микропланшет лунками кверху. Оставьте крышку шейкера *careHPV* открытой.**

**2. Убедитесь, что цвет каждой лунки микропланшета изменился от фиолетового до желтого. Тщательно зафиксируйте в листе для записи данных тестирования каждую лунку, в которой не изменился цвет.**

**i** Клинические образцы из шейки матки, содержащие кровь или другие биологические материалы, не могут дать в процессе исследования правильное стандартное изменение цвета; эти образцы должны быть зарегистрированы в листе для записи данных тестирования в протоколе 1 как имеющие темный цвет. Этот темный цвет не влияет на результаты исследования и пользователь должен приступить к тестированию этих образцов.

Любые лунки, которые не были отмечены как имеющие темный цвет, но которые не пожелтели в результате проведенной реакции, будут относиться к неправильным результатам и должны быть исключены из интерпретации. Повторите тестирование для этих образцов. Пожалуйста, обратите внимание на образцы, которые будут повторно тестироваться и зарегистрируйте их в листе для записи данных тестирования.

**3. Осторожно снимите и выбросьте защитный слой с микропланшетов.**

**4. Быстро вставьте планшет обратно в шейкер *careHPV*. Перемешайте флакон с реагентом 3 (коричневая маркировка) для равномерного смешивания и, используя дозаторную пипетку с переменным объемом, добавьте 20 мкл реагента 3 в каждую лунку микропланшета.**

**5. Нанесите новую защитную пленку на микропланшет и надежно закройте поверхность микропланшета. Закройте крышку шейкера *careHPV*.**

**6. Нажмите кнопку "3" на тест-контроллере *careHPV* и начните 30-минутную инкубацию.**

**7. После включения тест-контроллера *careHPV* удалите планшет из шейкера *careHPV* и тщательно закрепите планшет на магнитной пластине держателя *careHPV*. Удерживайте планшет горизонтально и устойчиво, чтобы избежать разбрызгивания содержимого лунок. Оставьте крышку *careHPV Test* шейкера открытой.**

**8. Поместите магнитную пластину фиксатора *careHPV Test*, с микропланшетом лунками кверху. Осторожно снимите и выбросьте поверхностную защитную пленку с микропланшета.**

**9. Нажмите кнопку "3" на тест- контроллере *careHPV Test* и начните 3-минутную инкубацию.**

**i** Эта инкубация происходит на рабочей поверхности столика лунками кверху.

**10. Перейдите к разделу «Протокол 4: добавление реагента 4 и инкубация» на стр. 18.**

## Протокол 4: добавление реагента 4 и инкубация

**i** Перед началом этой процедуры убедитесь, что 3-минутная инкубация согласно протоколу 3 полностью завершена.

**1. Слейте содержимое и промокните микропланшет следующим образом.**

**Плотно удерживайте основание магнитного держателя пластины *careHPV Test* и боковые поверхности микропланшета в одной руке (микропланшет обращен рабочей поверхностью кверху).**

**Переверните магнитный держатель пластины *careHPV* основанием кверху (на 180 градусов) по ходу направления коллектора отходов и с усилием однократно слейте жидкость с микропланшета.**

**Удерживая магнитную пластину держателя *careHPV*, в этом перевернутом положении (микропланшетом книзу), поместите его на чистое промокательное бумажное одноразовое полотенце и промокните планшет.**

**Возвратите магнитную пластину держателя *careHPV* в исходное положение лунками кверху.**

**2. Перемешайте флакон с реагентом 4 (красная маркировка) для равномерного смешивания. Используя дозаторную пипетку переменного объема и новый одноразовый наконечник объемом 1,0 мл, добавьте 40 мкл к каждой лунке микропланшета.**

**i** Микропланшет остается на магнитной пластине держателя *careHPV Test*.

**3. Нанесите новую защитную пленку на микропланшет и надежно закройте поверхность микропланшета. Осторожно снимите планшет с магнитной пластины держателя *careHPV Test* и поместите микропланшет лунками кверху.**

**4. Нажмите кнопку "4" на тест-контроллере *careHPV Test*, чтобы запустить таймер настольной инкубации.**

**i** Этот инкубационный период начинается в микропланшете, расположенном лунками кверху, при этом *careHPV* шейкер остывает. Остальная часть инкубации выполняется после помещения микропланшета в шейкер *careHPV*.

**5. При появлении соответствующего уведомления контроллера поместите планшет в шейкер *careHPV* и закройте крышку до конца инкубации.**

**6. При появлении соответствующего уведомления контроллера *careHPV* удалите планшет из шейкера *careHPV* и закрепите планшет на магнитной пластине держателя *careHPV*.**

**7. Осторожно снимите и выбросьте защитную пленку с микропланшета.**

**8. Нажмите кнопку "4" на контроллере *careHPV* теста, чтобы запустить процесс 3-минутной инкубации.**

**i** Процесс инкубации происходит на рабочей поверхности на стенде лунками кверху.

**9. При появлении соответствующего уведомления контроллера *careHPV* вылейте его содержимое и промокните планшет, как было ранее указано в инструкции (см пункт 1 настоящего протокола).**

**10. Перейдите к разделу «Протокол 5: добавление реагента 5 и промывание микропланшета», начиная со страницы 20.**



## **Протокол 5: добавление реагента 5 и промывание микропланшета**

**1. При появлении запроса на тест- контроллере *careHPV Test*, добавьте промывочный буфер в каждую лунку микропланшета и хорошо промойте планшет.**

ⓘ Чтобы избежать возникновения пузырьков воздуха и перекрестного загрязнения лунок во время промывания планшета, перелейте реагент 5 (синяя маркировка) с пузырьками в резервуар с отходами, а затем перейдите непосредственно к заполнению микропланшета без остановки струей промывочного буфера.

**Аккуратно заполните каждую лунку микропланшета реагентом 5 (синяя маркировка).**

**Нажмите кнопку "5" на тест-контроллере *careHPV*, чтобы запустить 3-минутную инкубацию.**


**По окончании периода инкубации, перелейте содержимое и промокните планшет, как ранее указано в инструкции (см. протокол 4, шаг 1, стр. 18).**

**2. Тест-контроллер *careHPV Test* еще 4 раза выдаст соответствующее напоминание. Каждый раз, когда тест контроллер *careHPV Test* выдает напоминание, повторите этап промывания (шаг 1 настоящего протокола) - в общей сложности, необходимо выполнить 5 промывок в промывочном буфере.**

**3. Оставьте микропланшет в магнитной пластине держателя *careHPV*.**

**4. Перейдите к разделу «Протокол 6: Добавление реагента 6, инкубация и измерение результатов на микропланшете», начиная со страницы 21.**

## **Протокол 6: Добавление реагента 6, инкубация и измерение результатов на микропланшете**

- 1. При появлении соответствующего напоминания тест-контроллера *careHPV* перемешайте флакон с реагентом 6 (зеленая маркировка) для равномерного смешивания и с помощью дозаторной пипетки переменного объема добавьте 40 мкл в каждую лунку микропланшета.**
  - 2. Нанесите новую защитную пленку на микропланшет и надежно закройте поверхность микропланшета. Осторожно снимите планшет с держателя магнитной пластины *careHPV*; разместите закрытый пленкой микропланшет на шейкере *careHPV* и закройте крышку.**
  - 3. Нажмите кнопку "6" на тест -контроллере *careHPV*, чтобы запустить 15-минутную инкубацию.**
  - 4. При появлении соответствующего напоминания тест-контроллера *careHPV* (спустя 2 минуты), снимите планшет с шейкера *careHPV*. Осторожно снимите и выбросьте защитную пленку с микропланшета.**
  - 5. Поместите микропланшет в фотометр *careHPV* и закройте крышку.**
-  В конце инкубации фотометр *careHPV* будет инициировать процесс измерения результатов на микропланшете. Продолжительность измерения результатов на микропланшете составляет примерно 3 минуты.
- 6. Перейдите к разделу «Интерпретация результатов», стр. 22.**

## Интерпретация результатов

Результаты исследования образцов интерпретируются автоматически тестовой системой *careHPV*. Образцы с соотношением ОСУ/УО (RLU/CO) >1,0 считаются положительными, тогда как образцы с ОСУ/УО (RLU/CO) <1,0 считаются отрицательными или не идентифицированными. Результаты отображаются графически на экране тест-контроллера *careHPV*.

Когда тест-контроллер *careHPV* отображает карту микропластины с результатами испытаний, запишите результат, показанный для каждой лунки микропланшета на лист для записи данных тестирования (смотрите «Приложение: лист для записи данных тестирования», стр. 34).

Результаты испытаний отображаются следующим образом (см. рисунок 1 ниже):

■ **Зеленые лунки** указывают на образцы с отрицательными результатами теста (то есть, ДНК ВПЧ с высокой степенью риска не обнаружен).

❗ **Зеленые лунки** указывают как на негативные, так и на позитивные калибраторы.

■ **Жёлтые лунки** (обозначенные знаком «+») указывают на образцы с положительным результатом теста (то есть, обнаружена ДНК ВПЧ с высоким риском).

■ **Серые лунки** с большим красным кружком с косой чертой на середине пластинки указывают на неверный результат анализа (например, из-за неправильных калибраторов).

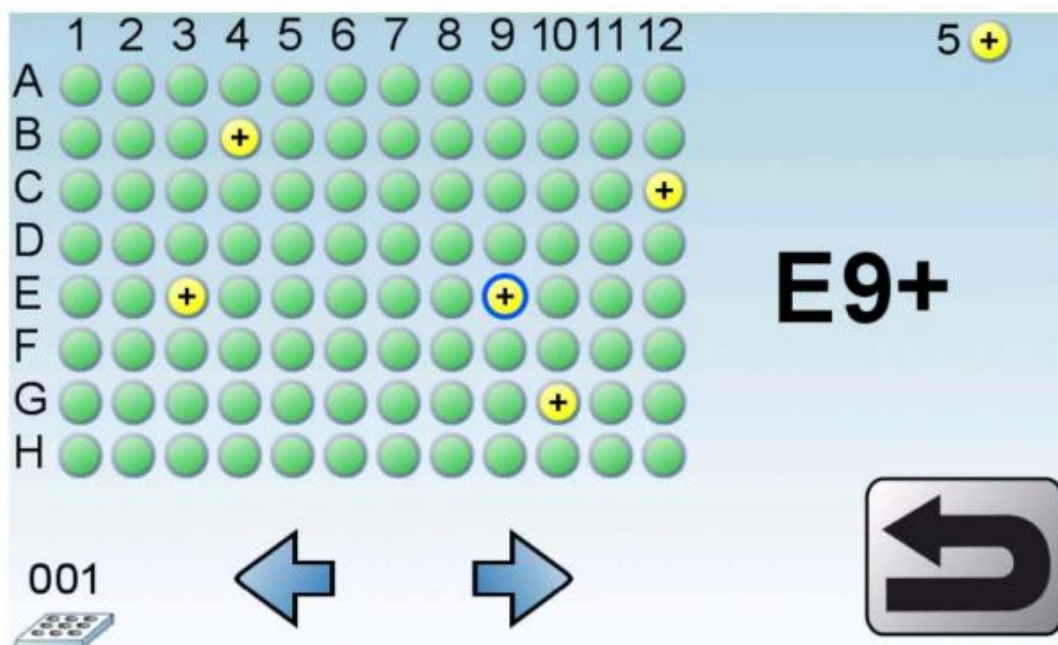


Рисунок 1. Результаты реакции образцов отображаются на тест-контроллере *careHPV*.

## Контроль качества

В соответствии с ISO-сертифицированной системой контроля качества QIAGEN, каждый лот-партия наборов *careHPV* проверяется на основании заранее определенных спецификаций для обеспечения высокого качества продукции.

Тест-контроллер *careHPV* выполняет верификацию процесса калибровки, чтобы убедиться, что реагенты и материалы, помещенные в калибратор, функционируют должным образом, и это позволяет точно определить результат теста. Анализ верификации калибровки состоит из следующих действий:

- При выполнении каждого теста отрицательный калибратор (ОК) проверяется трижды. Значения отрицательного калибратора (ЗОК) должны быть  $>10$  и  $<750$  относительных световых единиц (ОСУ), а полученный коэффициент вариации (КВ) должен быть  $<25\%$  для того, чтобы результат анализа считался действительным.
- Положительный калибратор (ПК) также проверяется трижды при выполнении каждого теста. Полученный коэффициент вариации должен быть  $<25\%$  для того, чтобы результат анализа считался действительным.

Среднее значение результата положительного калибратора (ПКХ) и отрицательного калибратора ОКХ используются для расчета соотношения ПКХ/ОКХ. Соотношение должно быть  $>2,0$  и  $<15,0$  для того, чтобы результат анализа считался действительным. Тест-система *careHPV* может выполнить расчет более 3-х стандартов контроля качества; если вышеуказанные нормы соблюдаются, то результаты испытаний действительны и тест-контроллер *careHPV* правильно отображает карту микропланшета с полученными результатами испытаний. Приведенные значения допустимых уровней были установлены только для тестовой системы *careHPV Test*.

## Ограничения

- Обратитесь к руководству пользователя по эксплуатации тестовой системы *careHPV*, чтобы ознакомиться с дополнительными ограничениями, характерными для использования этой системы.
- Детекция ВПЧ с помощью системы тестирования *careHPV* не позволяет различать типы ВПЧ -инфекции с более чем одним типом и не может оценить персистенность любого типа.
- Обнаружение инфицированности ВПЧ не является показателем патологических цитологических изменений или лежащего в основе CIN 2/3+, а также не означает, что будет развиваться CIN 2/3+ или рак шейки матки. У большинства женщин, инфицированных одним или более типов ВПЧ высокой степени риска, не развивается ни CIN 2/3+, ни рак шейки матки.
- *careHPV Test* не выявляет типы ВПЧ с низким уровнем риска (6, 11, 42, 43, 44 и многие другие типы с низким уровнем риска).
- В небольшом количестве случаев, по данным *careHPV*, имеет место перекрестная гибридизация между типами ВПЧ 6 и 42 (с низкой степенью риска). Образцы с высоким уровнем (2 нг/мл или выше) ДНК ВПЧ 6 или ВПЧ 42 могут быть положительными.
- Как сообщалось в литературе, сложная смесь зондов, аналогичная той, который используется в данном тесте, может привести к ложноположительным результатам из-за перекрестной гибридизации с типами ВПЧ 11, 53, 54, 55, 66, ММ4, ММ7, ММ8 или ММ9 [33]. Хотя некоторые из этих типов ВПЧ являются редкими или новые типы не часто сочетаются с высокогредной интраэпителиальной гиперплазией, образцы, содержащие высокие уровни этих типов ДНК ВПЧ, ошибочно могут быть представлены как положительные по результатам тестирования в системе *careHPV* [13, 32].

■ Возможна перекрестная реактивность между *careHPV* тестом и плазмидом pBR322. В литературе сообщалось о наличии гомологичных последовательностей pBR322 в образцах тканей половых органов человека и ложноположительные результаты могут возникать в присутствии высоких уровней бактериальных плазмид.

■ Отрицательный результат теста не исключает возможность наличия инфицирования ВПЧ. ВПЧ-инфекция может существовать ниже предела обнаружения теста, также могут присутствовать ошибки во время забора образцов, что может привести к появлению ложноотрицательных результатов теста.

■ Отрицательный результат теста на наличие ВПЧ высокого риска не исключает возможности развития в будущем цитологической патологии и атипии, а также наличия исходной CIN 2/3+ или рака шейки матки. Небольшая часть высокогредной CIN встречается у женщин, у которых результат теста на наличие ВПЧ высокого риска негативный вследствие недостаточного совершенства существующих технологий [9].

■ Если на шейке матки во время взятия образца для тестирования на ВПЧ присутствовал противогрибковый крем, то существует вероятность получения ложноположительного результата.

■ Если во время взятия для тестирования на ВПЧ образца шейки матки в крови пациентки присутствуют высокие концентрации противозачаточных гелей или контрацептивов, вводимых путем спринцевания, есть вероятность получения ложноотрицательного результата, если данный образец содержит концентрацию ДНК ВПЧ, близкую к нижнему пороговому уровню отсечки (УО).

### **Эксплуатационные характеристики**

#### **Клиническая эффективность использования теста *careHPV* при скрининге рака шейки матки и предраковых состояний.**

Многоцентровое клиническое исследование с использованием теста *careHPV* было проведено в Институте рака и клинике Китайской академии медицинских наук (CICAMS), онкологическом центре университета имени Сунь Ят-Сена и госпитале Нанджинг Драм Тауэр в Нанкине (Китай). Образцы шейки матки женщин в возрасте 30-59 лет из числа общей популяции женщин, подлежащих скринингу и амбулаторных пациенток из клиник, занимающихся лечением патологии шейки матки, были собраны с помощью щеточки *careBrush* и помещены в специальную коллекционную среду для хранения биологических материалов *careHPV*. Всего в это исследование было включено 1279 женщин, в количественном отношении относительно равномерно распределенных по всем 3-м больницам; из них 1241 женщины завершили участие в исследовании. В трех местах исследования были собраны образцы от 147 пациенток с диагнозом рака шейки матки или предраковых поражений (CIN 2/3 +), 162 больных с доброкачественными неоплазиями (воспаление / CIN 1) и 932 случаев нормального контроля.

При визуальном осмотре шейки матки для выявления патологических очагов применяли метод окрашивания уксусной кислотой (VIA). В каждой клинике проводили цитологическое исследование образцов, хранившихся в специальных растворах, а результаты регистрировали в соответствии с классификацией Bethesda. Образцы шейки матки каждой пациентки исследовали при помощи *CareHPV Test*, HC2 теста и методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Все исследования с использованием теста *careHPV* проводились при комнатной температуре (15-30 °C). Результаты испытаний были сопоставлены со статусом патологии шейки матки каждой пациентки. Статус заболевания определялся на основании результатов гистологического исследования. Женщины с положительным результатом HC2 теста или окрашивания уксусной кислотой направлялись на кольпоскопию и у них была взята биопсия. Результаты испытаний были сопоставлены со статусом заболевания, для оценки клинической чувствительности, клинической специфичности теста *careHPV*, а также определения положительной и отрицательной прогностической значимости для выявленной высокогредной неоплазии шейки матки (таблица 1, ниже).

**Таблица 1. Эксплуатационные характеристики теста *careHPV* при общепопуляционном скрининге.**

Тест <i>careHPV</i>	Патогистологический диагноз		Всего
	Положительный результат (CIN 2/3 +)	Отрицательный результат (<CIN 2)	
Положительный результат:	129	160	289
Отрицательный результат:	18	934	952
<b>Всего</b>	<b>147</b>	<b>1094</b>	<b>1241</b>

**Где:**

- Чувствительность [истинно-положительные результаты / (истинно-положительные результаты + ложноотрицательные результаты)] = 87,76% (129/147); 95% ДИ = 81.69-92.34%
- Специфичность [истинно-отрицательные результаты / (истинно-отрицательные результаты + ложноположительные результаты)] = 85,37% (934/1094); 95% ДИ = 83.19-87.38%
- Положительная прогностическая значимость = 44,64% (129/289)
- Отрицательная прогностическая значимость = 98.11% (934/952)

Распространенность ВПЧ-инфекции среди населения может повлиять на положительную прогностическую значимость, значения положительной прогностической значимости уменьшаются при тестировании в популяциях с низкой распространенностью ВПЧ-инфекции или у лиц без риска инфекции.

Доля позитивных результатов теста *careHPV* и теста HC2 составила 23,29% (289/1241) и 25,06% (311/1241), соответственно. Тест HC2 и *careHPV* выявляют одни и те же 13 типов ВПЧ, но тест *careHPV* дополнительно обнаруживает ДНК ВПЧ 66-го типа. Эта разница не будет, как ожидается, приводить к значительным отличиям профилей производительности для 2-х тестовых систем. Одинаковые результаты при одновременном использовании тестов *careHPV* и HC2 составили 93,71%, как показано в таблице 2 ниже.

\* Дополнительные клинические данные в отношении теста *careHPV*, проведенные в Хайдарабаде, Индия, свидетельствуют о валидных результатах теста при температурах до 36,6 °C с максимальной относительной влажностью 75% при температуре до 31 °C, которая линейно уменьшается до 27% при температуре 36,6 °C.

**Таблица 2. Сравнение *careHPV* Test по сравнению с Digene HC2 тестом по определению ДНК ВПЧ высокой степени риска.**

Тест <i>careHPV</i>	Digene HC2 тест по определению ДНК ВПЧ высокой степени риска		Всего
	Положительный результат	Отрицательный результат	
Положительный результат:	261	28	289
Отрицательный результат:	50	902	952
<b>Всего</b>	<b>311</b>	<b>930</b>	<b>1241</b>
Каппа = 0,829 (P <0,0001)			
Постоянная частота = 1163/1241 = 93.71% (95% ДИ = 92,26-94.97%)			

Одинаковые результаты при использовании теста *careHPV* и метода детекции ВПЧ при помощи ПЦР были достигнуты в 90,89% случаев, как показано в таблице 3 ниже. Амплификация нуклеиновых кислот ВПЧ усиливается с помощью ПЦР-флуоресцентного комплекта визуализации [Компания ООО Ганглонг биотехнологии (Шень Чжень)].

**Таблица 3. Сравнение использования теста *careHPV* для выявления ВПЧ по сравнению с определением ВПЧ при помощи ПЦР**

Тест <i>careHPV</i>	Определение ВПЧ при помощи ПЦР		Всего
	Положительный результат	Отрицательный результат	
Положительный результат:	263	26	289
Отрицательный результат:	87	865	952
<b>Всего</b>	<b>350</b>	<b>891</b>	<b>1241</b>
Каппа = 0,763 (P < 0,0001) Постоянная частота = 1128/1241 = 90,89% (95% ДИ = 89.20% - 92.40%)			

#### Аналитические характеристики условий тестирования

Исследования в области аналитической чувствительности, перекрестной реактивности и взаимодействия с другими веществами проводились при комнатной температуре (15-30 °C) в контролируемых лабораторных условиях. Дополнительное аналитическое тестирование проводилось в климатической камере, где тест *careHPV* показал адекватные эксплуатационные характеристики при температуре 15-40 °C и 15-75% относительной влажности (без конденсации); максимум 75% относительной влажности при температуре до 31 °C с линейным уменьшением до 50% относительной влажности при 40 °C.

#### Аналитическая чувствительность

Чтобы продемонстрировать аналитическую чувствительность *careHPV Test* была протестирована панель плазмидной ДНК ВПЧ, чтобы проверить, что каждый из 14 типов ВПЧ с высокой степенью риска определяется с соотношением ПКХ/ОКХ > 2,0. Каждый из 14 типов ДНК ВПЧ был подготовлен при целевой концентрации ВПЧ, составившей 1,0 мкг/мл (5000 копий/анализ) в отрицательном калибраторе (ОК). Подготовленная концентрация воспроизводит концентрацию целевой плазмиды положительного калибратора (ПК).

Каждый тип ВПЧ был испытан в 8 репликациях. Для каждого типа ВПЧ были рассчитаны среднее значение сигнала, уровень отсечки и отношение уровня сигнала к уровню шума. Полученные результаты приведены в таблице 4 ниже.

**Таблица 4. Сводные данные по аналитической чувствительности теста *careHPV* 1 пг/мл для ДНК каждого типа ВПЧ**

Тип ВПЧ	Средний сигнал (относительные световые единицы)	Коэффициент изменчивости	Отношение сигнал-шум
16	672	15%	5,3
18	611	14%	4,9
31	623	12%	4,9

33	564	8%	4,5
35	678	10%	5,4
39	611	7%	4,4
45	321	9%	2,5
51	676	12%	5,4
52	370	8%	2,7
56	739	10%	5,3
58	558	10%	4,4
59	686	8%	5,4
66	636	12%	4,6
68	534	11%	3,8

#### Перекрестная реактивность с микроорганизмами

Исследования показывают, что тест *careHPV Test* не вступает в перекрестную реакцию со следующими микроорганизмами в следующих концентрациях (таблица 5, ниже):

- *Chlamidia trachomatis*: от 3.5 e2 до 2.0 e3 формирующих единиц включений/мл
- *T. vaginalis*: 8e5 клеток/мл
- оставшиеся микроорганизмы: 1.5e4-9.8e9 колониеобразующих единиц/мл

**Таблица 5. Потенциальные перекрестно-реактивные патогены**

Патоген	Патоген
Acinetobacter sp.	Mycoplasma hominis
Acinetobacter Iwoffi	Neisseria gonorrhoeae
Bacteroides fragilis	Neisseria lactamica
Candida albicans	Neisseria sicca
Chlamydia trachomatis	Peptostreptococcus anaerobius
Enterobacter cloacae	Prevotella melaninogenica
Enterococcus faecalis (Streptococcus)	Proteus vulgaris
Escherichia coli (HB101)*	Serratia marcescens
Escherichia coli	Staphylococcus aureus



Gardnerella vaginalis	Staphylococcus epidermidis
Haemophilus ducreyi	Streptococcus pyogenes
Klebsiella pneumoniae	Treponema phagedenis
Lactobacillus acidophilus	Trichomonas vaginalis
Mobiluncus curtisii	Ureaplasma urealyticum
Mobiluncus mulieris	

\* Были протестирована оба штамма E.coli для выращивания плазмид (HB101), а также клинический изолят E.coli.

### **Перекрестная реактивность с вирусной или плазмидной ДНК**

Следующие типы ДНК были протестированы на перекрестную реактивность в следующих концентрациях:

- Вирус простого герпеса II: 1Е6 бляшкообразующих единиц/мл
- рBR322: 4 нг/мл

Вирус простого герпеса II не показал перекрестной реактивности.

Плазмид рBR322 показал перекрестную реактивность в тесте *careHPV*, что не является неожиданным. рBR322 используется в качестве вектора для плазмиды ВПЧ, трудно удалить весь вектор ДНК рBR322 при выделении вставки в ВПЧ. В научной литературе сообщается о наличии гомологичных последовательностей рBR322 в образцах тканей из половых органов человека, и ложноположительные результаты теста *careHPV* могут иметь место в присутствии высоких уровней ДНК рBR322.

### **Перекрестная реактивность с геномной ДНК человека**

Как показывают исследования, тест *careHPV* не обладает перекрестной реакцией с геномной ДНК человека при концентрации, равной 250 нг/мл.

### **Перекрестная реактивность определялась бластным методом.**

Был выполнен анализ последовательностей нуклеотидов (бластным методом), чтобы удостовериться, что не было перекрытия участков ДНК, перекрестно-реагирующих последовательностей в нижеследующих структурах:

- Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), вирус гепатита В (ВГВ), вирус Эпштейна-Барр (ЭБВ), цитомегаловирус (ЦМВ).
- Аденовирус 2
- Менингококк (*Neisseria meningitides*)

## Взаимодействующие вещества

Эффект веществ, которые могут присутствовать в цервикальных образцах (цельная кровь, компоненты спринцевания, противогрибковые крема, контрацептивные гели и вагинальные смазки) был оценен при выполнении теста *careHPV*. Вышеуказанные вещества добавляли в 2-х разных количествах (50 микролитров и 100 микролитров) в отрицательный калибратор (ОК), положительный калибратор (ПК) и 5 пг/мл ВПЧ 16 типа в отрицательный калибратор (ОК). Отрицательный калибратор (ОК), положительный калибратор (ПК) и 5 пг/мл ВПЧ 16 типа в отрицательном калибраторе (ОК) были также протестированы без добавления взаимодействующих веществ.

Ложноположительные результаты наблюдались с противогрибковым кремом в обеих вышеупомянутых концентрациях, но не определялись ни с одним из других веществ при любой испытанной концентрации.

Ложноотрицательный результат может быть получен в клинических образцах шейки матки с концентрацией ДНК ВПЧ, близкой к нижней границе определения и уровню значения отсечки (1 пг/мл), если во время процедуры забора образца туда попали в высоких концентрациях кровь, противозачаточные гели или компоненты спринцевания.

## Ссылки

QIAGEN поддерживает большую, современную онлайн базу данных научных публикаций, касающихся информации об использовании продукции QIAGEN. Комплексные параметры поиска позволяют найти нужную статью либо с помощью простого поиска по ключевому слову или указав приложения, область исследований, название и т.д.

Для получения полного списка ссылок, посетите справочную базу данных QIAGEN в интернете по адресу [www.qiagen.com/RefDB/search.asp](http://www.qiagen.com/RefDB/search.asp) или свяжитесь со службой технической поддержки QIAGEN или обратитесь к местному дистрибьютору.

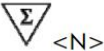








## Процитированные источники

1. Richmond, J. Y. (1993). Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 3rd ed., Washington, DC: U. S. Government Printing Office, p 183.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. (1997) Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS Approved Guideline M29-A, Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue, Wayne, PA: CLSI/NCCLS.
3. World Health Organization's Laboratory Biosafety Manual (2004), 3rd ed., Malta: World Health Organization.
4. Jenson, A. B., Kurman, R. J., Lancaster, W. D. (1984) Human papillomaviruses. In: Belshe RB, editor. Textbook of Human Virology. Littleton, MA: PSG-Wright; p 951-68.
5. Bosch, F. X., Lorincz, A., Munoz, N., Meijer, C. J. L. M., Shah, K. V. (2002) The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J. Clin. Pathol.* 55 244.
6. Gaarenstroom K. N., et al. (1994) Human papillomavirus DNA and genotypes: prognostic factors for progression of cervical intraepithelial neoplasia. *Int. J. Gynecol. Cancer* 4 73.
7. Schlecht, N. F., et al. (2001) Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA* 286 3106.
8. Nobbenhuis, M. A. E., et al. (1999) Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical-cancer screening: a prospective study. *Lancet* 354 20.
9. Castle, P. E., et al. (2002) Absolute risk of a subsequent abnormal Pap among oncogenic human papillomavirus DNA-positive, cytologically negative women. *Cancer* 95 2145.
10. Munoz, N., et al. (1992) The Epidemiology of Human Papillomavirus and Cervical Cancer. Lyon: International Agency for Research on Cancer.

11. Remmink, A. J., et al. (1995) The presence of persistent high-risk HPV genotypes in dysplastic cervical lesions is associated with progressive disease: natural history up to 36 months. *Int. J. Cancer* 61 306.
12. Lorincz, A. T., Quinn, A. P., Lancaster, W. D., Temple, G. F. (1987) A new type of papillomavirus associated with cancer of the uterine cervix. *Virology* 159 187.
13. Meyer, T, et al. (1998) Association of rare human papillomavirus types with genital premalignant and malignant lesions. *J. Infect. Dis.* 178 252.
14. Lorincz, A. T., Reid, R., Jenson, A. B., Greenberg, M. D., Lancaster, W., Kurman, R. J. (1992) Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet. Gynecol.* 79 328.
15. Bosch, F. X., et al. (1995) International Biologic Study on Cervical Cancer (IBSCC) Study Group. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J. Natl. Cancer Inst.* 87 796.
16. Shimoda, K., Lorincz, A. T., Temple, G. F., Lancaster, W. D. (1988) Human papillomavirus type 52: a new virus associated with cervical neoplasia. *J. Gen. Virol.* 69 2925.
17. Volpers, C., Streeck, R. E. (1991) Genome organization and nucleotide sequence of human papillomavirus type 39. *Virology* 181 419.
18. Matsukura, T., Sugase, M. (1990) Molecular cloning of a novel human papillomavirus (type 58) from an invasive cervical carcinoma. *Virology* 177 833.
19. Rho, J., Roy-Burman, A., Kim, H., de Villiers, E.-M., Matsukura, T., Choe, J. (1994) Nucleotide sequence and phylogenetic classification of human papillomavirus type 59. *Virology* 203 158.
20. Longuet, M., Beaudenon, S., Orth, G. (1996) Two novel genital human papillomavirus (HPV) types, HPV68 and HPV70, related to the potentially oncogenic HPV39. *J. Clin. Microbiol.* 34 738.
21. Stewart, A.-C.M., Gravitt, P. E., Cheng, S., Wheeler, C. M. (1995) Generation of entire human papillomavirus genomes by long PCR: frequency of errors produced during amplification. *Genome Res.* 5 79.
22. Munoz, N., et al. (2004) Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective. *Int. J. Cancer* 111 278.
23. Ho, G. Y. F., Bierman, R., Beardsley, L., Chang, C. J., Burk, R. D. (1998) Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N. Engl. J. Med.* 338 423.
24. Ylitalo, N., et al. (2000) A prospective study showing long-term infection with human papillomavirus 16 before the development of cervical carcinoma in situ. *Cancer Res.* 60 6027.
25. Wallin, K.-L., et al. (1999) Type-specific persistence of human papillomavirus DNA before the development of invasive cervical cancer. *N. Engl. J. Med.* 341 1633.
26. van der Graaf, Y., Molijn, A., Doornwaard, H., Quint, W., van Doorn, L.-J., van den Tweel, J. (2002) Human papillomavirus and the long-term risk of cervical neoplasia. *Am. J. Epidemiol.* 156 158.
27. Petry, K.U., Bohmer, G., Iftner, T., Davies, P., Brummer, O., Kuhnle, H. (2002) Factors associated with an increased risk of prevalent and incident grade III cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer among women with Papanicolaou tests classified as grades I or II cervical intraepithelial neoplasia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 186 28.
28. Hopman, E. H., Rozendaal, L., Voorhorst, F. J., Walboomers, J. M. M., Kenemans, P., Helmerhorst, T. H. J. M. (2000) High risk human papillomavirus in women with normal cervical cytology prior to the development of abnormal cytology and colposcopy. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 107 600.
29. Woodman, C. B. J., et al. (2001) Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet* 357 1831.
30. Zielinski, G. D., et al. (2001) High-risk HPV testing in women with borderline and mild dyskaryosis: long-term follow-up data and clinical relevance. *J. Pathol.* 195 300.
31. Rozendaal, L., et al. (1996) PCR-based high-risk HPV test in cervical cancer screening gives objective risk assessment of women with cytologically normal cervical smears. *Int. J. Cancer* 68 766.
32. Castle, P. E., et al. (2002) Restricted cross-reactivity of Hybrid Capture 2 with non-oncogenic human papillomavirus types. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 11 1394.

33. Vernon SD, Unger ER, Williams D. (2000) Comparison of human papillomavirus detection and typing by cycle sequencing, line blotting, and Hybrid Capture. *J Clin Microbiol* 38 651.

## Обозначения

	Содержит достаточное количество материала для проведения <N> кол-ва тестов
	Использовать до
	Медицинский прибор для диагностики в условиях in vitro
	Каталожный номер
	Номер партии
	Номер материала
	Температурные ограничения
	Законный производитель
	Важное примечание

## Контактная информация

Качество и доступность нашей технической поддержки является предметом гордости компании QIAGEN. Наши отделы по техническому обслуживанию укомплектованы опытными учеными с обширным практическим и теоретическим опытом по работе с образцами и аналитическими технологиями и использования продукции QIAGEN. Если у вас есть какие-либо вопросы или возникли какие-либо трудности, связанные с тестом *careHPV* или QIAGEN в целом, пожалуйста, не стесняйтесь обращаться к нам.

Клиенты QIAGEN являются основным источником информации о передовых или специализированных областях применения нашей продукции. Эта информация является полезной для других ученых, а также для исследователей, работающих в QIAGEN. Поэтому мы призываем Вас связаться с нами, если у вас есть какие-либо предложения, касающиеся производительности продукта или новых приложений и методов.

Для получения технической помощи и получения более подробной информации, пожалуйста, обратитесь в наш центр технической поддержки по адресу [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) или позвоните по одному из телефонов технических сервисных служб QIAGEN или местных дистрибьюторов (см. заднюю сторону обложки инструкции пользователя или посетите [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).



## Информация для заказа

Продукт	Содержимое	Каталожный номер
Тестовая система <i>careHPV</i>	включает в себя следующие составляющие: <ul style="list-style-type: none"><li>▪ контроллер для выполнения теста <i>careHPV</i></li><li>▪ фотометр для выполнения теста <i>careHPV</i></li><li>▪ шейкер для выполнения теста <i>careHPV</i></li><li>▪ держатель магнитной пластины для выполнения теста <i>careHPV</i></li></ul>	9001772
Фотометр для выполнения теста <i>careHPV</i>	1 микропланшет с возможностью хемилюминесцентной детекции, предназначенный для использования с тестовой системой <i>careHPV</i>	9001773
Шейкер для выполнения теста <i>careHPV</i>	1 нагреватель/ шейкер, предназначенный для использования с тестовой системой <i>careHPV</i>	9001774
Контроллер для выполнения теста <i>careHPV</i>	1 сенсорный экран устройства с прикладным программным обеспечением для использования с тестовой системой <i>careHPV</i>	9001775
<i>careBrush</i>	1 упаковка из 50 предварительно помеченных цервикальных щеточек	619024
Среда для забора <i>careHPV</i>	1 упаковка из 50 пробирок, каждая из которых содержит 1 мл среды для забора <i>careHPV</i>	619025
Держатель магнитной пластины для выполнения теста <i>careHPV</i>	Держатель магнитной пластины для выполнения теста <i>careHPV</i>	9019960

Для получения актуальной информации, касающейся условий лицензирования, а также отказ от ответственности по отдельным видам продукции см. руководство по соответствующей продукции QIAGEN или руководство пользователя. Справочники и руководства пользователя по продукции QIAGEN доступны на сайте [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) или могут быть запрошены в техническом представительстве компании QIAGEN или у местного дистрибьютора.

Эта страница намеренно оставлена пустой

Эта страница намеренно оставлена пустой



Эта страница намеренно оставлена пустой

Торговые марки: Qiagen®, digene®, *careHPV*™, Hybrid Capture® (QIAGEN Group). CARE являются зарегистрированным товарным знаком «Кооперации повсеместной поддержки и помощи»

Международная корпорация ("CARE"). CARE, члены и филиалы CARE International не связаны с компанией QIAGEN и не финансирует, не подтверждает, не поддерживает, не участвует, не контролирует разработку, производство, применение или продажу какой-либо продукции QIAGEN".

Тест *careHPV* произведен ГмбХ QIAGEN в ООО QIAGEN (Шэньчжэнь), 6&7F, R3-B, Парк высоких технологий, Шэньчжэнь, Китай, 518057.

#### Ограниченное лицензионное соглашение

Использование этого продукта означает согласие какого-либо покупателя или пользователя набора *careHPV* со следующими условиями:

1. Тест *careHPV* может использоваться исключительно в соответствии с руководством по применению *careHPV* и при этом должны использоваться только компоненты, входящие в комплект. QIAGEN не предоставляет лицензии в рамках своей интеллектуальной собственности, чтобы использовать или включать прилагаемые компоненты набора *careHPV* совместно с любым из компонентов, не включенных в этот конкретный комплект теста *careHPV*, кроме случаев, упомянутых в руководстве по применению теста *careHPV* и дополнительных протоколов, доступных на сайте [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)
2. Кроме вышеупомянутых лицензий, компания QIAGEN не дает никаких гарантий, что тест *careHPV* и/или его использование(я) не нарушают права третьих сторон.
3. Тест *careHPV* и его компоненты лицензированы для одноразового использования и не могут быть повторно использованы, отремонтированы или перепроданы.
4. В частности, компания QIAGEN отказывается от каких-либо других лицензий, явных или подразумеваемых, кроме тех, о которых было прямо заявлено.
5. Покупатель и пользователь *careHPV* Test соглашается не предпринимать или не разрешать кому-либо предпринимать любые шаги, которые могут привести или способствовать любому действию, запрещенному в вышеописанных пунктах. QIAGEN может обеспечить соблюдение запретов данного Ограниченного Лицензионного Соглашения в любом суде и должен восстановить в качестве компенсации все свои следственные и судебные расходы, в том числе судебные издержки, во всех случаях, когда необходимо привести в исполнение настоящее Ограниченное Лицензионное Соглашение или любое из своих прав интеллектуальной собственности, касающихся тестового набора *careHPV* и/или его компонентов.

Для уточнения обновленных сроков действия лицензии обратитесь на сайт [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2012 QIAGEN, все права защищены.

[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

**Австралия** ▪ Телефон для заказов 1-800-243-800 ▪ Факс 03-9840-9888 ▪ Техническая поддержка 1-800-243-066

**Австрия** ▪ Телефон для заказов 0800-28-10-10 ▪ Факс 0800-28-10-19 ▪ Техническая поддержка 0800-28-10-11

**Бельгия** ▪ Телефон для заказов 0800-79612 ▪ Факс 0800-79611 ▪ Техническая поддержка 0800-79556

**Бразилия** ▪ Телефон для заказов 0800-557779 ▪ Факс 55-11-5079-4001 ▪ Техническая поддержка 0800-557779

**Великобритания** ▪ Телефон для заказов 01293-422-911 или 0808-2343665 ▪ Факс 01293-422-922 ▪ Техническая поддержка 01293-422-999 или 0808-2343974

**Германия** ▪ Телефон для заказов 02103-29-12000 ▪ Факс 02103-29-22000 ▪ Техническая поддержка 02103-29-12400

**Гонконг** ▪ Телефон для заказов 800 933 965 ▪ Факс +800 930 439 ▪ Технический 800 930 425

**Дания** ▪ Телефон для заказов 80-885945 ▪ Факс 80-885944 ▪ Техническая поддержка 80-885942

**Индия** ▪ Телефон для заказов 1-800-102-4114 ▪ Факс 1-800-103-4114 ▪ Техническая поддержка 1-800-102-4115

**Ирландия** ▪ Телефон для заказов 1800-555-049 ▪ Факс 1800-555-048 ▪ Техническая поддержка 1800-555-061

**Испания** ▪ Телефон для заказов 91-630-7050 ▪ Факс 91-630-5145 ▪ Техническая поддержка 91-630-7050

**Италия** ▪ Телефон для заказов 800-789544 ▪ Факс 800-789660 ▪ Техническая поддержка 800-787980

**Канада** ▪ Телефон для заказов 800-572-9613 ▪ Факс 800-713-5951 ▪ Техническая поддержка 800-DNA-PREP (800-362-7737)

**Китай** ▪ Телефон 86-21-3865-3865 ▪ Факс 86-21-3865-3965 ▪ Техническая поддержка 800-988-0325 или 400-880-0325

**Люксембург** ▪ Телефон для заказов 8002-2076 ▪ Факс 8002-2073 ▪ Техническая поддержка 8002-2067

**Мексика** ▪ Телефон для заказов 01-800-7742-639 ▪ Факс 01-800-1122-330 ▪ Техническая поддержка 01-800-7742-436

**Нидерланды** ▪ Телефон для заказов 0800-0229592 ▪ Факс 0800-0229593 ▪ Техническая поддержка 0800-0229602

**Норвегия** ▪ Телефон для заказов 800-18859 ▪ Факс 800-18817 ▪ Техническая поддержка 800-18712

**Сингапур** ▪ Телефон для заказов 1800-742-4362 ▪ Факс 65-6854-8184 ▪ Техническая поддержка 1800-742-4368

**США** ▪ Телефон для заказов 800-426-8157 ▪ Факс 800-718-2056 ▪ Технический 800-DNA-PREP (800-362-7737)

**Тайвань** ▪ Телефон для заказов 0080-665-1946 ▪ Факс 8862-2369-1100 ▪ Техническая поддержка 0080-665-1947

**Финляндия** ▪ Телефон для заказов 0800-914416 ▪ Факс 0800-914415 ▪ Техническая поддержка 0800-914413

**Франция** ▪ Телефон для заказов 01-60-920-920 или 0800-912965 ▪ Факс 01-60-920-925 ▪ Техническая поддержка 01-60-920-930 или 0800-912961

**Швейцария** ▪ Телефон для заказов 055-254-22-11 или 0800-897470 ▪ Факс 055-254-22-13 ▪ Техническая поддержка 055-254-22-12 или 0800-837160

**Швеция** ▪ Телефон для заказов 020-790282 ▪ Факс 020-790582 ▪ Техническая поддержка 020-798328

**Южная Корея** ▪ Телефон для заказов 080-000-7146 ▪ Факс 02-2626-5703 ▪ Техническая поддержка 080-000-7145

**Япония** ▪ Телефон для заказов 03-6890-7300 ▪ Факс 03-5547-0818 ▪ Техническая поддержка 03-6890-7300



---

1058802EN 139297510 02/2012

**Работа с образцами и аналитические технологии**