

Adeno-Q

Real-Time PCR Kit

REF

G610002

SEZNAM VÝROBKŮ

Název kitu	SKU	Velikost balení
Adeno-Q Real-Time PCR Kit	G610002-1	50T

Předchozí REF č.: G2M707821

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

Pouze pro diagnostiku *in vitro*

Č.	Obsah	Číslo strany
1.	Účel použití	3
2.	Určený uživatel	3
3.	Princip testu	3
4.	Souhrn	3
5.	Přístroje kompatibilní se soupravou	3
6.	Dodávaný materiál	3
7.	Materiál potřebný, ale nedodávaný	4
8.	Pokyny pro uchovávání a stabilitu	4
9.	Postup testu	4
10.	Nastavení přístroje pro real-time PCR	5
11.	Interpretace výsledků testu	5
12.	Charakteristiky výkonu	6
13.	Varování a bezpečnostní opatření	7
14.	Omezení	7

Účel použití

Adeno-Q Real-Time PCR Kit je diagnostický test *in vitro* založený na technologii real-time PCR, určený k detekci specifické DNA adenoviru v klinických vzorcích (orofaryngeální a nazofaryngeální výtěry).

Určený uživatel

Test je určen k provádění laboratorním odborníkem v klinické laboratoři.

Princip testu

Adeno-Q Real-Time PCR Kit je vysoce spolehlivý a přesný diagnostický test *in vitro* pro detekci všech druhů lidského adenoviru. Díky využití technologie real-time PCR je kompatibilní s různými typy klinických vzorků, jako jsou orofaryngeální a nazofaryngeální výtěry. Souprava obsahuje fluorescenční sondy a specializované primery cílící na sekvence adenoviru, označené fluorescenčním reportérem Texas Red a zhasčecím barvivem. Její multiplexní design umožňuje současnou detekci specifické DNA adenoviru a interní kontroly v samostatných detekčních kanálech. Součástí je pozitivní kontrola se známou sekvencí DNA templátu označená barvivem Texas Red a interní kontrola označená barvivem HEX pro sledování případného selhání amplifikace. To zajišťuje přesné a spolehlivé výsledky při diagnostice infekcí adenovirem.

Souhrn

Adenoviry patří do čeledi *Adenoviridae*, neobalených virů s dvouvláknovou DNA (dsDNA). Existuje 51 imunologicky odlišných variant adenoviru, které způsobují širokou škálu lidských onemocnění, včetně respiračních onemocnění, konjunktivitidy, gastroenteritidy a neurologických onemocnění. Lidský adenovirus (HAdV) je vysoce odolný a nakažlivý. Epidemiologické charakteristiky HAdV se liší podle sérotypu. Infekce adenovirem lze v klinickém prostředí identifikovat pomocí detekce antigenu nebo testování polymerázovou řetězovou reakcí (PCR). Pro podporu diagnostiky infekcí adenovirem byla vyvinuta souprava Adeno-Q Real-Time PCR Kit. Tento molekulární diagnostický test *in vitro* využívá technologii real-time PCR ke kvalitativní detekci specifické DNA adenoviru v lidských nazofaryngeálních nebo orofaryngeálních vzorcích. Přesnou identifikaci přítomnosti DNA adenoviru tento test pomáhá zdravotnickým pracovníkům diagnostikovat respirační infekce způsobené adenovirem, což umožňuje včasnou a vhodnou léčbu.

Přístroje kompatibilní se soupravou

⚠ Zajistěte, aby všechny používané přístroje byly instalovány, kalibrovány, kontrolovány a udržovány podle pokynů a doporučení výrobce.

- QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific)
- CFX96 Real-Time PCR System (Bio-Rad)
- LightCycler® 480 System (Roche Diagnostics)
- RapiCycler 96 Real Time PCR System (Genes 2Me Private Limited)

Dodávaný materiál

Tabulka 1. (Pro 50 testů)

Obsah soupravy	Kód obsahu soupravy	Množství (G610002-1)
Adenovirus Primer & Probe Mix	G2MA3-2901-1	1 X 50 µl
Positive Control Template	G2MA3-2070-1	1 X 50 µl
qPCR Master Mix	G2MA3-0657-1	1 X 500 µl
RNase/DNase Free Water	G2MA3-0001-4	1 X 500 µl

Materiál potřebný, ale nedodávaný

- SpiNXT Tissue & body fluids Nucleic acid extraction kit (G2M131420), QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) (kat. č. 51304)
- Stolní centrifuga
- Vortexer
- Mikropipety (nastavitelné)
- Jednorázové špičky s bariérovým filtrem
- Jednorázové bezpudrové rukavice
- Systém pro real-time PCR

Pokyny pro uchovávání a stabilitu

- Souprava má dobu použitelnosti 12 měsíců od data výroby. Testovací souprava je stabilní do data expirace uvedeného na krabici soupravy a/nebo na obalu jednotlivých komponent, pokud je uchovávána podle specifikace.
- Souprava a její komponenty jsou expedovány a uchovávány při teplotě -30 °C až -10 °C.
- Provádějte experiment při pokojové teplotě (15 °C až 30 °C) a během testování uchovávejte činidla v chladicím zařízení (2 °C až 8 °C).
- Opakovanému zmrazování a rozmrazování (více než 6krát) je třeba se vyhnout.

☀️ Chraňte před přímým slunečním zářením.

Postup testu

Odběr vzorku

- Odeberte vzorky z dýchacích cest (včetně orofaryngeálních a nazofaryngeálních výtěrů) do odběrových zkumavek podle doporučených pokynů uvedených v příbalovém letáku dodávaném se soupravou pro odběr vzorků.
- Přeprava odebraného vzorku by měla probíhat v souladu s pokyny uvedenými v příbalovém letáku dodávaném se soupravou pro odběr vzorků.

Příprava vzorku

- Extrakce specifické DNA by měla být provedena podle doporučených pokynů uvedených v příbalovém letáku.

Příprava činidel

- Vyjměte a vyrovnejte všechny složky činidel této soupravy na teplotu (2 °C–8 °C) a před použitím krátce vortexujte po dobu 20 sekund.

Příprava reakční směsi

- Připravte reakční směs podle následující tabulky v oblasti pro přípravu činidel (Tabulka 2).

Tabulka 2.

Komponenty	Objem
Adenovirus Primer & Probe Mix	01 µl
qPCR Master Mix	10 µl
Vzorek DNA	05 µl
RNase/DNase Free Water	04 µl
Konečný objem	20 µl

⚠ Připravte zkumavku s qPCR reakcí na ledu a rychle přejděte k amplifikačnímu kroku. Prodloužená inkubace reakční směsi, zejména při pokojové teplotě, ovlivňuje citlivost testu. Před vložením do termocykleru zkumavky krátce zcentrifugujte. Je třeba zabránit vzniku bublin v reakční směsi, protože interferují s detekcí fluorescence.

- Pro reakci No Template Control (NTC) postupujte podle stejného nastavení reakce jako výše, přičemž vzorek DNA nahradíte vodou RNase/DNase Free Water.
- Pro reakci Positive Control (PC) postupujte podle stejného nastavení reakce jako výše, přičemž vzorek DNA nahradíte cílově specifickou pozitivní kontrolou.

Nastavení přístroje pro real-time PCR

- Před nastavením programu na jakémkoli přístroji pro real-time PCR se řiďte uživatelskou příručkou příslušného přístroje.
- Níže je uveden příklad nastavení přístroje BioRad CFX96.

Nastavení PCR přístroje

- Vložte zkumavku/destičku s PCR reakcí do přístroje. Nastavte No Template Control (NTC), pozitivní kontrolu a testovaný vzorek v pořadí.

Nastavení kanálů fluorescence

- Definujte následující nastavení pro výběr kanálu detekce fluorescence (Tabulka 3).

Tabulka 3.

Cíl	Reportér	Zhášec
Adenovirus	Texas Red	Žádný
Interní kontrola	HEX	Žádný

Nastavení teploty a cyklů PCR

- Definujte následující nastavení teplotního profilu a PCR cyklů. Uložte soubor a spusťte reakci (Tabulka 4).

Tabulka 4.

Fáze	Počet cyklů	Teplota (°C)	Čas (min:sec)
Denaturace	1	95	03:00
Cyklická denaturace, annealing a extenze	40	95	00:15
		60*	01:00

*Data amplifikace jsou sbírána při 60 °C po dobu 40 cyklů pro cílové kanály – Texas Red a HEX.

- Po nastavení uložte soubor a spusťte program reakce.

Interpretace výsledků testu

- Hodnota Ct ≤ 35 by měla být považována za mezní hodnotu (cut-off) pro odlišení pozitivních a negativních vzorků. Hodnota nižší nebo rovna 35 se považuje za pozitivní.

Validace interní kontroly

- Vyberte „testované vzorky“ pro analýzu interní kontroly. Vyberte barvivo HEX a zobrazte graf amplifikace interní kontroly. Interní kontrola by se neměla amplifikovat v No Template Control. Pozdní šumový graf amplifikace HEX v jamkách No Template Control ignorujte.

Validace Positive Control Template a NTC

- Vyberte jamky No Template Control a Positive Control Template, zvolte kanál Texas Red a HEX a zobrazte graf amplifikace. Křivka NTC musí být plochá bez hodnoty Ct. V případě potřeby upravte hodnotu prahu (threshold) těsně nad NTC. PC musí amplifikovat s hodnotou Ct ≤ 28 pro kanál Texas Red a HEX.
- Absence amplifikace v NTC značí, že nedošlo ke kontaminaci činidel ani experimentálního prostředí a že pipetování bylo provedeno správně.

- Amplifikace v PC potvrzuje, že byly dodrženy předepsané podmínky uchovávání činidel a parametry reakce.

Kvalitativní interpretace výsledků

- V kanálu Texas Red a HEX postupně vyberte jamky testovaných vzorků a analyzujte amplifikační grafy. Pro kvalitativní interpretaci výsledků se řiďte následující tabulkou (Tabulka 5).

Tabulka 5.

Cíl	qPCR signál		
<i>Patogen adenovirus (Texas Red)</i>	+	-	-
<i>Positive Control Template (Texas Red a HEX)</i>	+	+	-
<i>No Template Control (NTC)</i>	-	-	-
<i>Interní kontrola (HEX)</i>	+/-	+	-
Výsledek	Pozitivní výsledek pro adenovirus	Negativní výsledek	Neplatný výsledek

⚠ Pro diagnostické účely by měly být výsledky vždy používány v kombinaci s dalšími lékařskými nálezy, jako jsou symptomy, výsledky jiných testů, klinický dojem apod. Pokud jsou výsledky v rozporu s klinickými nálezy, doporučuje se provést doplňující testování k potvrzení výsledku.

Charakteristiky výkonu

Tabulka 6.

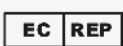
Č.	Parametry	Pozorování
1.	Analytická senzitivita	100 %
2.	Analytická specifita	100 %
3.	Pravdivost (bias)	99 %
4.	Přesnost (opakovatelnost)	CV < 2 %
5.	Přesnost (reprodukovatelnost)	CV < 2 %
6.	Správnost (vyplývající z pravdivosti a přesnosti)	99 %
7.	Meze detekce a kvantifikace	LOD: 41 kopií/ml
8.	Měřicí rozsah	11 – 10 ⁹ kopií/reakci
9.	Linearita	R ² = 0,999
10.	Mezní hodnota (Cut-off)	Hodnota Ct: ≤ 35
11.	Kritéria pro odběr a manipulaci se vzorky	Vhodné pokyny pro manipulaci
12.	Identifikace a kontrola známých relevantních endogenních a exogenních interferujících látek (testováno s krví, nosními spreji a antibakteriálními léky; nebyl zjištěn žádný negativní dopad)	Dobře kontrolováno
13.	Zkřížené reakce (chřipka A/B, RSV, SARS-CoV-2 a <i>Mycobacterium tuberculosis</i>)	Žádná zkřížená reaktivita
14.	Klinická senzitivita	99 %
15.	Klinická specifita	99,33 %

Varování a bezpečnostní opatření

- Před použitím si pečlivě přečtěte tento návod k použití (IFU) a seznámte se s postupy obsluhy a bezpečnostními opatřeními.
- Pracovní plocha by měla být pravidelně dezinfikována 1 % roztokem chlornanu sodného nebo 75 % etanolem.
- Nepoužívejte komponenty soupravy po datu jejich expirace.
- Při provádění testu používejte jednorázovou zástěru, rukavice a masku.
- Vzorky by měly být zcela dávkovány do reakční směsi a žádný vzorek by neměl ulpívat na stěně zkumavky.
- Dodržujte nezbytná opatření v souladu s bezpečnými laboratorními postupy při manipulaci se vzorky a přístroji, protože testované vzorky jsou klasifikovány jako nebezpečné.
- Bylo prokázáno, že heparin inhibuje PCR. Nepoužívejte s tímto postupem heparinizované vzorky. Spolehlivost výsledků závisí na řádném odběru vzorků a správných postupech přepravy.
- Používejte běžná laboratorní bezpečnostní opatření. Při manipulaci se vzorky a činidly soupravy používejte jednorázové rukavice a laboratorní pláště.
- Po manipulaci se vzorky a činidly soupravy si důkladně umyjte ruce.
- Činidlo s enzymem a primery/sondami obsahuje v pufru syntetický oligonukleotid. Zabraňte styku činidla s kůží, očima a sliznicemi, což by mohlo způsobit kožní podráždění. Při styku s těmito činidly omyjte postižené místo vodou. Při rozlití těchto činidel postupujte podle vhodných postupů pro zvládání rozlití.
- NEZAMĚŇUJTE, NEMÍCHEJTE ani nekombinujte činidla ze souprav s různými čísly šarží.
- Zabraňte mikrobiální a nukleázové kontaminaci činidel a zajistěte, aby byly případné sraženiny rozpuštěny.
- Všechny testované vzorky musí být považovány za potenciálně infekční nebo biologicky nebezpečné a při manipulaci se vzorky a přístroji musí být dodržována všechna nezbytná opatření v souladu s bezpečnými laboratorními postupy.
- Podmínky uchovávání činidel musí být striktně dodržovány, aby byla zajištěna deklarovaná funkčnost soupravy.
- Nedotýkejte se vnitřku jamek cartridge; používejte sterilní pipetovací špičky a rukavice.
- Zabraňte kontaminaci činidel a vzorků heparinem, protože může interferovat s výsledky testu.

Omezení

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

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



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



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