

M.Pox(VZV)-Q

Real-Time PCR Kit

REF

G610011

SEZNAM VÝROBKŮ

Název kitu	SKU	Velikost balení
M.Pox(VZV)-Q Real-Time PCR Kit	G610011-4	50T

Předchozí REF č.: G2M705821

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	6
12.	Charakteristiky výkonu	8
13.	Varování a bezpečnostní opatření	9
14.	Omezení	10

Účel použití

M.pox (VZV)-Q Real-Time PCR Kit je kvalitativní diagnostický test *in vitro* určený k detekci DNA viru Monkeypox a DNA viru Varicella Zoster (VZV) v extrahovaných lidských klinických vzorcích, jako je povrch lézí a krusty lézí, s využitím technologie real-time PCR. Testování touto soupravou je určeno pro použití poloodborným laboratorním personálem za vhodných laboratorních podmínek.

Určený uživatel

Test je určen k provádění laboratorním odborníkem v klinické laboratoři.

Princip testu

M.Pox(VZV)-Q Real-Time PCR Kit je navržen jako multiplexní test real-time PCR, který obsahuje specifické primery a sondy pro detekci a rozlišení viru Monkeypox (Clade I a II) pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) v systému pro real-time PCR. Multiplexní detekční systém real-time PCR zahrnuje pár primerů a sond pro interní kontrolu.

Souhrn

M.Pox(VZV)-Q Real-Time PCR Kit je diagnostický test *in vitro* určený ke kvalitativní detekci a rozlišení DNA viru Varicella-zoster (VZV) a viru Monkeypox (Mpox) v klinických vzorcích, jako jsou vezikulární výtěry, krusty lézí nebo jiné vhodné vzorky od jedinců s podezřením na vezikulární nebo pustulární vyrážkové onemocnění. VZV, vysoce nakažlivý virus z čeledi Herpesviridae, způsobuje varicelu (plané neštovice) při primární infekci a herpes zoster (pásový opar) při reaktivaci, což činí včasnou a přesnou detekci klíčovou pro management pacienta. Mpox, obalený dvouvláknový DNA virus z rodu Orthopoxvirus, je zoonotická infekce, která se může šířit ze zvířat na člověka a mezi lidmi, přičemž obvykle způsobuje horečku, lymfadenopatii a vezikulo-pustulární vyrážku. Test využívá technologii real-time PCR ke specifické amplifikaci a detekci genomových cílů jedinečných pro VZV a Mpox, což umožňuje spolehlivé rozlišení těchto klinicky podobných infekcí. Souprava obsahuje interní kontrolu ke sledování kvality vzorku, účinnosti extrakce a výkonu amplifikace. Je určena pro použití vyškolenými laboratorními odborníky v klinických a veřejných zdravotnických laboratořích vybavených přístroji pro real-time PCR a není určena pro samovyšetření nebo použití v blízkosti pacienta.

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 (G610011-4)
M.Pox Primer and Probe Mix	G2MA3-2372-1	1 X 50 µl
Positive Control Template	G2MA3-2373-1	1 X 50 µl
qPCR Master Mix	G2MA3-0657-1	1 X 500 µl
RNase/DNase Free Water	G2MA3-0001-1	1 X 1 ml

Materiál potřebný, ale nedodávaný

- MagNXT Tissue & body fluids Nucleic acid extraction kit (G2M212121) Genes 2Me Private Limited nebo QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen)
- Stolní centrifuga
- Vortexer
- Mikropipety (nastavitelné)
- Jednorázové špičky s bariérovým filtrem
- Jednorázové bezpudrové rukavice
- Systém pro real-time PCR
- 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 výtěrové vzorky (povrch lézí a krusty lézí) do VTM nebo vzorky séra podle místních standardních pokynů.
- Přeppravujte vzorky při teplotě 2-8 °C a uchovávejte při 4 °C.
- Postříkejte uzavřený obal obsahující vzorek 75 % etanolem v biologicky bezpečnostním boxu.

Příprava vzorku

- Extrakce cílové DNA z odebraných vzorků by měla být provedena podle doporučeného návodu dodaného s extrakční soupravou.

Příprava činidel

- Vyjměte a vyrovnejte všechny složky činidel této soupravy na okolní 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.

Obsah soupravy	Objem
qPCR Master Mix	10 µl
M.Pox Primer and Probe Mix	01 µl
RNase/DNase Free Water	04 µl
Vzorek DNA	05 µl
Konečný objem	20 µl

- 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 Positive Control Template ve zkumavce.

Nastavení přístroje pro real-time PCR

- Před nastavením programu na jakémkoli přístroji pro real-time PCR se řiďte uživatelskou příručkou příslušného přístroje.

Nastavení PCR přístroje

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

Nastavení kanálů fluorescence

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

Tabulka 3.

Cíl	Reportér	Zhášeč
Monkeypox Clade I	FAM	Žádný
Monkeypox Clade II	Cy5	Žádný
Interní kontrola	HEX	Žádný

Nastavení teploty a cyklů PCR

- Definujte následující nastavení pro teplotní profil a PCR cykly. 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*	00:60

⚠ Zkumavku s qPCR reakcí připravte na ledu a rychle přejděte k amplifikačnímu kroku. Prodloužená inkubace reakční směsi, zejména při pokojové teplotě, ovlivňující citlivost testu. Zkumavky před vložením do termocykleru krátce zcentrifugujte. Je třeba zabránit vzniku bublin v reakční směsi, protože interferují s detekcí fluorescence.

*Data amplifikace jsou sbírána při 60 °C po dobu 40 cyklů pro příslušné cílové kanály – FAM, Cy5 a HEX.

- Po nastavení výše uvedených podmínek uložte soubor a spusťte program reakce.

Interpretace výsledků testu

- Hodnota Ct nižší nebo rovna ≤ 35 by měla být považována za mezní hodnotu (cut-off) pro rozlišení mezi pozitivními a negativními výsledky. Hodnota nižší nebo rovna ≤ 35 je považována za pozitivní.

Validace interní kontroly

- Pro analýzu interní kontroly vybírejte pouze „testované vzorky“. Vyberte barvivo HEX a zobrazte graf amplifikace interní kontroly. Interní kontrola by neměla být amplifikována v NTC. Pozdní šumový amplifikační graf HEX v jamce NTC ignorujte.

Validace Positive Control a No Template Control

- Vyberte jamky Negative a Positive control, vyberte kanály FAM, Cy5 a HEX a zobrazte graf amplifikace. NTC musí být plochá bez hodnoty Ct. V případě potřeby upravte prahovou hodnotu těsně nad NTC. PC musí být amplifikována s hodnotou Ct ≤ 28 pro kanál FAM, Cy5 a HEX. Žádná amplifikace v NTC znamená absenci kontaminace v reagentech a experimentálním prostředí, jakož i správné pipetování.
- Amplifikace v PC potvrzuje, že byly dodrženy předepsané podmínky uchovávání reagentů a parametry reakce.

Kvalitativní interpretace výsledků

- V kanálu FAM, Cy5 a HEX postupně vyberte jamky testovaného vzorku a analyzujte amplifikační grafy. Pro kvalitativní interpretaci výsledků se řiďte níže uvedenou tabulkou (Tabulka 5).

Tabulka 5.

Cílové organismy		Signál qPCR			
Monkey Pox - Clade I (FAM)	+	-	-	-	
Monkey Pox - Clade II (Cy5)	-	+	-	-	
Positive Control (FAM, Cy5 a HEX)	+	+	+	-	
Interní kontrola (HEX)	+/-	+/-	+/-	-	
No Template Control (NTC)	-	-	-	+/-	
Výsledek		Pozitivní výsledek na specifickou DNA Monkeypox Clade I	Pozitivní výsledek na specifickou DNA Monkeypox Clade II	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, klinické dojmy apod. Pokud jsou výsledky v rozporu s klinickými důkazy, doporučuje se provést doplňující testování k potvrzení výsledku.

Charakteristiky výkonu

Tabulka 6.

Č.	Parametry	Pozorování
1	Přesnost	Opakovatelnost v rámci běhu
2		Opakovatelnost mezi dny
3		Reprodukovatelnost mezi pracovišti
4		Reprodukovatelnost mezi obsluhou
5	Meze detekce (analytická citlivost)	LOD: 200 kopií/ml
6	Analytická specifická	Studie interference
7		Studie zkřížené reaktivity
8	Klinická citlivost	98 %
9	Klinická specifická	99 %

Varování a bezpečnostní opatření

- Před použitím si pečlivě přečtete tento návod k použití (IFU) a seznamte 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 plášť.
- 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 zvládnutí 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 vnitřních stěn jamek cartridge; používejte sterilní pipetovací špičky a rukavice.
- Zabraňte kontaminaci reagentů a vzorků heparinem, neboť může ovlivnit 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