STI-Q

Real-Time PCR Kit

REF	G610026

SEZNAM VÝROBKŮ

Název kitu	SKU	Velikost balení
STI-Q Real-Time PCR Kit	G610026-4	50T

Předchozí REF č.: G2M709121

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	3
8.	Pokyny pro uchovávání a stabilitu	4
9.	Postup testu	4
10.	Nastavení přístroje pro real-time PCR	4
11.	Interpretace výsledků testu	5
12.	Charakteristiky výkonu	8
13.	Varování a bezpečnostní opatření	9
14.	Omezení	10

Účel použití

STI-Q Real-Time PCR Kit je diagnostický test *in vitro*, založený na technologii real-time PCR, pro detekci patogenů způsobujících STI infekce v různých klinických vzorcích.

Určený uživatel

Test je určen k provádění laboratorním odborníkem v klinické laboratoři.

Princip testu

STI-Q Real-Time PCR Kit je multiplexní test využívající technologii real-time PCR. Skládá se ze čtyř zkumavek, z nichž každá je určena pro specifickou amplifikaci DNA dvanácti sexuálně přenosných infekcí (STI) a obsahuje interní kontrolu. Tyto zkumavky obsahují specifické primery, sondy, reagencie a enzymy nezbytné pro amplifikaci z extrahované DNA získané z lidských klinických vzorků. Fluorescence emitovaná během amplifikace PCR, po rozštěpení sondy, je měřena systémy real-time pro přesnou detekci.

T1: Obsahuje specifické primery a sondy pro detekci *Chlamydia trachomatis* (značená FAM), *Trichomonas vaginalis* (značená Texas Red), *Neisseria gonorrhoeae* (značená HEX), IC (značená Cy5).

T2: Obsahuje specifické primery a sondy pro detekci *Ureaplasma urealyticum* (značená FAM), *Mycoplasma hominis* (značená Texas Red), *Ureaplasma parvum* (značená HEX), IC (značená Cy5).

T3: Obsahuje specifické primery a sondy pro detekci *Mycoplasma genitalium* (značená FAM), Herpes Simplex Virus-HSV-1 a HSV-2 (značená Texas Red), *Treponema pallidum* (značená HEX) a IC (značená Cy5).

T4: Obsahuje specifické primery a sondy pro detekci *Candida albicans* (značená FAM), *Haemophilus ducreyi* (Texas Red), *Toxoplasma gondii* (značená HEX), IC (značená Cy5).

Souhrn

Sexuálně přenosné infekce (STI) jsou způsobeny různými patogeny, včetně bakterií, virů a parazitů, a mohou vést k řadě onemocnění. Mezi běžné STI patří kapavka, syfilis, genitální herpes, např. Herpes Simplex Virus (HSV), lidský papilomavirus (HPV), trichomoniáza a HIV/AIDS. Tyto infekce se obvykle přenášejí sexuálním kontaktem, včetně vaginálního, análního a orálního styku. STI mohou vést k různým zdravotním komplikacím, včetně neplodnosti, zánětlivého onemocnění pánve, genitálních bradavic, karcinomu děložního čípku a HIV/AIDS. Včasná detekce a léčba STI je zásadní pro zamezení šíření infekce a snížení rizika dlouhodobých zdravotních následků. Diagnostika STI často zahrnuje odběr vzorků, jako jsou genitální výtěry, vzorky moči nebo vzorky krve, pro laboratorní testování, včetně testů na bázi PCR, jako je STI-Q Real-Time PCR Kit, který umí detekovat více patogenů STI současně z lidských klinických vzorků.

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 (G610026-4)
Primer and Probe Mix (T1)	G2MA3-1828-1	1 X 50 µl
Primer and Probe Mix (T2)	G2MA3-1829-1	1 X 50 µl
Primer and Probe Mix (T3)	G2MA3-1830-1	1 X 50 µl
Primer and Probe Mix (T4)	G2MA3-1831-1	1 X 50 µl
Positive Control Template	G2MA3-2829-1	1 X 200 µl
qPCR Master Mix	G2MA3-0658-2	2 X 1 ml
RNase/DNase Free Water	G2MA3-0001-2	1 X 1,5 ml

Materiál potřebný, ale nedodávaný

- SpiNXT Tissue & body fluids Nucleic acid extraction kit (G2M131420) NEBO MagNXT Tissue & body fluids Nucleic acid extraction kit (G2M212121) (Genes 2Me Private Limited)
- QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen)

- Table Top Centrifuge
- 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 exspirace 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

- Odebírejte vzorky krve, moči nebo výtěru do odběrových zkumavek podle doporučených pokynů uvedených v soupravě.
- Vzorky zpracujte do 72 hodin, ideálně do 36 hodin, pro dosažení přesných výsledků.
- Se vzorky zacházejte a uchovávejte je opatrně, aby byla zachována jejich stabilita.
- Zajistěte stálou teplotu během přepravy, aby nedošlo ke změnám.

Příprava vzorku

- Extrakce specifické DNA by měla být provedena podle doporučených pokynů uvedených na příbalovém letáku extrakční soupravy.

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.

Komponenta	Zkumavka 1	Zkumavka 2	Zkumavka 3	Zkumavka 4
qPCR Master Mix	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl
Primer and Probe Mix	1 µl	1 µl	1 µl	1 µl
RNase/DNase Free Water	4 µl	4 µl	4 µl	4 µl
Vzorek DNA	5 µl	5 µl	5 µl	5 µl
Konečný objem	**20 µl**	**20 µl**	**20 µl**	**20 µl**

⚠ Zkumavku s qPCR reakcí připravte na ledu a rychle přejděte k amplifikačnímu kroku. Prodloužená inkubace reakční směsi, zejména při pokojové teplotě, ovlivňuje citlivost testu. Zkumavky před vložením do termocykleru 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 uvedeného, přičemž vzorek DNA nahradíte vodou RNase/DNase Free Water.
- Pro reakci Positive Control (PC) postupujte podle stejného nastavení reakce jako výše uvedeného, přičemž vzorek DNA nahradíte cílově specifickým Positive Control Template ve všech zkumavkách (T1, T2, T3 a T4).

Nastavení přístroje pro real-time PCR

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

PCR přístroj

- 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 3a, 3b, 3c a 3d).

Tabulka 3a. (Zkumavka 1)

Cílový název	Reportér	Zhášeč
Chlamydia trachomatis (CT)	FAM	Žádný
Trichomonas vaginalis (TV)	Texas Red	Žádný
Neisseria gonorrhoeae (NG)	HEX	Žádný
Internal Control (IC)	Cy5	Žádný

Tabulka 3b. (Zkumavka 2)

Cílový název	Reportér	Zhášeč
Ureaplasma urealyticum (UU)	FAM	Žádný
Mycoplasma hominis (MH)	Texas Red	Žádný
Ureaplasma parvum (UP)	HEX	Žádný
Internal Control (IC)	Cy5	Žádný

Tabulka 3c. (Zkumavka 3)

Cílový název	Reportér	Zhášeč
Candida albicans (CA)	FAM	Žádný
Haemoehilus ducreyi (HD)	Texas Red	Žádný
Toxoplasma gondii (TG)	HEX	Žádný
Internal Control (IC)	Cy5	Žádný

Tabulka 3d. (Zkumavka 4)

Cílový název	Reportér	Zhášeč
Mycoplasma genitalium (MG)	FAM	Žádný
Herpes Simplex Virus (HSV-1 & HSV-2)	Texas Red	Žádný
Treponema pallidum (TP)	HEX	Žádný
Internal Control (IC)	Cy5	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*	01:00

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

- 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.

Validace interní kontroly

- Vyberte pouze „testované vzorky“ pro analýzu interní kontroly. Vyberte barvivo Cy5 a zobrazte graf amplifikace interní kontroly. Interní kontrola by neměla být amplifikována v NTC. Pozdní šumový amplifikační graf Cy5 v jamce NTC ignorujte.

Validace Positive Control a No Template Control

- Vyberte jamky No Template Control a Positive Control, vyberte kanály FAM, HEX, Texas Red a Cy5 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 všechny kanály, FAM, HEX, Texas Red a Cy5. Chybějící amplifikace v NTC znamená absenci kontaminace v reagenciích a experimentálním prostředí, jakož i správné pipetování.

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

Kvalitativní interpretace výsledků

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

Tabulka 5.

Zkumavka 1/Zkumavka 2/ Zkumavka 3/Zkumavka 4	Kanál FAM	Kanál Texas Red	Kanál HEX	Kanál Cy5
Positive Control	+	+	+	+
No Template Control	-	-	-	-

Tabulka 6a. Interpretace výsledků (Zkumavka T1)

Cíle	Signál qPCR				
Chlamydia trachomatis (FAM)	+	-	-	-	-
Trichomonas vaginalis (Texas Red)	-	+	-	-	-
Neisseria gonorrhoeae (HEX)	-	-	+	-	-
Internal Control (Cy5)	+/-	+/-	+/-	+	-
Výsledek	Pozitivní výsledek pro *Chlamydia trachomatis*	Pozitivní výsledek pro *Trichomonas vaginalis*	Pozitivní výsledek pro *Neisseria gonorrhoeae*	Negativní výsledek	Neplatný výsledek

Tabulka 6b. Interpretace výsledků (Zkumavka T2)

Cíle	Signál qPCR				
Ureaplasma urealyticum (FAM)	+	-	-	-	-
Mycoplasma hominis (Texas Red)	-	+	-	-	-
Ureaplasma parvum (HEX)	-	-	+	-	-
Internal Control (Cy5)	+/-	+/-	+/-	+	-
Výsledek	Pozitivní výsledek pro *Ureaplasma urealyticum*	Pozitivní výsledek pro *Mycoplasma hominis*	Pozitivní výsledek pro *Ureaplasma parvum*	Negativní výsledek	Neplatný výsledek

Tabulka 6c. Interpretace výsledků (Zkumavka T3)

Cíle	Signál qPCR				
Mycoplasma genitalium (FAM)	+	-	-	-	-
Herpes Simplex Virus type 1 & 2 (Texas Red)	-	+	-	-	-
Treponema pallidum (HEX)	-	-	+	-	-
Internal Control (Cy5)	+/-	+/-	+/-	+	-
Výsledek	Pozitivní výsledek pro *Mycoplasma genitalium*	Pozitivní výsledek pro HSV1 a HSV2	Pozitivní výsledek pro *Treponema pallidum*	Negativní výsledek	Neplatný výsledek

Tabulka 6d. Interpretace výsledků (Zkumavka T4)

Cíle	Signál qPCR				
Candida albicans (FAM)	+	-	-	-	-
Haemoehilus ducreyi (Texas Red)	-	+	-	-	-
Toxoplasma gondii (HEX)	-	-	+	-	-
Internal Control (Cy5)	+/-	+/-	+/-	+	-
Výsledek	Pozitivní výsledek pro *Candida albicans*	Pozitivní výsledek pro *Haemoehilus ducreyi*	Pozitivní výsledek pro *Toxoplasma gondii*	Negativní výsledek	Neplatný výsledek

⚠ Pro diagnostické účely by výsledky měly být 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 7.

Č.	Parametry		Pozorování (šarže č.)	Specifikace
1	Přesnost	Opakovatelnost v rámci běhu	CV<3,5 %	CV ≤ 5 %
2		Reprodukovatelnost mezi pracovišti	CV<4 %	
3		Reprodukovatelnost mezi obsluhou	CV<3,5 %	
4	Meze detekce (analytická senzitivita)		LOD: 350 kopií/ml	musí být ≤ 500 kopií/ml
5	Mezní hodnoty (cut-off);		Hodnota Ct: ≤ 35	Podle LOD
6	Analytická specificita	Studie interference Lidská genomová DNA - 100 ng/reakci NaCl - 100 mM	Nebyla zjištěna žádná interference	Nebyla zjištěna žádná interference
		Studie zkřížené reaktivity *E. coli* – 1×10^6 kopií/ml *Klebsiella pneumoniae* – 1×10^6 kopií/ml	Nebyla zjištěna žádná zkřížená reaktivita	Nebyla zjištěna žádná zkřížená reaktivita
7	Robustnost	Objem vzorku	Žádná významná odchylka	Odchylka od kontroly by měla být mezi ±1 Ct
8		Směs primerů a sond	Žádná významná odchylka	Odchylka od kontroly by měla být mezi ±1 Ct
		Objem qPCR master mixu	Žádná významná odchylka	Odchylka od kontroly by měla být mezi ±1 Ct

Výpočet klinického hodnocení			
Diagnostická přesnost			
Výsledek testu	**Onemocnění přítomno**	**Onemocnění nepřítomno**	**Celkem**
Pozitivní	TP=50	FP=1	TP+FP=51
Negativní	FN=1	TN=49	FN+TN=50
Celkem	TP+FN=51	FP+TN=50	101

TP: pravdivě pozitivní výsledek; FP: falešně pozitivní výsledek; TN: pravdivě negativní výsledek; FN: falešně negativní výsledek.

Č.	Parametr	Pozorování	Specifikace	Poznámka
1	Klinická senzitivita	98 %	musí být ≥98 %	Klinicky vysoce senzitivní
2	Klinická specificita	98 %	musí být ≥98 %	Klinicky vysoce specifická

⚠ Varování a bezpečnostní opatření

- Před použitím si pečlivě přečtěte 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 exspirace.
- 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 reagencií 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
	ŘIĎTE 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

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