



### ● Pobieranie wymazów z szyjki macicy

Wymazy z szyjki macicy mają być pobierane przy pomocy zwalidowanych jałowych wymazówek lub szczoteczek typu Cervical Sampler™. Waciki zawierające komórki mogą być odcinane od reszty wymazówki i przechowywane w zamkniętej probówce wraz z odpowiednim buforem. Próbkę nie powinny być przechowywane w temperaturze otoczenia (maksimum 25°C) dłużej niż trzy dni. Po tym czasie analiza powinna być przeprowadzona w przeciągu 48 godzin lub próbki powinny być przechowywane w temperaturze -18±5°C. Próbkę nie powinny być przechowywane w roztworach denaturujących lub mających wpływ na aktywność polimerazy DNA. Powinny być przechowywane z dala od źródeł ciepła i chronione przed środowiskowymi zanieczyszczeniami. Wszystkie te działania mają zapobiec degradacji wirusowego DNA.

### ● Materiał z biopsji

Próbki nie mogą zawierać jodu ani kwasu octowego. W celu dłuższego przechowywania materiału należy go umieścić w odpowiednim roztworze niezawierającym czynników denaturujących lub wpływających na aktywność polimerazy DNA lub przechowywać w temperaturze -18±5°C. Świeży materiał z biopsji o średnicy 2-5mm powinien być dostarczony do laboratorium w przeciągu 24 godzin w odpowiednim buforze w temperaturze 25±5°C.

Nucleagena Sp. z o.o. realizuje projekt inwestycyjny pt. „Genetyczne wykrywanie wirusa HPV, skorelowanego z występowaniem raka szyjki macicy” współfinansowany przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego oraz budżetu państwa w ramach Zintegrowanego Programu Operacyjnego Rozwoju Regionalnego.



## 7 KROKÓW TESTU HPV

1. Jeśli jesteś zainteresowany zakupem testu na wykrywanie wirusa HPV prosimy o kontakt z laboratorium Nucleagena. Odpowiemy na każde Twoje pytanie.
2. Zestaw do pobrania materiału do badań zakupisz również na stronie [www.test-hpv.pl](http://www.test-hpv.pl)
3. Szczegółowe informacje na temat badania zakażeń wirusem HPV oraz wykrywania raka szyjki macicy znajdziesz na stronie [www.test-hpv.pl](http://www.test-hpv.pl)
4. Materiał do badania należy pobrać zgodnie z przekazaną instrukcją.
5. Próbkę(i) z pobranym materiałem odbierze kurier firmy przewozowej, współpracującej z laboratorium Nucleagena.
6. W laboratorium próbka jest poddana specjalistycznym badaniom w celu stwierdzenia obecności i genotypu wirusa HPV.
7. W ciągu tygodnia dostarczymy wynik testu na obecność wirusa HPV priorytetowym listem poleconym.

Producent:

**Nucleagena Sp. z o.o.** Laboratorium Genetyki Molekularnej  
ul. Pawińskiego 5a • 02-106 Warszawa  
tel.: 22 867 23 75 • faks: 22 668 71 89  
e-mail: [nucleagena@nucleagena.pl](mailto:nucleagena@nucleagena.pl)  
[www.nucleagena.pl](http://www.nucleagena.pl)

Pieczętka gabinetu lekarskiego:

**Nucleagena**   
Laboratorium Genetyki Molekularnej sp. z o.o.

**TEST**  
NA WYKRYWANIE  
WIRUSA **HPV**



## RAK SZYJKI MACICY A ZAKAŻENIE WIRUSEM HPV

Rak szyjki macicy jest drugą pod względem częstości przyczyną śmierci kobiet z powodu nowotworów złośliwych, mimo że jest wyleczalny, jeśli zostanie wcześniej zdiagnozowany. Onkogenne typy wirusa HPV są w większości przypadków bezpośrednio odpowiedzialne za raka szyjki macicy. Wczesna identyfikacja wirusa HPV umożliwia prawidłowe leczenie i profilaktykę tej choroby.

### ● Onkogenne genotypy wirusa HPV

Ludzki Papilloma wirus (HPV) jest wirusem atakującym głównie tkankę skórną i odbytowo-płciową. Wywołuje infekcję średnio u 15% narażonych osób. HPV jest wirusem DNA o wielkości genomu około 8 kb. Wirus ten powoduje powstawanie brodawek i transformację nowotworową komórek szyjki macicy, macicy i sromu. Niektóre genotypy spośród 100 zidentyfikowanych są związane z transformacją nowotworową komórek szyjki macicy. Transformacja nowotworowa wiąże się z ekspresją genów E6 i E7. Obecność genotypów 16 i 18 wskazuje na duże prawdopodobieństwo zajścia takiej transformacji. Analiza filogenetyczna i epidemiologiczna znanych genotypów pozwoliła na wytypowanie genotypów 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 i 82, które zalicza się do grupy wysokiego ryzyka. Genotyp 67 sklasyfikowano jako wysokiego ryzyka na podstawie analizy filogenetycznej. Wyodrębniono linię komórek nowotworowych szyjki macicy zawierającą wintegrowane elementy genetyczne tego genotypu. Również genotypy 26, 53 i 66 sklasyfikowano jako wysokiego ryzyka na podstawie analizy filogenetycznej. Dane epidemiologiczne także klasyfikują je jako onkogenne. Genotypy HPV 70 i 73 są różnie klasyfikowane (w zależności od przyjętego kryterium). Alternatywnie hybrydyzacja do próbek z biopsji może być przeprowadzona w celu wykrycia wirusowego DNA.

HPV nie może być hodowany w warunkach in vitro, nie istnieją zatem metody immunologiczne pozwalające na jego detekcję. Wirusowy DNA w przeciwieństwie do całych cząstek wirusa jest obecny we wszystkich warstwach nabłonka. W profilaktyce i leczeniu raka szyjki macicy wczesna i dokładna diagnostyka jest niezbędna do właściwej terapii pacjentek.

Stosowany przez laboratorium Nucleagena test **BIOPAP QTS** pozwala na identyfikację najczęściej występujących genotypów wirusa **HPV: 16, 18, 31, 33, 35, 52, 58 i 67**. Zakażenie **którymkolwiek z wyszczególnionych typów wirusa HPV stwarza wysokie ryzyko wystąpienia choroby nowotworowej**.

### ● Zalety testu BIOPAP QTS stosowanego przez laboratorium Nucleagena

Stosowany test został opracowany według Europejskiej Dyrektywy Diagnostyki In Vitro 98/79/EC, zgodnie z najwyższymi standardami jakości (ISO 9001 i ISO 13485). BIOPAP QTS otrzymał znak CE jako zestaw do rutynowej diagnostyki. **BIOPAP QTS** jest pierwszym zestawem IVD do Real-Time PCR z certyfikatem CE przeznaczonym do detekcji onkogennych genotypów HPV (16, 18, 31, 33, 35, 52, 58 i 67). **BIOPAP QTS** jest doskonałym narzędziem do regularnych badań lekarskich i detekcji HPV w próbkach klinicznych. **BIOPAP QTS mierzy ilość cząstek wirusowego DNA z większą dokładnością niż inne zestawy do diagnostyki HPV**. Dodatkowo, bezpośrednia metoda detekcji na jaką pozwala **BIOPAP QTS** daje ilościowy wynik obrazujący liczbę cząstek wirusa w badanej próbce, co pomaga przy wyborze sposobu leczenia i monitorowaniu choroby.

### ● Zasada działania testu BIOPAP QTS

Test **BIOPAP QTS** jest testem in vitro pozwalającym na ilościową identyfikację wirusowego DNA poprzez pomiar fluorescencji. DNA wirusa obecne w próbkach jest klonowane dzięki specyficznym starterom komplementarnym do sekwencji wirusowego DNA. Detekcja następuje dzięki zastosowaniu fluorescencyjnego barwnika SYBR® Green.

### ● Amplifikacja

Podczas reakcji amplifikacji para starterów (ONC1 i ONC2) hybrydyzuje do specyficznych sekwencji wirusowego DNA następujących genotypów 16, 18, 31, 33, 35, 52, 58 i 67. Detekcję umożliwia wiązanie się barwnika SYBR® Green do dwuniciowego DNA powstającego w wyniku reakcji amplifikacji. Emisja fluorescencyjnego sygnału wskazuje na obecność wymienionych onkogennych genotypów wirusa HPV. W celu ilościowego oszacowania kopii wirusowego DNA w badanej próbce stosuje się pochodną plazmidu pUC zawierającą sekwencje wirusa HPV jako pozytywną kontrolę. Plazmid ten jest również używany do wyznaczania krzywej standardowej (ilość kopii w próbce waha się od 500 do 50,000,000).



## TEST HPV

Amplifikacja DNA zachodzi dzięki aktywności termostabilnej polimerazy DNA. W obecności jonów magnezu, soli i odpowiedniej siły jonowej enzym ten wykazuje aktywność polimeryzacyjną na matrycy DNA przy obecności starterów.

DNA wirusowe jest z analizowanej próbki izolowane a następnie dodawane do mieszaniny reakcyjnej (reaction mix). W celu przygotowania próbki do analizy dodaje się HPV ONC zawierający większość reagentów z wyjątkiem polimerazy DNA (POL), chlorku magnezu (MGCL2) i SYBR® Green (SYG). Na końcu dodawana jest jałowa dejonizowana woda w celu uzyskania żądanej końcowej objętości. Gotowa do analizy próbka zawierająca wszystkie składniki i DNA wirusowe jest inkubowana w różnych temperaturach, tak aby startery mogły się przyłączyć do komplementarnych sekwencji w obrębie matrycowego DNA wirusowego. W obecności dNTPs, polimeraza DNA wydłuża startery o sekwencje komplementarne do nici matrycowej. Wielokrotne powtarzanie tego cyklu pozwala na logarytmiczny przyrost produktu reakcji, jakim jest wybrany fragment DNA wirusowego.

### ● Detekcja

Detekcja w reakcji Real-Time PCR odbywa się poprzez pomiar poziomu fluorescencji po przyłączeniu się SYBR® Green do amplifikowanej podwójnej nici wirusowego DNA. Emisja sygnału fluorescencyjnego pozwala na detekcję DNA wirusa HPV w badanej próbce. W celu ilościowej oceny ilości wirusa HPV w próbce, musi być wykonana krzywa standardowa z wykorzystaniem kontrolnego plazmidu znajdującego się w zestawie (PC ONC). Amplifikacja do wyznaczenia krzywej wzorcowej powinna być przeprowadzona w taki sam sposób, jak w przypadku próbek klinicznych.