

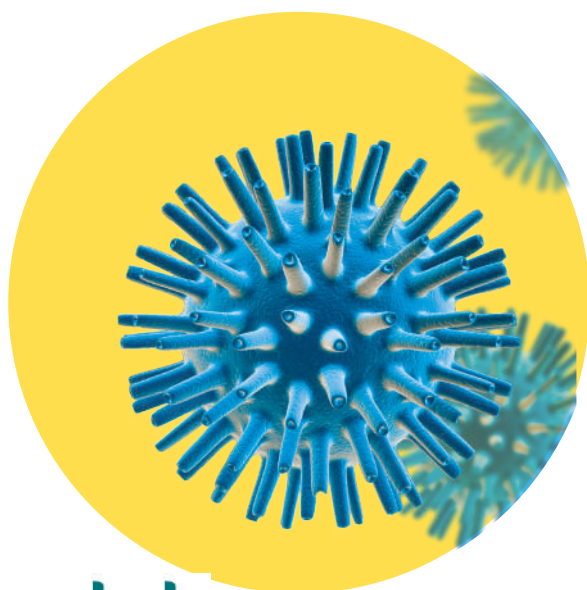
Fácil y rápido



STI-14

Kit detección

Detección simultánea de
14 Patógenos causantes de ITS
con PCR multiplex en tiempo real



STI-14

Kit de detección NeoPlex™STI-14

Reactivos PCR multiplex en tiempo real para la detección de 14 patógenos de transmisión sexual Sólo para uso profesional de diagnóstico *in vitro*

[USO PREVISTO]

El 'NeoPlex™ STI-14 Detection kit' es una prueba cualitativa *in vitro* para la detección y confirmación simultánea de catorce (14) patógenos causantes de infecciones de transmisión sexual (ITS), incluyendo *C.trachomatis*(CT), *N.gonorrhoeae*(NG), *M.hominis*(MH), *M.genitalium*(MG), *T.vaginalis*(TV), *U.urealyticum*(UU), *U.parvum*(UP), *C.aibicans*(CA), *G.vaginalis*(GV), virus del herpes simple tipo 1(HSV1), virus del herpes simple tipo 2(HSV2), *T.pallidum*(TP), estreptococo del grupo B(GBS) y *H.ducreyi*(HD) a partir de muestras de orina o hisopos uretrales. Es un dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* para el examen cualitativo destinado a los profesionales.

[PRINCIPIO DE ENSAYO]

El 'NeoPlex™ STI-14 Detection kit' se basa en dos procesos principales, el aislamiento del ADN de las muestras y la amplificación múltiple en tiempo real. El ADN de los patógenos causantes de ITS se extrae de las muestras, se amplifica en la PCR múltiple en tiempo real y se detecta utilizando sondas con marcador fluorescente, específicas para el ADN de los patógenos causantes de ITS y el control interno. El control interno (CI) sirve como control de amplificación para cada muestra procesada individualmente y para identificar la posible inhibición de la reacción.

[CONTENIDO DEL KIT]

96 Pruebas /Kit

4X STI-14 PPM	Conjunto de cebadores y sondas específicos para el objetivo ¹ 1X tampón TE	500 µL x Vial
4X NeoPlex PCR Master Mix	Taq ADN polimerasa + UDG ²	500 µL x Vial
STI-14 PC	14 ADN ³	50 µL x Vial
STI-14 IC	IC ADN plasmídico 1X ⁴ tampón TE	1 ml x vial
D-W (agua libre de RNasa/DNasa)	Agua libre de RNasa/DNasa; Agua destilada	1 ml x vial

1 Objetivo: CT/NG/MH/MG/TV/UU/UP/CA/GV/HSV1/HSV2/TP/GBS/HD/IC

2 UDG : Uracilo-ADN Glicosilasa

3 14 ADN: 14 ADN recombinante específico de la diana (CT/NG/MH/MG/TV/UU/UP/CA/GV/HSV1/HSV2/TP/GBS/HD)

4 TE: Tris-Acetato + EDTA

[Equipos y materiales adicionales necesarios]

- Sistema de detección de PCR en tiempo real CFX96 (BioRad, Inc., Cat No. 1845097-IVD) o equivalente
- Tiras de PCR de 8 tubos de 0.2mL sin tapas, perfil bajo, blanco (BioRad, Inc., Cat No. TLS0851)
- Tiras ópticas planas de 8 tapas para tubos de PCR (BioRad, Inc., Cat No. TCS0803)
- Placas PCR Multiplate™ de 96 pocillos, de perfil bajo, sin faldón, blancas (BioRad, Inc., Cat No. MLL9651)
- QIAamp DSP DNA Mini Kit (QIAGEN, Cat No.61304)) o un kit de extracción de ADN equivalente
- Juego de pipetas
- Microcentrífuga
- Guantes desechables sin polvo

[ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DEL KIT]

- Guarde el kit por debajo de -20°C (-4°F).
- Los materiales del kit son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta, sin abrir.
- La vida útil del kit es de un (1) año.
- Por favor, utilice los reactivos dentro de los seis (6) meses siguientes a su apertura.

Kit de detección NeoPlex™ STI-14

Reactivos PCR multiplex en tiempo real para la detección de 14 patógenos de transmisión sexual Sólo para uso profesional de diagnóstico *in vitro*

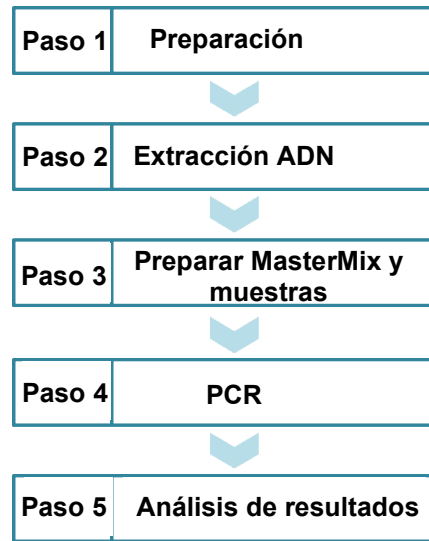
[ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES]

1. Este dispositivo está destinado únicamente al uso *in vitro*. No utilice el dispositivo para otros fines.
2. Utilice equipos de protección personal, como guantes y batas de laboratorio, cuando manipule el kit de detección NeoPlex™ STI-14 y/o las muestras.
3. No fume, ni beba, ni coma mientras manipula el kit de detección NeoPlex™ STI-14 y/o las muestras.
4. Por favor, tenga cuidado al manipular las muestras para evitar infecciones del usuario y/o el contacto indirecto con una persona. La muestra contiene un riesgo de infecciones y enfermedades desconocidas.
5. No utilice reactivos de diferentes lotes o de diferentes tubos del mismo lote.
6. Si no inspecciona el producto con frecuencia, guarde un kit en un refrigerador durante cierto tiempo. La repetición de la congelación/descongelación del producto puede dar lugar a resultados falsos negativos y falsos positivos.
7. Tenga cuidado de no contaminar el producto con el de ácido nucleico extraído, el producto de la PCR o el control positivo (PC, Positive Control). Se recomienda el uso de puntas de filtro para evitar la contaminación del producto.
8. Se recomienda que la muestra o el control positivo (PC, Positive Control) contenido en el producto se congele y se almacene por separado de la nevera que almacena el producto.
9. Utilice el material consumible de laboratorio esterilizado. No lo reutilice.
10. Añada la muestra de ácido nucleico extraída y el control positivo (PC, Positive Control) en la solución de reacción en un espacio separado del espacio de preparación de la solución de reacción PCR.
11. Antes de utilizarlo, lea atentamente estas instrucciones de uso.
12. Utilizar herramientas de medición calibradas. (por ejemplo, la pipeta)
13. Por favor, compruebe la fecha de caducidad antes de utilizar el reactivo.
14. Mantenga el control positivo por separado cuando lo utilice para evitar la contaminación.
15. Antes de iniciar la PCR, asegúrese de que la tapa esté bien cerrada.
16. Elimine el producto de acuerdo con la normativa local o nacional.
17. Por favor, consulte con su médico los resultados de las pruebas

Kit de detección NeoPlex™STI-14

Reactivos PCR multiplex en tiempo real para la detección de 14 patógenos de transmisión sexual **Sólo para uso profesional de diagnóstico *in vitro***

[PROCEDIMIENTO DE PRUEBA]



PASO Preparación 1. Antes de las pruebas

1) Preparación antes de las pruebas

- A. Preparar todos los dispositivos y reactivos antes de su uso.
- B. Coloque el kit en hielo y disuelva el reactivo al menos 10 minutos antes de la prueba.



No congelar/descongelar más de cinco veces

2) Recogida, transporte y almacenamiento de muestras

- A. Muestras de uso: Orina (se recomienda la primera captura del día) y torunda uretral
- B. Se recomienda procesar la muestra dentro de un (1) día después de la recolección.
- C. Almacene las muestras a 2~8 °C (35,6~46,4°F) durante no más de una (1) semana. Para un almacenamiento prolongado, almacene la muestra en condiciones de congelación (-20~ -80°C (-4°F~ -112°F)). La muestra congelada puede utilizarse durante un (1) año.
- D. El transporte de muestras clínicas debe cumplir con la normativa local para el transporte de agentes etiológicos



- Utilice únicamente el tipo de muestra que figura en el manual de instrucciones.
- El volumen de la muestra debe ser superior a 1 ml.
- Utilice protección para los ojos, batas de laboratorio y guantes desechables cuando manipule las muestras.
- Las muestras deben guardarse en las condiciones de almacenamiento indicadas anteriormente. De lo contrario, pueden obtenerse resultados erróneos de las pruebas.
- La información de la muestra debe registrarse para evitar confusiones.

STEP 2.Extracción de ADN

Tras el pretratamiento, la extracción de ADN puede realizarse mediante un sistema de purificación automatizado o utilizando kits de preparación manual (QIAamp DSP DNA Mini Kit o equivalente).

1) Tratamiento previo de la muestra

Orina	Hisopo vaginal
Centrifugar 1mL de muestra de orina durante 10 minutos 13,000arpm.	Centrifugar 1mL de muestra de hisopo vaginal con PBS durante 10 minutos a 13,000rpm.
Desechar el sobrenadante. Vuelva a suspender 1X PBS (1mL) en el Vortex.	Desechar el sobrenadante. Vuelva a suspender 1X PBS (1mL) en el Vortex.
Siga el protocolo del fabricante.	Siga el protocolo del fabricante.

Kit de detección NeoPlex™STI-14

Reactivos PCR multiplex en tiempo real para la detección de 14 patógenos de transmisión sexual **Sólo para uso profesional de diagnóstico *in vitro***

2) Control interno (opcional)

El control interno (STI-14 Internal control) está incluido en el kit. Esto permite al usuario supervisar el procedimiento de aislamiento del ácido nucleico y la posibilidad de inhibición de la PCR.

Orina: Añadir 10µL de control interno STI-14 a cada mezcla de solución de muestra o directamente al tampón de lisis.

3) Extracción de ADN

1) Añadir 10uL de control interno STI-14 a una muestra y añadir el tampón ATL 180uL proporcionado por el kit de extracción de ADN (QIAamp DSP DNA Mini Kit, de QIAGEN)

2) Incubarlo a 56°C minutos15.

* Recomendamos el QIAamp DSP DNA Mini Kit o un kit de extracción de ADN equivalente para la extracción de ácidos nucleicos.

PASO 3. Preparar la mezcla maestra de PCR y la muestra

1) Prepare la PCR Master Mix.

Contenido	Volumen por muestra
4x NeoPlex PCR Master Mix	5ul
4x STI-14 PPM	5ul
D.W (agua libre de Rnasa/DNasa)	5ul
Volumen total	15ul

Nota: Calcule la cantidad necesaria de cada reactivo en función del número de reacciones (muestras + controles).

2) Vortex y centrifugar brevemente la PCR Master Mix.

3) Coloque alícuotas de 15µL de la mezcla maestra de PCR en tubos de PCR de 0,2 ml y cierre las tapas.

4) Añada 5µl de cada muestra de ácido nucleico a su respectivo tubo.

Contenido	1 prueba (volumen)
Mezcla maestra de PCR	15ul
Muestra de ácido nucleico	5ul
Volumen total de reacción	20ul



- Se recomienda que la mezcla de PCR se prepare justo antes de su uso.
- Al preparar las muestras deben utilizarse puntas de filtro resistentes a los aerosoles y guantes ajustados. Tenga mucho cuidado para evitar la contaminación cruzada.
- Descongelar completamente los reactivos
- Centrifugar brevemente los tubos de reactivos para eliminar las gotas del interior de las tapas.

5) Realice las reacciones de amplificación control.

- Control negativo: Añadir 5µl de D.W (agua libre de RNasa/DNasa) en lugar de las muestras de ácido nucleico al tubo.

- Control positivo: Añadir 5µl de STI-14 Positive Control en lugar de las muestras de ácido nucleico al tubo.



- Utilice una nueva punta de pipeta con cada muestra diferente.
- Evite la contaminación cruzada de la PCR Master Mix y de las muestras con el Control Positivo.
- Para CFX96™, no etiquetar en el tapón de los tubos de reacción
- Centrifugar bien el tubo de PCR durante unos30 segundos

PASO 4. PCR.

1) Ajuste del protocolo PCR

El protocolo de la PCR debe establecerse de acuerdo con la siguiente tabla.

Segmento	Temperatura (°C)	Tiempo	Ciclos
1	50	4min	1
2	95	15 min	1
3	95	30 s	40
4	63	1 min	
5	73	10min	1
6	55	30 s	1
7*	Curva de fusión 55°C~85°C(5s/0.5°C)*		

* Segmento :7 Medición de la curva de fusión

Kit de detección NeoPlex™STI-14

Reactivos PCR multiplex en tiempo real para la detección de 14 patógenos de transmisión sexual **Sólo para uso profesional de diagnóstico *in vitro***

PASO 5. Análisis de los resultados de las pruebas

Los resultados de las pruebas deben interpretarse según la "interpretación de los resultados de las pruebas" que se presenta a continuación.

[INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS]

Para el análisis del resultado de la prueba después de la amplificación de la PCR, tome el resultado del pico de fusión (para CFX96, marque la pestaña "Melt Peak") e interprete el según la siguiente tabla de interpretación.

1. Criterios de interpretación del análisis de resultados

Diana	Marcador	Tm. de fusión	Valor de corte (ΔRFU*)	Diana	Marcador	Tm. de fusión	Valor de corte (ΔRFU)
CT	FAM	80.0 ± 1°C	≥100	MG	HEX	71.5 ± 1°C	≥100
UP	FAM	72.5 ± 1°C	≥100	UU	Cal Red 610	80.0 ± 1°C	≥100
NG	HEX	80.0 ± 1°C	≥100	TV	Quasar 670	71.0 ± 1°C	≥100
MH	HEX	64.5 ± 1°C	≥100	CA	FAM	64.5 ± 1°C	≥100
GV	Quasar 670	79.0 ± 1°C	≥100	VHS1	Cal Red 610	64.5 ± 1°C	≥100
HSV2	Cal Red 610	72.0± 1°C	≥100	TP	Quasar 670	63.5± 1°C	≥100
HD	Quasar 705	66.0± 1°C	≥100	EGB	Quasar 705	79.5± 1°C	≥100
IC	Quasar 705	73.0 ± 1°C	≥100				

*RFU: Unidades de fluorescencia relativa

2. Interpretación del resultado

Objetivo	IC	Interpretación
+	+	Detectado Se detecta el patógeno de transmisión sexual
+	-	Detectado Si la concentración de ácido nucleico del patógeno es alta, la señal del CI puede ser inhibida. Si se detecta el patógeno objetivo pero no se detecta el CI, el objetivo se determina que se detecta el patógeno. Si desea comprobar el CI, se recomienda para diluir la muestra y volver a probarla.
-	+	No se ha detectado No se detecta el patógeno de transmisión sexual.
-	-	Inválido El resultado negativo (-) del CI es el resultado de la inhibición de la reacción de PCR debido a la presencia de un inhibidor de la PCR contenido en la muestra, y la muestra no es adecuada para la prueba. Se recomienda eliminar el inhibidor de la PCR y volver a realizar la extracción de ADN.

3. Ejemplos de aplicación de muestras clínicas

No.	FAM			HEX			Cal Red 610			Quasar 670			Quasar 705			Interpretación
	CT	UP	CA	NG	MH	MG	UU	VHS1	HSV2	GV	TV	TP	EGB	HD	IC	
Muestra1	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Se ha detectado CT
Muestra2	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	NG, UU detectado
Muestra3	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	UP, MH, UU detectado
Muestra4	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	CT, UP, NG detectado
Muestra5	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Se ha detectado CT
Muestra6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	No se ha detectado patógeno
Muestra7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Inválido

Kit de detección NeoPlex™STI-14

Reactivos PCR multiplex en tiempo real para la detección de 14 patógenos de transmisión sexual **Sólo para uso profesional de diagnóstico *in vitro***

[Control de calidad]

El kit de detección NeoPlex™ STI-14 incluye el control positivo de STI-14 y el juego D.W (agua libre de RNasa/DNasa). El D.W (agua sin RNasa/DNasa) se utiliza como control negativo. Para todas las ejecuciones, deben obtenerse resultados de prueba válidos tanto para el control positivo como para el control negativo del Kit de Detección de STI-14 de NeoPlex™. El resultado del control positivo debe ser positivo (válido). El resultado del Control Negativo debe ser Negativo (Válido). Si los resultados de los controles positivo y negativo son inválidos de forma constante, póngase en contacto con nosotros para obtener asistencia técnica.

[Trazabilidad del valor asignado a los calibradores y a los materiales de control de veracidad]

El control positivo STI-14 se confirma con el siguiente material de control, cuyos datos de secuenciación se confirman con la base de datos del NCBI.

Diana	Nombredel producto	Fabricante	Nº REF
CT	AMPLIRUN TOTAL CT CONTROL (Orina)	Vircell	MBTC001
	AMPLIRUN TOTAL CT CONTROL (EXUDADO)	Vircell	MBTC004
NG	AMPLIRUN TOTAL NG CONTROL (Orina)	Vircell	MBTC002
	AMPLIRUN TOTAL NG CONTROL (EXUDADO)	Vircell	MBTC005
MH	Mycoplasma hominis	ATCC	ATCC 14027
MG	Mycoplasma genitalium	ATCC	ATCC 33530
TV	Trichomonas Vaginalis	ATCC	ATCC 30001
UU	Ureaplasma urealyticum	ATCC	ATCC 33695
UP	Ureaplasma parvum	ATCC	ATCC 27815
CA	Candida albicans	ATCC	ATCC 18804
GV	Gardnerella vaginalis	ATCC	ATCC 14018
VHS1	Virus del herpes simple 1	Vircell	MBTC016
HSV2	Virus del herpes simple 2	Vircell	MBTC016
TP	Treponema pallidum	Vircell	MBC109
HD	Haemophilus ducreyi	ATCC	ATCC 700724D-5
EGB	Streptococcus agalactiae	ATCC	ATCC BAA-1138D5

[SOLUCIÓN DE PROBLEMAS]

1. Si no se observa la señal de control interno

Posibles causas	Solución
Error en la recogida de la muestra	Si no se observa la señal del blanco y del CI, recójase la muestra
Fallo en la extracción de ácido nucleico	Lea atentamente las instrucciones de uso del kit de extracción de ácido nucleico y vuelva a extraer el ácido nucleico de la muestra.
Ajuste incorrecto de la PCR	Repita el procedimiento de detección con un ajuste correcto
Ciclo de PCR o temperatura de la máquina incorrectos	Compruebe las condiciones de la PCR y repita la PCR con el ajuste correcto si es necesario
La fluorescencia para el análisis de datos no cumple con la protocolo	Seleccione la fluorescencia correcta para cada objetivo enumerado en esta guía de instrucciones para análisis de datos
Dejar los reactivos a temperatura ambiente durante mucho tiempo o condiciones de almacenamiento incorrectas	Compruebe las condiciones de almacenamiento y la fecha de caducidad de los reactivos y utilice un nuevo kit
Presencia del inhibidor	Diluir el ácido nucleico molde en agua destilada (10-100x) y repetir la PCR con el ácido nucleico diluido (Si la muestra sigue presente, reiniciar el procedimiento de extracción del ácido nucleico)
Alta carga de ácido nucleico del patógeno	Diluir el ácido nucleico molde en agua destilada (10-100x) y repetir la PCR con el ácido nucleico diluido

2. Si se observan señales en el control negativo / falso positivo

Posibles causas	Solución
Presencia de contaminación cruzada	Descontaminar todas las superficies e instrumentos con hipoclorito de sodio o etanol. Utilice puntas de filtro durante el procedimiento de extracción. Cambie las puntas entre los tubos. Repetir la extracción de ácidos nucleicos con el nuevo juego de reactivos.

Cuadro comparativo del panel NeoPlex™ STI

Targets	NeoPlex™ STI-7	NeoPlex™ STI-7 PLUS	NeoPlex™ STI-14
Chlamydia trachomatis (CT)	○		○
Neisseria gonorrhoeae (NG)	○		○
Trichomonas vaginalis (TV)	○		○
Mycoplasma hominis (MH)	○		○
Mycoplasma genitalium (MG)	○		○
Ureaplasma urealyticum (UU)	○		○
Ureaplasma parvum (UP)	○		○
Herpes simplex virus type 1 (HSV-1)		○	○
Herpes simplex virus type 2 (HSV-2)		○	○
Treponema pallidum (TP)		○	○
Gardnerella vaginalis (GV)		○	○
Candida albicans (CA)		○	○
Haemophilus ducreyi (HD)		○	○
Group B Streptococcus (GBS)		○	○

Información de pedidos NeoPlex™ STI

Ref.	Producto	Descripción	Presentación
NS01A	Kit detección NeoPlex™ STI-14	Detección simultánea de 14 patógenos STI	96 Tests/Kit
GM3500	Kit detección NeoPlex™ STI-7	Detección simultánea de 7 patógenos principales STI	96 Tests/Kit
GM3600	Kit detección NeoPlex™ STI-7 PLUS	Detección simultánea de 7 patógenos STI adicionales	96 Tests/Kit



Distribución



akralab

one point, all solutions.

Pol. Ind. Las Atalayas
 Avda. de la Antigua Peseta, 77
 03114 Alicante
 Buzón 20212

atencion.clientes@akralab.es
 T. 902 222 275 | +34 965 116 521
 Fax. 902 154 165 | +34 965 115 762
www.akralab.es



Genematrix