

Juni 2019

Brugsanvisning til QIASure Methylation Test (håndbog)



Version 1

Til brug med Rotor-Gene® Q MDx 5plex HRM instrument

IVD

Til in vitro-diagnostisk brug

CE

REF

616014



Self-screen B.V., Biothof 15-1, 1098 RX Amsterdam, HOLLAND

R4 **MAT**

1117742DA

Indhold

Tilsligtet anvendelse	4
Oversigt og forklaring	5
Funktionsprincip	5
Medfølgende materialer	7
Kittet indeholder	7
Nødvendige materialer, som ikke medfølger	7
Advarsler og forholdsregler.....	9
Sikkerhedsinformation	9
Almene forsigtighedsregler	9
Forholdsregler for AssayManager-profil.....	11
Opbevaring og håndtering af reagenser	12
Håndtering og opbevaring af prøver.....	13
Prøveklargøring	14
Generelle anbefalinger vedrørende bisulfitkonvertering	16
Protokol: QIASure Methylation Test PCR i Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM instrumentet	17
Fortolkning af resultater	29
Fejlsøgningsvejledning	33
Begrænsninger	36
Ydelseskarakteristik	38
Påvisningsgrænse (LOD).....	38
Linearitet	38
Præcision	38

Interfererende stoffer	39
Klinisk ydeevne	40
Robusthed	42
Litteraturhenvisninger.....	45
Symboler	46
Kontaktoplysninger	47
Bestillingsinformation.....	48
Revisionshistorik for dokumentet	51

Tilsigtet anvendelse

QIASure Methylation Test er en methyleringsspecifik real-time PCR-analyse til detektion af promoter-hypermethylering af generne *FAM19A4* og *hsa-mir124-2*. Prøver, der kan testes med QIASure Methylation Test, omfatter bisulfitkonverteret DNA, der er isoleret fra prøver indsamlet på følgende måder:

- Cervikale prøver indsamlet med *digene*[®] HC2 DNA Collection Device (af en læge)
- Cervikale prøver indsamlet ved hjælp af en børste-/kostlignende testningsenhed og placeret i en PreservCyt[®] Solution (af en læge)
- Vaginale prøver, der er indsamlet ved hjælp af en børste-/kostlignende testningsenhed (af patienten)

Brugsindikationer:

1. Som opfølgningstest til kvinder, der er testet positiv for human papillomavirus (HPV), for at afgøre behovet for henvisning til kolposkopi eller andre opfølgningsprocedurer.
2. Som opfølgningstest til kvinder, der er testet positiv i en Pap-test med atypiske pladeepitler af ubestemt signifikans (atypical squamous cells of undetermined significance, ASC-US) for at vurdere behovet henvisning til en kolposkopi eller andre opfølgningsundersøgelser.

Dette produkt er beregnet til brug af professionelle brugere, f.eks. teknikere og bioanalytikere med kvalifikationer inden for in vitro-diagnostiske procedurer, molekylærbiologiske teknikker samt Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM-systemet.

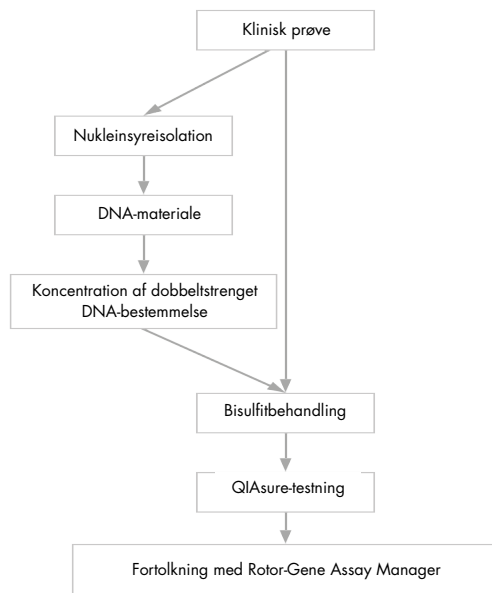
Oversigt og forklaring

DNA-methylering er en biokemisk proces, der er vigtig for den normale udvikling hos højerestående organismer (1). Den omfatter tilføjelsen af en methylgruppe til femte position i pyrimidinringen i cytosinnucleotidet. Unormale DNA-methyleringsmønstre spiller også en stor rolle i carcinogenese. I mange former for human cancer og cancercellelinjer, herunder cervikal cancer og endometrial cancer, er der påvist promoter-hypermethylering af generne *FAM19A4* og/eller *hsa-mir124-2* (2-6). En analyse af promoter-methylering påviser specifikt cancertyper og såkaldte "fremskredne" CIN-læsioner (cervikal intraepitelial neoplasi), der gemmer på en cancerlignende methyleringsprofil og har en høj risiko på kort sigt for at føre til cancer (3, 7, 8, 10). QIASure-analysen gør det muligt at påvise promoter-hypermethylering af generne *FAM19A4* og *hsa-mir124-2* på bisulfitkonverteret DNA, der er isoleret fra cervikale eller vaginale prøver ved hjælp af ACTB som en intern kvalitetskontrol af prøver.

Funktionsprincip

QIASure Methylation Test er en multiplex-real-time PCR-test, der forstærker de methylerede promoter-områder af tumorsuppressorgenerne *FAM19A4* og *hsa-mir124-2* samt et methylerings-uspecifikt fragment af et referencegen. Kittet består af 2 rør QIASure Master Mix og 2 rør QIASure Calibrator. Masterblandingen er beregnet til at forstærke det bisulfitkonverterede DNA, som er klargjort fra kliniske prøver. Masterblandingen indeholder primere og prober til målgenerne og referencegenet, der fungerer som kvalitetskontrol af den interne prøve. Kalibratoren er et lineariseret plasmid, der indeholder sekvenser af *FAM19A4*, *hsa-mir124-2* og ACTB-amplikoner.

Arbejdsgangprocedure



QIASure-analysen kører på Rotor-Gene Q MDx instrumentet, og Rotor-Gene AssayManager® softwaren udfører automatisk dataanalyse og fortolkning. C_T -værdien (cyklustærsklen) svarer til antallet af PCR-cykler, der kræves til detektion af et fluorescerende signal over et baggrundssignal, hvilket svarer til antallet af målmolekyler i prøven. QIASure-analysen beregner ΔC_T -værdien som forskellen mellem C_T -værdien af *FAM19A4*- eller *hsa-mir124-2*-målene og C_T -værdien af referencen (ACTB). Denne ΔC_T -værdi er en relativ kvantitativ værdi for promoter-metyleringsniveauet af *FAM19A4*- eller *hsa-mir124-2*-genet. Ved normalisering trækkes ΔC_T -værdien af en kalibratorprøve fra ΔC_T -værdien af *FAM19A4*- eller *hsa-mir124-2*-målene, hvilket resulterer i en $\Delta\Delta C_T$ -værdi (9). Kalibratoren er en standardiseret fåtallig plasmid-DNA-prøve med et kendt antal kopier for de tre mål (dvs. *FAM19A4*, *hsa-mir124-2* og ACTB).

Medfølgende materialer

Kittet indeholder

QIASure Methylation Test		72
Katalognr.		616014
Antal reaktioner		72
QIASure Master Mix (2 rør)	Brun farve	630 µl
QIASure Calibrator (2 rør)	Gennemsigtig farve	25 µl
Brugsanvisning til QIASure Methylation Test (håndbog)		1

Nødvendige materialer, som ikke medfølger

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der findes flere oplysninger i de tilhørende sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er), som kan fås hos produktets leverandør.

Forbrugsvarer og reagenser til klargøring af selvtagne prøver

- Hologic PreservCyt® Solution

Forbrugsvarer og reagenser til bisulfitkonvertering

Bekræftede kits til bisulfitkonvertering indeholder:

- EZ DNA Methylation Kit (ZYMO Research, katalognr. D5001 eller D5002)
- EpiTect Fast 96 Bisulfite Kit (QIAGEN, katalognr. 59720)

Forbrugsvarer til Rotor-Gene Q MDx instrument

- Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (katalognr. 981103)
- Oprenset vand (f.eks. molekylærbiologisk kvalitet, destilleret eller afioniseret)

Udstyr

- Justerbare pipetter*, dedikeret til PCR (1-10 µl; 10-100 µl)
- Engangshandsker
- Bordcentrifuge* med en hastighed > 10.000 rpm
- Vortex-mixer*
- Qubit® (Thermo Fisher Scientific, katalognr. Q33216), NanoDrop® 3300 Fluorospectrometer (Thermo Fisher Scientific, katalognr. ND-3300) eller tilsvarende*

Udstyr til real-time PCR

- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System (katalognr. 9002033) eller Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM instrument (katalognr. 9002032)†
- Rotor-Gene AssayManager Core Application, softwareversion 1.0.x (hvor x er større end eller lig 4)
- Rotor-Gene AssayManager Epsilon Plug-in installeret, version 1.0.x (hvor x er større end eller lig 1)
- QIASure Assay Profile (fra filen AP_QIASure_CervicalScrape_V1_0_Y.iap) (hvor Y er større end eller lig 1) til anvendelse af bisulfitkonverteret DNA fra lægeindsamlede cervikale prøver
- QIASure Assay Profile til selvtaget børsteprøve (fra filen AP_QIASure_SelfCollectedBrush_V1_0_Y.iap) (hvor Y er større end eller lig 0) til anvendelse af bisulfitkonverteret DNA fra selvtagne vaginale børsteprøver

* Kontrollér, at instrumenterne er kontrolleret og kalibreret i henhold til producentens anbefalinger.

† Rotor-Gene Q 5plex HRM instrument med en fremstillingsdato fra januar 2010 eller senere. Produktionsdatoen findes under serienummeret på bagsiden af instrumentet. Serienummeret findes i formatet "mmåånnn", hvor "mm" står for produktionsmåneden i tal, "åå" står for de sidste to tal i produktionsåret, og "nnn" står for den entydige instrumentidentifikator.

Advarsler og forholdsregler

Kun til in vitro-diagnostisk brug.

Sikkerhedsinformation

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der henvises til de relevante sikkerhedsdatablade (safety data sheets, SDS'er) for yderligere information. Disse er tilgængelige online i et praktisk og kompakt PDF-format på adressen www.qiagen.com/safety, hvor det er muligt at finde, få vist og udskrive SDS'et for hvert QIAGEN®-kit og samtlige kitkomponenter.

QIASURE MASTER MIX



Indeholder: 1,2,4-triazol: Advarsel! Mistanke om forringet fertilitet eller skade på det ufødte barn. Bær beskytteshandsker/ beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

Almene forsigtighedsregler

Brug af PCR-test kræver god laboratoriepraksis, herunder vedligeholdelse af udstyr, der er dedikeret til molekylærbiologi, og som overholder gældende lovgivning og relevante standarder.

Vær altid opmærksom på følgende:

- Brug beskyttende puddefri engangshandsker og øjenværn ved håndtering af prøver.
- Forebyg kontaminering af prøven og kittet med mikrober og nuklease (DNase). DNase kan resultere i degradering af DNA-skabelonen.

-
- Undgå kontaminering ved overførsel af DNA eller PCR-produkt, hvilket kan resultere i et falskt positivt signal.
 - Benyt altid DNase-fri engangspipettespidser med aerosolbarrierer.
 - Reagenser i QIASure-analysen er optimalt fortyndede. Fortynd ikke reagenserne yderligere, da dette kan resultere i forringet pålidelighed.
 - Alle reagenser, der leveres med QIASure-kittet, er udelukkende beregnet til brug sammen med de øvrige reagenser i det samme kit. Undlad at udskifte reagenser fra et kit med de samme reagenser fra et andet QIASure-kit, også selv om kittene er fra samme parti, da dette kan påvirke pålideligheden af resultatet.
 - Se brugervejledningen til Rotor-Gene Q MDx-instrumentet for at få flere oplysninger om advarsler, forholdsregler og procedurer.
 - Før kittet bruges første gang, foretages en opvarmingskørsel af Rotor-Gene Q MDx 5-plex HRM ved 95 °C i 10 minutter.
 - Ændring af inkuberingstider og temperaturer kan resultere i forkerte eller afvigende data.
 - Du må ikke anvende komponenter i kittet, som er udløbet, eller som ikke er blevet opbevaret på korrekt vis.
 - Sørg for ikke at udsætte komponenterne for direkte lys, da reaktionsblandinger kan ændre sig som følge af eksponering.
 - Udvis ekstrem forsigtighed for at forhindre kontamination af blandingerne med de syntetiske materialer, der findes i PCR-reagenserne.
 - Prøve- og analyseaffald skal bortskaffes i henhold til lokale sikkerhedsprocedurer.

Forholdsregler for AssayManager-profil

Forskellige prøvetyper kræver forskellige AssayManager-profiler. Sørg for at anvende den korrekte profil til hver af prøvetyperne som angivet nedenfor:

- "QIASure Assay Profile til cervikale prøver (fra filen AP_QIASure_CervicalScrape_V1_0_Y.iap)" skal anvendes til testning af bisulfitekoveret DNA indsamlet fra cervikale prøver taget af en læge
- "QIASure Assay Profile til selvtaget børsteprøve (fra filen AP_QIASure_SelfCollectedBrush_V1_0_Y.iap)" skal anvendes til testning af bisulfitekoveret DNA indsamlet fra selvtagne vaginale børsteprøver

Opbevaring og håndtering af reagenser

Forsendelsesbetingelser

QIAure Methylation Test forsendes på tøris. Hvis nogle af komponenterne i QIAure Methylation Test ikke er frosne ved modtagelse, hvis den ydre emballage har været åbnet under transporten, eller hvis forsendelsen ikke indeholder en følgeseddel, håndbøger eller reagenserne, skal der rettes henvendelse til en af QIAGENs tekniske serviceafdelinger eller lokale forhandlere (se bagsiden, eller besøg www.qiagen.com).

Opbevaringsbetingelser

QIAure Methylation Test skal straks efter modtagelse opbevares ved -30 til -15 °C i en fryser med konstant temperatur og beskyttes mod lys.

Stabilitet

Når QIAure Methylation Test opbevares under de specifikke opbevaringsbetingelser, er det stabilt indtil den udløbsdato, der er anført på æsken.

Når de er åbnet, kan reagenser opbevares i deres originale emballage ved -30 til -15 °C. Undgå gentagen optøning og nedfrysning. Et reagens må højst indfryses og optøs 3 gange.

- Bland forsigtigt ved at vende rørene på hovedet 10 gange, og centrifuger alle rør, før de åbnes.
- Udløbsdatoen for de enkelte reagenser er angivet på de individuelle komponentmærkater. Under de korrekte opbevaringsforhold bevarer produktet sin stabilitet, så længe der anvendes komponenter fra samme parti.

Håndtering og opbevaring af prøver



Alle prøver skal behandles som potentielt infektiøst materiale.

Cervikale prøver

QIASure-kittet er beregnet til bisulfitkonverterede genomiske DNA-prøver indsamlet fra cervikale prøver. De validerede indsamlingsmedier til cervikale prøver (udskrabninger) er PreservCyt[®]-indsamlingsmedie og *Digene*-prøvetransportmedie (Specimen Transport Medium, STM). Den optimale opbevaringstemperatur for de kliniske prøver er 2-8 °C efter ankomst til laboratoriet. Under disse opbevaringsforhold er prøver i indsamlingsmediet PreservCyt stabile i 3 måneder før DNA-ekstraktion.

Bemærk: Cervikale prøver i STM må forsendes ved 2-30 °C ved dag-til-dag-levering til testlaboratoriet og genfryses til -20 °C ved modtagelse.

Selvtagne vaginalbørsteprøver

QIASure Methylation Test er beregnet til bisulfitkonverterede genomiske DNA-prøver ekstraheret fra selvtagne vaginale børsteprøver. Selvtagne vaginalbørsteprøver kan indsamles og forsendes tørt eller i saltvand (0,9 % w/v NaCl) og efter ankomsten til laboratoriet opbevares i et PreservCyt-indsamlingsmedie. Prøver i indsamlingsmediet PreservCyt må opbevares ved 2-8 °C eller stuetemperatur i maksimalt 3 måneder.

Genomiske DNA-prøver

Efter ekstraktion af genomisk DNA må DNA-prøver opbevares og forsendes ved -30 til -15 °C i maksimalt 12 måneder.

Prøveklargøring

QIASure Methylation Test er valideret til brug med bisulfitkonverteret genomisk DNA fra cervikale prøver. Bisulfitkonvertering af genomisk DNA må udføres 1) med forudgående DNA-ekstraktion og -kvalitetskontrol eller 2) direkte på den cervikale prøve. Du kan læse vores anbefalinger nedenfor.

- Bisulfitkonvertering med forudgående DNA-ekstraktion og -kvalitetskontrol

Denne protokol kræver DNA-ekstraktion, DNA-koncentrationsmåling og opdeling af den optimale eluatvolumen, før du starter på bisulfitkonverteringsprotokollen. Protokollen er godkendt til brug sammen med EZ DNA Methylation™ Kit fra ZYMO Research. Vi anbefaler følgende metoder:

- DNA-ekstraktion

Standard-DNA-ekstraktionskits (f.eks. kits baseret på kolonner og magnetiske kugler) er kompatible med QIASure Methylation Test.

- Måling af DNA-koncentration

Mål DNA-koncentrationen før bisulfitkonverteringen af DNA. Systemer, der egner sig til DNA-koncentration, omfatter bl.a. Qubit® Fluorometer, NanoDrop 3300 Fluorospectrometer (begge fra Thermo Fisher Scientific) eller tilsvarende.

- Opdeling af DNA-eluat

Det optimale DNA-input til bisulfitkonvertering spænder fra 100 ng til 2 µg. Til bisulfitkonvertering anbefales 200 ng. Hvis DNA-koncentrationen er for lav til bisulfitkonvertering, gentages DNA-ekstraktionen med en større inputvolumen af den kliniske prøve, eller DNA-elueringsvolumenen reduceres.

- Bisulfitkonvertering med EZ DNA Methylation Kit udføres i henhold til producentens anbefalinger.

Bemærk: Ifølge EZ DNA Methylation Kit må den maksimale mængde prøve-DNA ikke overstige 2 µg for at opnå en tilstrækkeligt høj konverteringseffektivitet (> 98 %).

- Bisulfitkonvertering direkte på cervikal prøve

Bisulfitkonvertering, der udføres direkte på en cervikal prøve, indsamlet i PreservCyt® Solution er godkendt til brug sammen med EpiTect Fast 96 Bisulfite Kit fra QIAGEN.

Vi henviser til *Epitec® Fast 96 Bisulfite Conversion Handbook* vedrørende høje koncentrationer af DNA-prøver (1 ng til 2 µg) i henhold til producentens anbefalinger, undtagen i forbindelse med følgende:

- Trin 1 i protokollen. Udtag 2,5 % af den cervikale prøve i PreservCyt®-indsamlingsmediet (dvs. 500 µl fra 20 ml), og dan pellets ved min. 3390 x g centrifugering. Kassér supernatanten, og lad cellepelleten blive ved maksimalt 20 µl PreservCyt-indsamlingsmedie. Brug denne cellepelletprøve til bisulfitkonverteringsreaktionen, og fortsæt til trin 2 i producentens protokol.
- Buffer BL: Tilsæt ikke carrier-RNA.
- Elueringsvolumen af det bisulfitkonverterede DNA er 50 µl af Buffer EB for hver prøve.

Generelle anbefalinger vedrørende bisulfitkonvertering

Den bisulfitkonverterede reaktion skal udføres på et andet sted, end hvor QIA Sure Master Mix opbevares og dispenseres for at undgå kontaminering af reagenserne.

Inputtet i QIA Sure-reaktionen er 2,5 µl bisulfitkonverteret DNA.

Hvis kvalitetskontrollen af den interne prøve er negativ (dvs. hvis ACTB C_T-værdierne er > 26,4), resulterede prøven af bisulfitkonverteret DNA i en utilstrækkelig mængde materiale og/eller kvalitet og er dermed ugyldig. Udfør de anbefalede trin for at opnå en ACTB C_T, der ligger inden for det gyldige område for følgende:

- Bisulfitkonvertering med forudgående DNA-ekstraktion og -kvantitetskontrol: Gentag bisulfitkonverteringsreaktionen med et højere input af prøve-DNA, og/eller gentag DNA-isolationen med et højere input af cervikal prøve
- Bisulfitkonvertering direkte på cervikal prøve: Gentag bisulfitkonverteringsreaktionen med 10 %* af den cervikale prøve i PreservCyt-indsamlingsmediet (dvs. 2 ml fra 20 ml).

Bisulfitkonverteret DNA kan opbevares i op til 24 timer ved 2-8 °C, op til 5 dage ved -25 til -15 °C og op til 3 måneder under -70 °C. Bisulfitkonverteret DNA må aldrig optøes gentagne gange. Antallet af optøningscyklusser må ikke overstige tre for at sikre en tilstrækkelig kvalitet.

* Prøvevolumenet til direkte bisulfitkonvertering kan øges i tilfælde af en utilfredsstillende succesrate pga. prøvevariabilitet, f.eks. som følge af utilstrækkelig prøvetagning.

Protokol: QIAzure Methylation Test PCR i Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM instrumentet*

Vigtige anvisninger før start

- Brug tid på at sætte dig ind i brug af Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM-instrumentet, før du starter protokollen. Se instrumentets (katalognr. 9002033 eller 9002032) brugervejledning.
- Før kittet bruges første gang, foretages en opvarmningskørsel af Rotor-Gene Q MDx 5-plex HRM ved 95 °C i 10 minutter.
- Rotor-Gene AssayManager v1.0 muliggør automatisk tolkning af PCR-resultaterne. QIAzure-kittet skal køres med Rotor-Gene Q MDx-instrumentet, der anvender Rotor-Gene AssayManager v1.0. Brug tid på at sætte dig ind i brug af Rotor-Gene AssayManager v1.0 (katalognr. 9022739) og Epsilon Plug-In, og se desuden begge produkters brugervejledninger.
- Der kræves forskellige Rotor-Gene AssayManager v1.0 Assay Profiles afhængigt af prøvetyperne. Sørg for at anvende den korrekte profil til hver af prøvetyperne som angivet nedenfor:
 - "QIAzure Assay Profile til cervikale prøver (fra filen AP_QIAzure_CervicalScrape_V1_0_Y.iap)" skal anvendes til testning af bisulfitkonverteret DNA indsamlet fra cervikale prøver taget af en læge
 - "QIAzure Assay Profile til selvtaget børsteprøve (fra filen AP_QIAzure_SelfCollectedBrush_V1_0_Y.iap)" skal anvendes til testning af bisulfitkonverteret DNA indsamlet fra selvtagne vaginale børsteprøver

* Rotor-Gene Q 5plex HRM instrument med en fremstillingsdato fra januar 2010 eller senere. Produktionsdatoen findes under serienummeret på bagsiden af instrumentet. Serienummeret findes i formatet "mmåånnn", hvor "mm" står for produktionsmåneden i tal, "åå" står for de sidste to tal i produktionsåret, og "nnn" står for den entydige instrumentidentifikator.

Bemærk: Det er kun muligt at teste én prøvetype pr. eksperiment. De individuelle analyseprofiler er optimeret efter prøvetype, og det er derfor nødvendigt, at kunden vælger den korrekte Assay Profile for at opnå optimale resultater for hver prøvetype.

Ting, der skal gøres før start

- Rotor-Gene AssayManager v1.0.x-softwaren (hvor x er større end eller lig 4) skal installeres på den computer, der er tilsluttet Rotor-Gene Q MDx. Yderligere oplysninger om installationen af Rotor-Gene AssayManager v1.0 Core Application-softwaren finder du i *Brugervejledning til Rotor-Gene AssayManager v1.0 Core Application*.
 - QIASure Methylation Test kræver et særligt plug-in ved navn "Epsilon Plug-in" (version 1.0.1 eller nyere). Dette plug-in kan downloades fra QIAGENs websted: <http://www.qiagen.com/shop/automated-solutions/detection-and-analysis/rotor-gene-assaymanager#resources>. Dette plug-in skal installeres på en computer, der allerede har Rotor-Gene AssayManager version 1.0.x installeret (hvor x er større end eller lig 4).
 - QIASure Methylation Test kræver en særlig analysespecifik profil, der kører sammen med Rotor-Gene AssayManager v1.0-softwaren. Denne Assay Profile indeholder de parametre, der er nødvendige for at køre og analysere eksperimentet. Der findes 2 QIASure Assay Profiles:
 - "QIASure Assay Profile til cervikale prøver (fra filen AP_QIASure_CervicalScrape_V1_0_Y.iap)" svarer til lægeindsamlede cervikale prøver
 - "QIASure Assay Profile til selvtaget børsteprøve (fra filen AP_QIASure_SelfCollectedBrush_V1_0_Y.iap)" svarer til selvtagne vaginale børsteprøver. Disse profiler kan downloades på QIASure Methylation Test-webstedet: <http://www.qiagen.com/Shop/Assay-Technologies/Complete-Assay-Kits/hpv-testing/qiasure-methylation-test-kit-eu/>. Denne Assay Profile skal importeres i Rotor-Gene AssayManager software.
- Bemærk: QIASure-kittet kan kun køre, hvis de korrekte indstillinger er konfigureret i Rotor-Gene AssayManager v1.0.


Af hensyn til systemmæssig processikkerhed skal følgende konfigurationsindstillinger angives for den lukkede tilstand:

- "Material number required" (Materialenummer påkrævet)
- "Valid expiry date required" (Gyldig udløbsdato påkrævet)
- "Lot number required" (Lotnummer påkrævet)

Installation af Epsilon Plug-in og import af analyseprofilen

Installation og import af Epsilon Plug-in og analyseprofilen er beskrevet i *Brugervejledning til Rotor-Gene AssayManager Core Application* og *Brugervejledning til Epsilon Plug-in*.

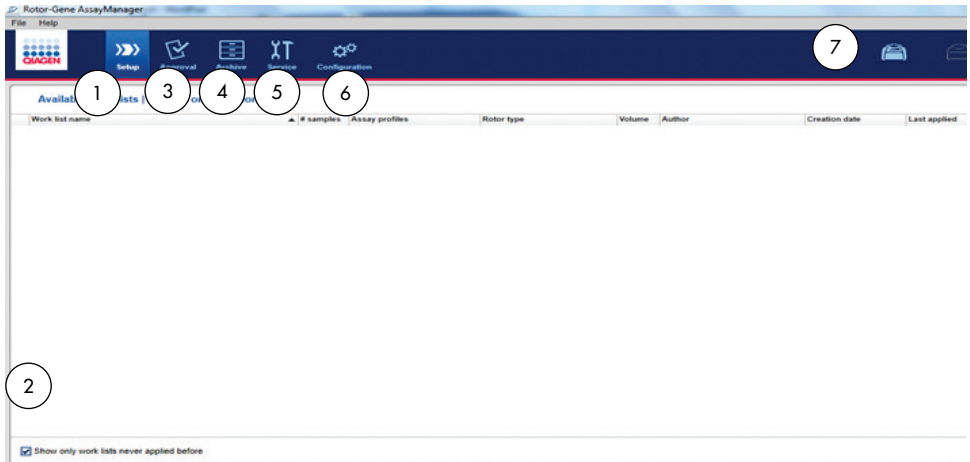
- Download både Epsilon Plug-in og den nyeste version af QIASure Assay Profile fra QIAGEN-webstedet.
- Start installationsprocessen ved at dobbeltklikke på filen ArtusBasic.Installation.msi, og følg installationsvejledningen. Se afsnittet "Installation af plug-ins" i *Brugervejledning til AssayManager Core Application* for at få en detaljeret beskrivelse af denne proces. Bemærk: Vælg fanen Settings (Indstillinger), og markér boksene ud for Material number required (Materialenummer påkrævet), Valid expiry date required (Gyldig udløbsdato påkrævet) og Lot number required (Lotnummer påkrævet) for den lukkede tilstand (arbejdslistesektion) af hensyn til systemmæssig processikkerhed. Klik for at aktivere dem, hvis disse ikke er aktiverede (markerede).
- Efter en vellykket installation af plug-in'et skal en person med administratorrettigheder til Rotor Gene AssayManager-softwaren importere analyseprofilen AP_QIASure_V1_0_Y.iap på følgende måde.

1. Åbn Rotor-Gene AssayManager-softwaren ved at klikke på ikonet.  Rotor-Gene AssayManager-vinduet åbnes (se Figur 1).



Figur 1. Rotor-Gene AssayManager-loginskærmbilledet.

2. Log på Rotor-Gene AssayManager med dit brugernavn og din adgangskode. Undlad at ændre tilstanden "Closed" (Lukket). Klik på OK. Skærmbilledet Rotor-Gene Assay Manager vises (se nedenfor).



- 1 Fanen Set-up (Opsætning). Denne fane gør det muligt at håndtere eller anvende arbejdslisters.
- 2 Markering af anvendte arbejdslisters viser kun nye arbejdslisters.
- 3 Fanen Approval (Godkendelse). Ved hjælp af denne fane kan du finde tidligere eksperimenter (kørsler).
- 4 Fanen Archive (Arkiv). Gør det muligt for dig at finde gamle eksperimenter (kørsler), der allerede er godkendt.
3. Vælg konfigurationsmiljøet.
4. Vælg fanen Assay Profiles (Analyseprofiler).
5. Klik på Import (Importér).
6. Vælg denne Assay Profile: AP_QIASure_CervicalScrape_V1_0_Y.iap til cervikale prøver og/eller AP_QIASure_SelfCollectedBrush_V1_0_Y.iap, der skal importeres i dialogboksen, og klik på Open (Åbn).
7. Når analyseprofilen er importeret, kan den anvendes i miljøet "Setup" (Opsætning).
 Bemærk: Samme version af en analyseprofil må ikke importeres to gange.
- 5 Fanen Service. Viser en rapport over en historikpost for hver fil, der er genereret af softwaren
- 6 Fanen Configuration (Konfiguration). Muliggør konfiguration af alle softwareparametre.
- 7 Rotor-Gene Q MDx-ikoner.



Ikke tilsluttet



Tilsluttet

Prøvebehandling ved hjælp af Rotor-Gene Q MDx-instrumenter med en 72-rotor

Ud over en kalibrator og ingen skabelonstyring kan der testes op til 70 bisulfitkonverterede DNA-prøver inden for samme eksperiment. Skemaet i Tabel 1 indeholder et eksempel på isætningsblokken eller rotoropsætningen til en kørsel med QIASure Methylation Test. Tallene angiver positioner i isætningsblokken og indikerer den endelige rotorposition.

Tabel 1. Plade- og rotoropsætning til kørsel med QIASure-kittet vha. Rotor-Gene Q MDx-instrumentet

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



Rør skal indsættes i rotoren som det fremgår af Tabel 1. Det automatiserede analysesæt i den pågældende Assay Profile er baseret på denne organisation. Hvis der anvendes et andet layout, opnås der afvigende resultater.

Bemærk: Opfyld alle ubrugte positioner med tomme rør.

PCR på Rotor-Gene Q MDx-instrumenter med 72-rørs rotor

Før kittet bruges første gang, foretages en opvarmningskørsel af Rotor-Gene Q MDx 5-plex HRM ved 95 °C i 10 minutter.

1. Opret en arbejdsliste for den prøve, der skal behandles, på følgende måde:

- 1a. Tænd Rotor-Gene Q MDx-instrumentet.
- 1b. Åbn Rotor-Gene AssayManager-softwaren, og log på som bruger med operatørrollen i den lukkede tilstand.
- 1c. Klik på New work list (Ny arbejdsliste) i arbejdslisteoversigten (miljøet "Setup" (Opsætning)).
- 1d. Vælg QIAure Assay Profile (QIAure Analyseprofil) på listen over tilgængelige analyseprofiler.

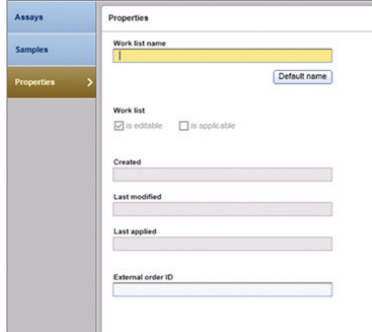
Bemærk: Analyseprofilen AP_QIAure_CervicalScrape_V1_0_Y.iap svarer til cervikale prøver, mens AP_QIAure_SelfCollectedBrush_V1_0_Y.iap svarer til selvtagne vaginale børstprøver.

Bemærk: Det er kun muligt at teste én prøvetype pr. eksperiment.

- 1e. Klik på Move (Flyt) for at overføre den valgte analyseprofil til listen Selected assay profiles (Valgte analyseprofiler). Analyseprofilen vises nu på listen "Selected assay profiles" (Valgte analyseprofiler).
- 1f. Angiv antallet af prøver i det tilsvarende felt.
- 1g. Angiv følgende oplysninger om QIAure-kittet, som står på låget af æsken.
 - Materialenummer: 1102417
 - Gyldig udløbsdato i formatet ÅÅÅÅ-MM-DD

- Lotnummer

- 1h. Vælg trinnet Samples (Prøver). En liste med yderligere oplysninger om prøverne vises på skærbilledet AssayManager. Denne liste repræsenterer det forventede layout af rotoren.
- 1i. Indtast prøveidentifikationsnummer/-numre i denne liste samt eventuelle valgfri prøveoplysninger såsom en kommentar til hver prøve.
- 1j. Vælg trinnet Properties (Egenskaber), og indtast et arbejdslistenavn (Figur 2).



Figur 2. Egenskaber.

- 1k. Markér afkrydsningsfeltet is applicable (skal anvendes), og klik på Apply (Anvend).
- 1l. Gem arbejdslisten.

Arbejdslisten kan udskrives, hvilket kan være en hjælp ved klargøring og opsætning af PCR. Tryk på knappen Print work list (Udskriv arbejdsliste) for at udskrive arbejdslisten. Prøveoplysningerne medtages som en del af denne arbejdsliste.

Bemærk: Arbejdslisten kan oprettes, når kørslen er indstillet på instrumentet. Listen kan også gemmes, før du fjerner prøverne til instrumentet.

2. Konfigurer QIASure-kørslen.

For at minimere risikoen for PCR-reaktionskontaminering anbefales det kraftigt, at du anvender et PCR-kabinet med UV-bestrålingsfunktion.

QIASure Master Mix skal blandes i et område, som er adskilt fra det område, der bruges til udførelsen af DNA-bisulfitkonverteringsreaktion.

Rengør arbejdsbordet, pipetter og rørracket før brug med en DNA-nedbrydende opløsning for at kontaminere af skabelonen eller af nukleasen.

Bemærk: Skift spidser mellem hvert rør for at undgå kontaminering på grund af en uspecifik skabelon eller en reaktionsblanding, der kan medføre falske positive resultater.

- 2a. Optø QIASure Master Mix og QIASure Calibrator fuldstændigt, og beskyt så vidt muligt QIASure Master Mix mod sollys.
Bemærk: Overskrid ikke 30 minutter for optøningstrinnet for at undgå eventuel nedbrydning af materiale.
 - 2b. Bland forsigtigt ved invertering 10 gange, og centrifuger kortvarigt før brug.
 - 2c. Dispensér 17,5 µl af den brugsklare QIASure Master Mix i de relevante striprør. Reaktionsopsætningen må udføres ved stuetemperatur.
 - 2d. Sæt QIASure Master Mix tilbage i fryseren for at undgå nedbrydning af materiale.
 - 2e. Flyt rørene til et særskilt område for at dispensere analysekontrollerne og de bisulfitkonverterede prøver.
 - 2f. Tilsæt 2,5 µl vand til ikke-skabelonkontrol (no template control, NTC) til position 2 (se Tabel 1 ovenfor). Bland forsigtigt ved at pipettere op og ned.
 - 2g. Tilsæt 2,5 µl QIASure Calibrator til position 1 (se Tabel 1 ovenfor). Bland forsigtigt ved at pipettere op og ned, og luk røret med en hætte.
 - 2h. Tilsæt 2,5 µl af det bisulfitkonverterede DNA i det tilsvarende rør. Bland forsigtigt ved at pipettere op og ned.
 - 2i. Sæt hætter på rørene, når du har fyldt et sæt med 4 rør.
Bemærk: PCR-rørene kan opbevares mørkt i 30 minutter mellem pipetteringsprøverne i PCR-rørene og starten på eksperimentet i maskinen ved 2-8 °C.
 - 2j. Sæt QIASure Calibrator tilbage i fryseren for at undgå nedbrydning af materiale.
Bemærk: Skift spidser mellem hvert rør for at undgå kontaminering på grund af en uspecifik skabelon eller en reaktionsblanding, der kan medføre falske positive resultater.
3. Klargør Rotor-Gene Q MDx, og start en kørsel (eksperimentet) på følgende måde:
 - 3a. Anbring en rotor med 72 brønde på rotorholderen.
 - 3b. Fyld rotoren med striprør i henhold til de tildelte positioner, startende i position 1, som vist i Tabel 1 med tomme rør med låg i alle positioner, der ikke skal anvendes.

Bemærk: Kontrollér, at det første rør er sat i position 1, og at striprørene er anbragt i den rigtige retning og position som vist i Tabel 1.

3c. Montér låseringen.

3d. Sæt rotoren og låseringen i Rotor-Gene Q MDx instrument, og luk instrumentlåget.

3e. Vælg i Rotor-Gene AssayManager v1.0 enten den tilhørende arbejdsliste fra arbejdslisteoversigten, og klik på Apply (Anvend), eller klik på Apply (Anvend), hvis arbejdslisten stadig er åben.

Bemærk: Hvis der ikke er oprettet en arbejdsliste til kørslen, kan du logge på Rotor-Gene AssayManager v1.0 og følge trin 1, før du fortsætter.

3f. Indtast navnet på kørslen (eksperimentet).

3g. Vælg den cyclus, der skal anvendes, på listen *Cyclus selection* (Vælg cyclus).

3h. Vælg korrekt montering af låsering, og bekræft på skærmen, at låseringen er monteret.

3i. Klik på *Start experiment* (Start eksperiment).

Nu burde QIASure Methylation Test-kørslen starte.

4. Når kørslen er afsluttet, skal du klikke på *Finish run* (Afslut kørsel).

5. Frigiv og godkend kørslen.

- En bruger, der er logget ind med rollen Approver (Godkender), skal klikke på *Release and go to approval* (Frigiv og fortsæt til godkendelse).
- En bruger, der er logget ind med rollen Operator (Operatør), skal klikke på *Release* (Frigiv).

6. Resultater af frigivelse

- Hvis der klikkes på *Release and go to approval* (Frigiv og fortsæt til godkendelse), vises resultaterne for eksperimentet.
- Hvis der klikkes på *Release* (Frigiv) af en bruger med brugerrolle, skal en bruger med rollen "Approver" (Godkender) logge ind og vælge miljøet "Approval" (Godkendelse).
- Filtrer analysen, der skal godkendes ved at vælge filtreringsindstillingerne og klikke på *Apply* (Anvend).
- Gennemgå og godkend resultaterne af hver enkelt testprøve.

Naviger til den prøve, der skal godkendes på tabellen "Results" (Resultater). De prøveresultater, som skal godkendes, har tre alternativknapper for enden af deres række. Accepter eller afvis hvert prøveresultat.

Bemærk: Et resultat, der automatisk indstilles til INVALID (Ugyldigt) af Rotor-Gene AssayManager, kan ikke længere konverteres til et gyldigt resultat, heller ikke selv om resultatet afvises.

Valgfrit: Indtast en kommentar i kolonnen "Sample comment" (Prøvekommentar).

- Klik på Release/Report data (Frigiv/rapportér data).
- Klik på OK. Rapporten genereres i Adobe Portable Document-format (.pdf) og gemmes automatisk i den foruddefinerede mappe. Mappedstien er som standard: QIAGEN > Rotor-Gene AssayManager > Export > Reports.

Bemærk: Denne sti og mappe kan ændres i miljøet "Configuration" (Konfiguration).

- Gå til Archive (Arkiv) for at eksportere .rex-filen med rådata. Find dit eksperiment vha. filtreringen, og klik på Show assays (Vis analyser). Klik derefter på filen Export.rex, og gem den ved at klikke på OK. Softwaren gemmer automatisk .rex-filen i denne foruddefinerede mappe: QIAGEN > Rotor-Gene AssayManager > Export > Experiments

Bemærk: Denne sti og mappe kan ændres på fanen Specify the .rex file export destination (Angiv eksportdestination for .rex-fil).

Bemærk: Der kræves en supportpakke fra kørslen til fejlsøgning. Supportpakker kan genereres fra miljøerne Approval (Godkendelse) eller Archive (Arkiv). Læs mere i brugervejledningen *Brugervejledning til Rotor-Gene AssayManager Core Application*, afsnittet "Troubleshooting" (Fejlsøgning) > "Creating a support package" (Oprettelse af en supportpakke) her: <https://www.qiagen.com/shop/automated-solutions/detection-and-analysis/rotor-gene-assaymanager#resources>. Desuden kan historikposten fra hændelsestidspunktet ± 1 dag være nyttig. Historikposten kan hentes i miljøet Service (*Brugervejledning til Rotor-Gene AssayManager Core Application*).

7. Tøm Rotor-Gene Q MDx-instrumentet, og kassér striprørene ifølge de lokale sikkerhedsregler.

Fortolkning af resultater

Analysen er helt automatisk.

Rotor-Gene AssayManager v1.0 analyserer først forstærkningskurver og kan ugyldiggøre ikke-konforme kurver, afhængigt af deres udformning og støjamplitude. Hvis dette er tilfældet, vil der blive knyttet et flag til den ugyldiggjorte kurve (se Tabel 2).

Rotor-Gene AssayManager v1.0 vil derefter analysere kørselskontrollerne.

- Kalibrator
- NTC

Bemærk: Den rapport, der genereres efter kørslen, viser de resultater, der er opnået på kørselskontroller med ugyldiggørende flag foran ugyldige data.

Hvis alle kontrollerne i kørslen er i overensstemmelse, vil Rotor-Gene AssayManager analysere de ukendte prøver.

Tabel 2 viser de ugyldiggørende prøveflag, der kan være tildelt til et individuelt rør under den analyse, der foretages af Rotor-Gene AssayManager v1.0, sammen med en forklaring på betydningen af dette flag.

Tabel 2. Ugyldiggørende prøveflag og beskrivelse af udtryk

Flag	Adfærd	Beskrivelse
ABOVE_ACCEPTED_RANGE	Invalid (Ugyldig)	Målværdien er højere end det definerede område. Dette kan være en C_T , endepunktsfluorescens-, koncentrations- eller beregningsværdi, f.eks. gennemsnitlig C_T eller ΔC_T .
ASSAY_INVALID	Invalid (Ugyldig)	Analysen er ugyldig, fordi mindst én ekstern kontrol er ugyldig.

BELOW_ACCEPTED_RANGE	Invalid (Ugyldig)	Målværdien er lavere end det definerede område. Dette kan være en C_T , endepunktsfluorescens-, koncentrations- eller beregningsværdi, f.eks. gennemsnitlig C_T eller ΔC_T .
CONSECUTIVE_FAULT	Invalid (Ugyldig)	Målet, der anvendtes til beregningen af dette mål, er ugyldigt.
CURVE_SHAPE_ANOMALY	Invalid (Ugyldig)	Rådataene for forstærkningskurven har en facon der afviger fra den fastlagte adfærd for denne analyse. Der er en høj sandsynlighed for forkerte resultater eller fejlfortolkning af resultater.
FLAT_BUMP	Invalid (Ugyldig)	Rådataene for forstærkningskurven har en facon som ligner en flad bule og afviger fra den fastlagte adfærd for denne analyse. Der er høj sandsynlighed for ukorrekte resultater eller fejlfortolkning af resultater (f.eks. forkert bestemmelse af C_T -værdi).
IN_ACCEPTED_RANGE	Valid (Gyldig)	NTC viser C_T -signalværdier over 36 for mål-ACTB.
INVALID_CALCULATION	Invalid (Ugyldig)	Beregningen for dette mål mislykkedes.
MULTIPLE_THRESHOLD_CROSSING	Invalid (Ugyldig)	Forstærkningskurven krydser tærsklen mere end én gang. En utvetydig C_T kan ikke fastslås.
NO_BASELINE	Invalid (Ugyldig)	Der er ikke fundet nogen første baseline.
NO_CT_DETECTED	Variable (Variabel)	Ingen C_T blev påvist for dette mål.
NO_VALUE	Invalid (Ugyldig)	Målet har ingen værdi, men forventes at have en. Denne værdi behøver ikke at ligge inden for et bestemt område. Dette kan være en C_T , endepunktsfluorescens-, koncentrations- eller beregningsværdi, f.eks. gennemsnitlig C_T eller ΔC_T .
NORM_FACTOR_ALTERATION	Warning (Advarsel)	Afvigelse under normaliseringsproceduren. Forstærkningskurven vises med en standardnormalisering. Resultaternes korrekthed skal kontrolleres manuelt.
OTHER_TARGET_INVALID	Invalid (Ugyldig)	Et andet mål for den samme prøve er ugyldigt.
SATURATION	Invalid (Ugyldig)	Rådatafluorescensen mættes kraftigt før forstærkningskurvens knæpunkt.
SATURATION_IN_PLATEAU	Warning (Advarsel)	Rådatafluorescensen mættes i forstærkningskurvens plateaufase.

SPIKE	Warning (Advarsel)	En spids i rådatafluorescensen påvises i forstærkningskurven, men uden for området, hvor C_T er fastlagt.
SPIKE_CLOSE_TO_CT	Invalid (Ugyldig)	En spids blev påvist i forstærkningskurven ved siden af C_T .
STEEP_BASELINE	Invalid (Ugyldig)	En skarp stigning i baseline for rådatafluorescensen er påvist i forstærkningskurven.
STRONG_BASELINE_DIP	Invalid (Ugyldig)	Et skarpt fald i baseline for rådatafluorescensen er påvist i forstærkningskurven.
STRONG_NOISE	Invalid (Ugyldig)	Kraftig støj blev påvist uden for vækstfasen af forstærkningskurven.
STRONG_NOISE_IN_GROWTH_PHASE	Invalid (Ugyldig)	Kraftig støj blev påvist i vækstfasen (eksponentiel) af forstærkningskurven.
UNCERTAIN	Variable (Variabel)	Resultater fra AUDAS er i modstrid med resultaterne fra kerneanalysen. En utvetydig, automatisk evaluering af dataenes gyldighed er ikke mulig.
UNEXPECTED_CT_DETECTED	Variable (Variabel)	En C_T -værdi blev detekteret for et mål, som ikke må forstærke.
UNEXPECTED_VALUE	Invalid (Ugyldig)	Målet har en værdi, men den er ikke som forventet. Dette kan være en C_T , endepunktsfluorescens-, koncentrations- eller beregningsværdi, f.eks. gennemsnitlig C_T eller ΔC_T .
UPSTREAM	Variable (Variabel)	<p>Prøvestatus blev indstillet til Invalid (Ugyldig) eller Unclear (Uklar) af en upstreamproces (f.eks. QIAasympy). Bemærk: For prøver, der markeres som Unclear (Uklar) er Rotor-Gene AssayManagers adfærd defineret i miljøet "Configuration" (Konfiguration) i AssayManager-softwaren. "Invalid" (ugyldige) flag fra upstream-processer resulterer altid i en ugyldig tilsvarende prøve i Rotor-Gene AssayManager.</p>
WAVY_BASE_FLUORESCENCE	Invalid (Ugyldig)	En bølgeformet baseline for rådatafluorescensen er påvist i forstærkningskurven.

-
- Hvis alle kontrollerne i kørslen er gyldige, vil Rotor-Gene AssayManager v1.0 analysere de ukendte prøver. Prøven skal indeholde en minimal mængde af bisulfitkonverteret DNA, for at resultaterne kan fortolkes. Dette angives af C_T -værdien af husholdningsgenet ACTB, der skal være $\leq 26,4$ for, at en prøve kan valideres af Rotor-Gene AssayManager.
 - Derefter beregnes $\Delta\Delta C_T$ -værdierne for *FAM19A4* og *hsa-mir124-2*, og resultatet præsenteres. Hvis en $\Delta\Delta C_T$ -værdi er under grænseværdien, får målet bedømmelsen "Hypermethylation positive" (Hypermetyleringspositiv).
Bemærk: Delvise eller lave niveauer af methylering er et naturligt fænomen, der i modsætning til hypermethyleringsniveauer ikke direkte skyldes cancerudvikling.
 - En prøve anses som værende "Hypermethylation positive" (Hypermetyleringspositiv), når mindst ét af målene bedømmes sådan.

Fejlsøgningsvejledning

Denne fejlsøgningsvejledning kan være nyttig til at afhjælpe eventuelle problemer. For yderligere information henvises også til siden "Frequently Asked Questions" (Hyppigt stillede spørgsmål) hos vores tekniske supportcenter: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Derudover svarer personalet fra QIAGENs tekniske service gerne på spørgsmål vedrørende enten informationen og protokollerne i denne håndbog eller prøve- og analyseteknologier (kontaktinformation: se bagsiden, eller besøg www.qiagen.com).

Se brugervejledningen *Brugervejledningen til Rotor-Gene AssayManager Core Application* for at få oplysninger om fejlsøgning.

Generel håndtering

Koncentrationen af DNA i prøven er for lav til bisulfittkonvertering

Kontrollér DNA-ekstraktionen

Gentag DNA-ekstraktionen, men med en mere koncentreret klinisk prøve

Prøven har fået bedømmelsen ugyldig: ACTB-forstærkningen er for lav eller fraværende

a) Pipetteringsfejl eller udeladte reagenser

Kontrollér pipetteringsplanen og konfigurationen af reaktionen. Gentag PCR-kørslen.

b) Kontrollér DNA-koncentratet

Maksimer DNA-inputtet til bisulfittkonvertering. Bisulfittkonverteringsreaktionen har optimal stabilitet ved DNA-input mellem 100 ng og 2 µg

c) Kontrollér den kliniske prøves celletal i forbindelse med protokollen "Bisulfite-conversion directly on cervical specimen" (Bisulfittkonvertering direkte på cervikal prøve)

Gentag bisulfittkonverteringsreaktionen med 10 % af den cervikale prøve i PreservCyt-indsamlingsmediet (dvs. 2 ml fra 20 ml).

d) Kontrollér det bisulfittkonverterede eluat

Gentag bisulfittkonverteringen, evt. med et højere DNA-input.

Prøven bedømmes ugyldig: Målene *FAM19A4* og/eller *hsa-mir124-2* er ugyldige

Utilstrækkelig blanding.

Bland prøve- og reaktionsblanding vha. pipettering (ca. 10 gange pr. rør). Gentag prøven.

Den positiv kontrol er ugyldig: forstærkningen er for lav eller fraværende for et eller flere af målene

a) Pipetteringsfejl eller udeladte reagenser

Kontrollér pipetteringsplanen og konfigurationen af reaktionen. Gentag PCR-kørslen.

b) Delvis nedbrydelse

Opbevar kittets indhold ved -30 til -15 °C.

Undgå at nedfryse og optø mere end maksimalt tre cyklusser.

c) PCR-reagenser delvist nedbrudt

Opbevar kittets indhold ved -30 til -15 °C, og beskyt reaktionsblandingerne mod direkte lys.

Undgå gentagen nedfrysning og optøning.

d) Ombytning af striprør

Kontrollér pipetteringsplanen og konfigurationen af reaktionen.

e) Udløbsdato

Kontrollér udløbsdatoen for det anvendte kit.

f) Tidsforsinkelse mellem pipetteringsprøver og starten på kørslen

PCR-reaktionsblandinger kan opbevares ved 2-8 °C og i mørke i 30 minutter imellem dispensering af prøver i PCR-reaktionerne og start af kørslen i maskinen.

Ikke-skabelon-kontrol (No template control, NTC) er ugyldig

- | | | |
|----|---|--|
| a) | Pipetteringsfejl | Kontrollér pipetteringsplanen og konfigurationen af reaktionen. Gentag PCR-kørslen. |
| b) | Krydskontaminering | Udskift alle kritiske reagenser.
Håndter altid prøver, kitkomponenter og forbrugsvarer iht. almindeligt accepterede fremgangsmåder for at forhindre kontaminering ved overførsel. |
| c) | Reagenskontamination | Udskift alle kritiske reagenser.
Håndter altid prøver, kitkomponenter og forbrugsvarer iht. almindeligt accepterede fremgangsmåder for at forhindre kontaminering ved overførsel. |
| d) | Ombytning af stripprør | Kontrollér pipetteringsplanen og konfigurationen af reaktionen. |
| e) | Tidsforsinkelse mellem pipetteringsprøver og starten på kørslen | PCR-reaktionsblandinger kan opbevares ved 2-8 °C og i mørke i 30 minutter imellem dispensering af prøver i PCR-reaktionerne og start af kørslen i maskinen. |
| f) | Probeforringelse | Beskyt reaktionsblandinger mod lys.
Kontrollér for falsk-positive værdier på fluorescenskurven. |

Fraværende eller lave signaler prøven, men kontrollkørslen er OK

- | | | |
|----|-----------------------|---|
| a) | Hæmmende påvirkninger | Kontrollér altid, at der ikke er bufferrester efter centrifugering i filteret, når du kører bisulfitekvertering.
Gentag bisulfitekverteringen. |
| b) | Pipetteringsfejl | Kontrollér pipetteringsplanen og konfigurationen af reaktionen. Gentag PCR-kørslen. |

Hvis problemet ikke er afhjulpet, skal du kontakte QIAGENs tekniske service.

Begrænsninger

Reagenser i QIASure Methylation Test må kun anvendes til in vitro-diagnostik.

Brug af PCR-test kræver god laboratoriepraksis, herunder vedligeholdelse af udstyr, der er dedikeret til molekylærbiologi, og som overholder gældende lovgivning og relevante standarder.

Reagenser og vejledning, der medfølger i dette sæt, er valideret til optimal pålidelighed.

QIASure Methylation Test må kun anvendes af laboratoriepersonale, som er uddannet i brugen af Rotor-Gene Q MDx-instrumenterne og Rotor-Gene AssayManager v1.0.

Produktet må kun anvendes af personale, som er specielt instrueret og uddannet i teknikkerne til real-time PCR og in vitro-diagnostiske procedurer. De fremkomne diagnostiske resultater skal fortolkes i forbindelse med andre kliniske fund eller laboratoriefund.

Det er absolut nødvendigt, at anvisningerne i brugervejledningen overholdes nøje for at opnå optimale PCR-resultater.

Bemærk nøje udløbsdatoerne, der er trykt på æsken og etiketterne til alle komponenter. Brug ikke komponenter, der er for gamle.

Prøver med lav DNA-kvalitet/kvantitet (dvs. ACTB C_T-værdier, der akkurat er inden for godkendelseskriteriet; C_T-værdier fra 25 til 26,4) kan bedømmes som falske negativer. Gentaget testning af enkeltprøver anbefales. Et negativt resultat i gentagelsestesten betyder, at prøven er hypermethyleringsnegativ, mens et positivt resultat betyder, at prøven er hypermethyleringspositiv.

Alle reagenser, der leveres med QIASure Methylation Test, er udelukkende beregnet til brug sammen med de øvrige reagenser i det samme test. Ellers kan dette påvirke nøjagtigheden.

QIASure Methylation Test er valideret til HPV-positive kvinder.

QIASure Methylation Test er valideret til cervikale prøver, der indsamles og opbevares i PreservCyt- eller STM-medie, og for selvtagne vaginale børsteprøver, der indsamles og opbevares i saltvand (0,9 % w/v NaCl). QIASure Methylation Test er ikke valideret til brug med cervikale prøver, der indsamles og opbevares i prøveindsamlingsmedier med formaldehyd, f.eks. BD® Surepath® eller tilsvarende. Formaldehyd forårsager tværbindinger i DNA, som kan påvirke resultatet af QIASure Methylation Test.

Kun Rotor-Gene Q MDx er valideret til brug sammen med QIASure Methylation Test PCR-analyse.

Enhver brug til andre formål end de tiltænkte af dette produkt og/eller komponentændringer gør, at Self-screen B.V.'s garanti bortfalder.

Det er brugerens ansvar at kontrollere systemets egnethed til eventuelle procedurer, der udføres i laboratoriet og ikke er omfattet af Self-screens resultatundersøgelser.

Ydelseskarakteristik

Påvisningsgrænse (LOD)

Analysefølsomheden af QIASure Methylation Test blev fastlagt som en påvisningsgrænse (Limit of Detection, LOD) på 95 % ud fra en seriel fortyndingsserie af plasmid, som indeholder alle tre amplikonsekvenser (dvs. *ACTB*, *FAM19A4* og *hsa-mir124-2*; område: 750.000 til 0,25 kopier pr. PCR). Målenes 95 % LOD blev vurderet til den laveste plasmidfortynding, hvilket gav mindst 35 ud af 36 positive resultater ($C_T < 40$). Fire forskellige operatører udførte i alt 12 eksperimenter (1 kørsel pr. operatør pr. dag) med tre forskellige lots og tre forskellige RGQ-systemer. Hvert eksperiment omfattede testning in triplo af 11 plasmidfortyndinger. 95 %-LOD'en gav 7,5 kopier pr. PCR for alle tre forskellige mål.

Linearitet

Lineariteten af QIASure-analysen blev fastlagt ud fra dataene fra de 12 eksperimenter, der blev udført for at vurdere 95 % LOD. De to mål, *FAM19A4* og *hsa-mir124-2*, samt reference-*ACTB* udviser en lineær forstærkning fra 750.000 op til 7,5 kopier pr. PCR.

Præcision

Præcisionen af QIASure Methylation Test blev fastlagt som intraanalysevariabiliteten (variabilitet af flere prøveresultater med samme koncentration inden for samme eksperiment) og den samlede varians i analysen (variabilitet af flere analyseresultater genereret af forskellige operatører på forskellige instrumenter med forskellige batches på forskellige laboratorier). Testen blev udført på bisulfitkonverteret DNA fra en cervikal prøve med høj HPV-positiv-risiko, der testede hypermethyleringspositiv med signaler for både *FAM19A4* og *hsa-mir124-2*, hvilket svarer til ca. 3 gange LOD-koncentrationen. Testen blev udført in duplo i løbet af 8 kørsler, udført af fire forskellige operatører (én kørsel pr. operatør pr. dag) med to forskellige lots og tre forskellige RGQ-maskiner på to forskellige laboratorier, hvilket gav

16 datapunkter pr. prøve. Variationskoefficienten (coefficient of variation, CV) blev fastlagt for C_T - og $\Delta\Delta C_T$ -værdierne (Tabel 3).

Tabel 3. CV% af C_T - og $\Delta\Delta C_T$ -værdier i en metyleringspositiv cervikal prøve

	Prøvetype	Intraanalysevariabilitet	Samlet varians i analysen
C_T -værdi	Kvalitetskontrol af intern prøve (dvs. ACTB)	0,3 %	1,32 %
	<i>FAM19A4</i>	1,02 %	1,52 %
	<i>hsa-mir124-2</i>	1,16 %	1,64 %
$\Delta\Delta C_T$ -værdi	<i>FAM19A4</i>	3,70 %	5,97 %
	<i>hsa-mir124-2</i>	4,21 %	5,75 %

Den samlede statistiske spredning i en prøves C_T -værdier med den førnævnte koncentration er 1,32 % for kvalitetskontrollen af den interne prøve (ACTB), 1,52 % for *FAM19A4* og 1,64 % for *hsa-mir124-2*. Den samlede statistiske spredning i en prøves $\Delta\Delta C_T$ -værdier med den førnævnte koncentration er 5,97 % for *FAM19A4* og 5,75 % for *hsa-mir124-2*.

Interfererende stoffer

De hæmmende stoffer, der er udvalgt pga. deres potentielle indvirkning på PCR, er desulfonerings- og vaskebufferen i bisulfitkonverterings-kittet. Der blev ikke testet for stoffer, som muligvis kunne være til stede i den oprindelige prøve, eftersom prøve-DNA oprensnes to gange med silicaperler, dvs. DNA-ekstraktion fra den oprindelige prøve og DNA-rensning efter bisulfitkonvertering. Rester af desulfonerings- og vaskebufferen vidnede om interferens i PCR og blev påvist i form af et ugyldigt testresultat i kvalitetskontrollen af den interne prøve.

Klinisk ydeevne

HPV-positive cervikale prøver*

Den kliniske ydeevne af QIASure Methylation Test i forbindelse med cervikal intraepitelial neoplasi, grad 3 (CIN 3) og cervikal cancer (dvs. CIN 3+) blev vurderet via en test af 267 cervikale prøver med høj risiko for HPV** fra kvinder i alderen 18-85 år. Ni prøver (3,4 %) udviste ACTB C_T-værdier over 26,4 og blev derfor bedømt ugyldige. De 258 prøver med gyldige testresultater bestod af 117 cervikale prøver fra kvinder uden tegn på CIN 2 eller værre efter 18 måneder med opfølgende undersøgelser (forkortet ≤ CIN 1), 42 med CIN 2, 30 with CIN 3, 59 med pladeepitelkarcinom og 10 med adenokarcinom. Der blev indsamlet cervikale prøver i PreservCyt-indsamlingsmediet (Hologic). Der blev ekstraheret DNA fra de cervikale prøver, og 250 ng DNA blev anvendt som input i bisulfitkonverteringsreaktionen (EZ DNA Methylation Kit, ZYMO Research). Ud af de 250 ng modificeret DNA blev 20 % anvendt i PCR (svarende til 50 ng af det oprindelige mål-DNA/PCR). Positivitetsfrekvenserne for QIASure Methylation Test stratificeret efter klinisk endepunkt kan ses nedenfor (Tabel 4).

Tabel 4. Positivitetsfrekvenser for QIASure Methylation Test

Klinisk endepunkt	Fraktion	Positivitetsfrekvens (95 % CI)
≤ CIN 1	24/117	20,5 % (14,1-28,8)
CIN 2	16/42	38,1 % (24,8-53,4)
CIN 3	20/30	66,7 % (48,4-84,0)
Pladeepitelkarcinom	59/59	100,0 % (94,0-100,0)
Adenokarcinom	10/10	100,0 % (69,0-100,0)

Blandt de cervikale prøver med høj risiko for HPV er følsomheden for CIN 3+ 89,9 % (89/99; 95 %CI: 82,2-94,5). Karcinomfølsomheden er 100 % (69/69, 95 %CI: 94-100). †

* Lægeindsamlede cervikale prøver.

† Bemærkning: Hypermethylering af målene i prøverne fra kvinder med fremskredne CIN-læsioner og/eller cervikal cancer kan undslippe påvisning pga. variabilitet i prøvetagningen, f.eks. som følge af utilstrækkelig prøvetagning.

HPV-positive selvtagne vaginale børsteprøver

I forbindelse med selvtagne vaginale børsteprøver blev QIAure Methylation Tests kliniske ydeevne ved påvisning af cervikal intraepitelial neoplasi, grad 3 samt cervikal cancer (dvs. CIN 3+) bedømt ud fra en test af 247 vaginalprøver med høj HPV-risiko. 14 prøver (5,7 %) viste ACTB C_T-værdier >26,4 og blev derfor bedømt ugyldige. Prøverne med gyldige testresultater bestod af 148 selvtagne børsteprøver fra kvinder med ≤ CIN 1 efter 18 måneder med opfølgende undersøgelser, 24 med CIN 2, 50 med CIN 3, otte med pladeepitelkarcinom og tre med adenokarcinom. Der blev ekstraheret DNA fra vaginalprøverne, og 250 ng DNA blev anvendt som input i bisulfitkonverteringsreaktionen (EZ DNA Methylation Kit, ZYMO Research). Ud af de 250 ng bisulfitkonverteret DNA blev 20 % anvendt i PCR (svarende til 50 ng af det oprindelige mål-DNA/PCR). Positivitetsfrekvenserne for QIAure Methylation Test stratificeret efter klinisk endepunkt kan ses nedenfor (Tabel 5).

Tabel 5. Positivitetsfrekvenser for QIAure Methylation Test

Klinisk endepunkt	Fraktion	Positivitetsfrekvens (95 % CI)
≤ CIN 1	34/148	23,0 % (16,9-30,4)
CIN 2	7/24	29,2 % (14,6-49,8)
CIN 3	33/50	66,0 % (52,0-77,7)
Pladeepitelkarcinom	8/8	100,0 % (63,1-100,0)
Adenokarcinom	3/3	100,0 % (29,2-100,0)

Blandt selvtagne vaginale børsteprøver med høj HPV-risiko er følsomheden for CIN 3+ 72,1 % (44/61; 95 %CI: 59,7-81,9). Følsomheden for karcinom er 100 % (11/11; 95 %CI: 72-100).*

* Bemærkning: Hypermethylering af målene i prøverne fra kvinder med fremskredne CIN-læsioner og/eller cervikal cancer kan undslippe påvisning pga. variabilitet i prøvetagningen, f.eks. som følge af utilstrækkelig prøvetagning.

FAM19A4- og *hsa-mir124-2*-genernes evne til at påvise fremskredne og transformerede CIN-læsioner

En analyse af promoter-methylering påviser specifikt såkaldte "fremskredne" CIN-læsioner, der gemmer på en cancerlignende methyleringsprofil og har en høj risiko på kort sigt for at føre til cancer (7, 8). Pålideligheden af promoter-hypermethyleringsanalysen af *FAM19A4* og *hsa-mir124-2* blev vurderet ved at teste 29 højrisiko-HPV-prøver fra kvinder med fremskreden CIN 2/3 og 19 højrisiko-HPV-positive prøver fra kvinder med tidlige stadier af transformerende CIN 2/3. Methylering forbindes især med fremskreden sygdom og testes positiv på alle fremskredne CIN 2/3-læsioner (100 %; 29/29; 95 %CI: 88-100) hypermethyleringspositiv, sammenlignet med 47 % (9/19; 95 %CI: 27-69) af tidlige CIN 2/3-læsioner.

Robusthed

Robustheden af QIASure Methylation Test blev vurderet ud fra overensstemmelsen mellem outputtet af QIASure Methylation Test og outputtet af analyseversionen, som kun er til forskningsbrug (Research Use Only, RUO). Vurderingen blev udført på bisulfitkonverteret genomisk DNA indsamlet fra ti cervikale prøver i højrisikogruppen for HPV, hvoraf fem tidligere er påvist hypermethyleringsnegative for begge markører, og fem tidligere er påvist methyleringspositive (dvs. for mindst en af de to markører). Vurderingen blev udført in duplo på 8 kørsler og af fire forskellige operatører (én kørsel pr. operatør pr. dag) med to forskellige lots og tre forskellige Rotor-Gene Q MDx-instrumenter på to forskellige laboratorier. Dette resulterede i i alt 16 datapunkter pr. prøve (Tabel 6).

Tabel 6. Overensstemmelse mellem QIAzure Methylation Test og RUO-versionen af analysen

Prøvenummer	RUO-resultat	Overensst. ml. lab. 1 og RUO	Overensst. ml. lab. 2 og RUO
1	Neg.	100 % (8/8)	100 % (8/8)
2	Neg.	100 % (8/8)	100 % (8/8)
3	Neg.	62,5 % (5/8)	62,5 % (5/8)
4	Neg.	100 % (8/8)	100 % (8/8)
5	Neg.	100 % (8/8)	100 % (8/8)
Subtotal		92,5 % (37/40)	92,5 % (37/40)
6	Pos.	100 % (8/8)	100 % (8/8)
7	Pos.	100 % (8/8)	100 % (8/8)
8	Pos.	100 % (8/8)	100 % (8/8)
9	Pos.	100 % (8/8)	100 % (8/8)
10	Pos.	100 % (8/8)	100 % (8/8)
Subtotal		100 % (40/40)	100 % (40/40)
I alt (positiv og negativ)		96,25 % (77/80)	96,25 % (77/80)

Fire af de fem prøver, der tidligere er påvist methyleringsnegative, viste 100 % overensstemmelse, når QIAzure Methylation Test blev vurderet på begge laboratorier. Prøve 3 viste en overensstemmelse på 62,5 % (5/8) på begge laboratorier. Den observerede variation i forbindelse med *FAM19A4* med niveauer omkring analysens grænseværdi. Den samlede overensstemmelse mellem de methyleringsnegative prøver var 92,5 % (37/40).

Alle fem prøver, der tidligere er påvist methyleringspositive, viste 100 % overensstemmelse med referenceanalysen, dvs. en samlet overensstemmelse på 100 % (40/40).

Bisulfitkonvertering direkte på cervikale prøver

















Protokollen "Bisulfite-conversion directly on cervical specimens" (Bisulfitkonvertering direkte på cervikale prøver) blev godkendt i forhold til referenceprotokollen (dvs. bisulfitkonvertering med forudgående kvantitetskontrol af prøve-DNA) på 119 cervikale udskrabninger efterfulgt af QIASure Methylation Test. Succesraten for bisulfitkonvertering direkte på cervikale prøver med et cervikalprøveinput på 2,5 % var 95,8 % (114/119). Dette steg til 100 % efter gentestning af de ugyldige resultater med et cervikalprøveinput på 10 %. Overensstemmelsen mellem QIASure Methylation Test-resultaterne af de bisulfitkonverterede protokoller var 90,8 % (108/119; kappa-værdi 0,75).

Litteraturhenvisninger

1. Costello, J.F., and Plass, C. (2001) Methylation matters. *J. Med. Genet.* 38, 285–303.
2. Wilting, S.M., et al. (2010) Methylation-mediated silencing and tumour suppressive function of *hsa-mir124* in cervical cancer. *Mol. Cancer* 9, 167.
3. De Strooper, L.M., et al., (2014) Methylation analysis of the *FAM19A4* gene in cervical scrapes is highly efficient in detecting cervical carcinomas and advanced CIN2/3 lesions. *Cancer Prev. Res.* 7, 1251–7.
4. De Strooper, L.M., et al. (2014) *CADM1*, *MAL* and *mir124-2* methylation analysis in cervical scrapes to detect cervical and endometrial cancer. *J. Clin. Pathol.* 67, 1067–71.
5. De Strooper, L.M., et al. (2016) Comparing the performance of *FAM19A4* methylation analysis, cytology and HPV 16/18 genotyping for the detection of cervical (pre)cancer in high-risk HPV-positive women of a gynecologic outpatient population (COMETH study). *Int. J. Cancer* 138, 992–1002.
6. De Strooper, L.M., et al. (2016) Validation of the *FAM19A4/mir124-2* DNA methylation test for both lavage- and brush-based self-samples to detect cervical (pre)cancer in HPV-positive women. *Gynecol. Oncol.* 141, 341–7.
7. Bierkens, M. et al. (2013) *CADM1* and *MAL* promoter methylation levels in hrHPV-positive cervical scrapes increase proportional to degree and duration of underlying cervical disease. *Int. J. Cancer* 133, 1293–9.
8. Steenbergen, R.D.M. et al. (2014) Clinical implications of (epi)genetic changes in HPV-induced precancerous lesions. *Nat. Rev. Cancer* 14, 395–405.
9. Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 25, 402–8.
10. De Strooper, L.M., et al. (2018) Cervical cancer risk in HPV-positive women after a negative *FAM19A4/miR124-2* methylation test: A post hoc analysis in the POBASCAM trial with 14 year follow-up. *Int. J. Cancer* 143, 1541-1548.

Symboler

Følgende symboler kan evt. findes på emballagen og etiketten:

Symbol	Symboldefinition
	Holdbarhedsdato
	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	CE-IVD-symbol
	Indeholder tilstrækkeligt med reagenser til <N>-reaktioner
	Katalognummer
	Lotnummer
	Materialenummer
	Komponenter
	Indeholder
	Antal
Rn	R står for revision af brugsanvisningen (håndbog), og n står for revisionsnummeret
	Globalt handelsvarenummer
	Temperaturbegrænsning
	Producent
	Beskyt mod direkte lys
	Læs brugsanvisningen
	Forsigtig

Kontaktoplysninger

For teknisk bistand og yderligere information kan du gå ind på vores tekniske supportcenter på www.qiagen.com/Support, ringe på 00800-22-44-6000 eller kontakte en af QIAGENS tekniske serviceafdelinger eller lokale forhandlere (se bagsiden, eller besøg www.qiagen.com).

Bestillingsinformation

Produkt	Indhold	Kat.nr.
QIASure Methylation Test Kit	Til 72 reaktioner: 2 x Master Mix, 2 x kalibrator.	616014
Rotor-Gene Q MDx		
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System	Real-time PCR-cykler og højopløselig smelteanalysator med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør: Inklusive 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse	9002033
Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform	Real-time PCR-cykler og højopløselig smelteanalysator med 5 kanaler (grøn, gul, orange, rød, violet) plus HRM-kanal, bærbar computer, software, tilbehør: inkluderer 1 års garanti på reservedele og arbejds løn, installation og uddannelse ikke inkluderet	9002032
Tilbehør til Rotor-Gene Q MDx		
Loading Block 72 x 0.1ml Tubes	Aluminiumsblok til manuel opsætning af reaktion med en etkanalspipette i 72 x 0,1 ml rør	9018901
Strip Tubes and Caps, 0.1ml (250)	250 strips a 4 rør og hætter til 1.000 reaktioner	981103
Strip Tubes and Caps, 0.1ml (2500)	10 x 250 strips a 4 rør og hætter til 10.000 reaktioner	981106

Bestillingsinformation

Produkt	Indhold	Kat.nr.
Rotor-Gene AssayManager – til rutinetest med Rotor-Gene Q MDx-instrumenter		
Rotor-Gene AssayManager	Software til rutinetest i kombination med Rotor-Gene Q- og QIASymphony RGQ-instrumenterne. Software med enkeltbrugerlicens til installation på én computer	9022739

Opdaterede licensoplysninger og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser findes i håndbogen eller brugervejledningen til det pågældende QIAGEN-kit. Håndbøger og brugervejledninger til QIAGEN-kits kan fås via www.qiagen.com eller rekvireres hos QIAGENS tekniske service eller den lokale distributør.

Denne side er bevidst tom.

Revisionshistorik for dokumentet

Dato	Ændringer
R4, juni 2019	Reviderede organisationsdiagrammet for arbejdsgangproceduren under Princip og procedure; tilføjede EpiTect Fast 96 Bisulfite Kit under Påkrævede materialer, der ikke medfølger; reviderede indholdet af tekstboksen Sikkerhedsinformation; tilføjede oplysninger om opvarmingskørsel af RGQ MDx 5-plex HRM; reviderede afsnittet Prøveklargøring; tilføjede punkt i fejlsøgningsafsnittet; tilføjede emnet Bisulfittkonvertering direkte på cervikale prøver under Ydelseskarakteristik; opdaterede Referencer; opdaterede layout.

Aftale om begrænset licens til QIASure Methylation Test

Brug af dette produkt betyder, at enhver køber eller bruger af produktet accepterer følgende vilkår:

1. Produktet må kun anvendes i overensstemmelse med protokoller leveret med produktet og denne håndbog og kun med de komponenter, der er i kittet. QIAGEN giver ingen licens, under nogen intellektuel ejendomsret, til at bruge eller inkludere komponenterne i dette kit med komponenter, der ikke er inkluderet i dette kit, undtagen som beskrevet i de protokoller, der følger med produktet, denne håndbog og andre protokoller, der er tilgængelige på www.qiagen.com. Nogle af disse andre protokoller er stillet til rådighed af QIAGEN-brugere for QIAGEN-brugere. Disse protokoller er ikke grundigt testet eller optimeret af QIAGEN. QIAGEN hverken garanterer for dem eller for, at de ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
2. Ud over de udtrykkeligt givne licenser giver QIAGEN ingen garanti for, at dette kit og/eller brugen af det, ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
3. Dette kit og dets komponenter er under licens til engangsbrug og må ikke genbruges, gendannes eller videresælges.
4. QIAGEN afviser specifikt alle andre licenser, udtrykte eller underforståede, end dem, der udtrykkeligt er angivet.
5. Køberen og brugeren af kittet indvilliger i ikke at tage, eller lade andre tage, skridt, der kunne føre til, eller fremme, handlinger der forbydes ovenfor. QIAGEN kan håndhæve forbuddene i denne begrænsede licensaftale ved enhver domstol og vil inddrive alle undersøgelses- og retsomkostninger, herunder advokatsalærer, i ethvert søgsmål for at håndhæve denne begrænsede licensaftale samt alle deres intellektuelle ejendomsrettigheder i forbindelse med kittet og/eller komponenterne deri.

Opdaterede licensbetingelser kan findes på www.qiagen.com.

QIASure Methylation Test produceres af Self-screen B.V.

QIASure Methylation Test produceres af Self-screen B.V. og forhandles af QIAGEN i Europa.

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, digene®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN Gruppen); BD®, SurePath® (Becton Dickinson); EZ DNA Methylation™ (Zymo Research Corp.); NanoDrop® (NanoDrop Technologies LLC); PreservCyt® (Hologic, Inc.); Qubit® (Molecular Probes, Inc.). Registrerede navne, varemærker osv., der bruges i dette dokument, er beskyttet af den relevante lovgivning, også når disse ikke er specifikt markeret som sådan.

06-2019 HB-2304-004 1117742 © 2019 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.

Bestilling www.qiagen.com/shop | Teknisk support support.qiagen.com | Websted www.qiagen.com