


# GENITAL ULCER REALTIME PCR KIT

**REF** RTPCR007-LPD  48  
**CE0123** Für die *In-vitro*-Diagnostik

## ZWECKBESTIMMUNG

Echtzeit-RT-PCR-Kit zum Nachweis von Nukleinsäure aus *Chlamydia trachomatis* serovar L (CT-LGV), Herpes-simplex-Virus 1 (HSV-1), Herpes-simplex-Virus 2 (HSV-2), *Treponema pallidum* (TP), *Haemophilus ducreyi* (HD), Varizellen-Zoster (VZV) und Monkeypox-Virus (MPXV) in genitalen Hautläsionen und perianalen/rektalen Exsudaten.

Das Gerät ist für den Einsatz in der Allgemeinbevölkerung bei Verdacht auf Infektion mit dem Mikroorganismus bestimmt.

Bei diesem Test handelt es sich um einen automatischen, qualitativen Test zur Diagnosehilfe.

## EINLEITUNG

Chlamydiae sind unbewegliche, obligat intrazelluläre Bakterien mit einem einzigartigen Lebenszyklus, in dem sie zwei Stadien durchlaufen: Retikularkörper und Elementarkörper. *Chlamydia trachomatis* (CT) besteht aus zwei menschlichen Biovars: die Venerische Lymphknotenentzündung (LGV), bemerkenswert für seine Tropismus für lymphoide Zellen und seine Fähigkeit, systemische Erkrankung und das Trachom Biovar, begrenzt hauptsächlich auf Epithelzellen der Schleimhäute und in der Lage, Trachom, verursachen verursachen sexuell übertragbare Krankheit, und neonatale Aufnahme Konjunktivitis und Lungenentzündung. Mit diesem Kit kann nur der Biovar identifiziert werden, der Lymphogranuloma venereum (L1, L2 & L3) verursacht.

Die Herpes-simplex-Viren 1 (HSV-1) und 2 (HSV-2) sind behüllte, ikosaedrische, doppelsträngige DNA-Viren mit einem Durchmesser von 120 bis 200 nm. Obwohl Primärinfektionen mit den Herpes-simplex-Viren 1 und 2 asymptomatisch verlaufen, zeigt sich HSV-1 in Form von Läsionen an Mund, Lippen und Gesicht, und HSV-2 verursacht Läsionen im Genitalbereich. Wiederholt auftretende Herpes-simplex-Infektionen sind häufig.

*Treponema pallidum* (TP) ist ein beweglicher Spirochät mit einer gramnegativen, bakterienartigen Zellwand und benötigt zum Gedeihen dieselben Bedingungen wie mikroaerophile Mikroorganismen. Es ist ein obligater Parasit, der nicht in Kultur angezüchtet werden kann. *T. pallidum* ist der Erreger der Syphilis. Syphilis wird durch direkten Kontakt mit den Syphilisläsionen während des Geschlechtsverkehrs von Mensch zu Mensch übertragen. Kongenitale Syphilis wird durch die transplazentare Übertragung von Spirochäten hervorgerufen. Nichtvenerische Trepanomatosen werden durch Subspezies von *T. pallidum* ausgelöst. Sie sind geografisch eingeschränkt verbreitet und befallen hauptsächlich Kleinkinder.

*Haemophilus ducreyi* (HD) ist ein gramnegatives, fakultativ anaerobes Stäbchenbakterium, das zum Wachstum den X-Faktor benötigt. Es ist ein obligatorischer Parasit und wird sexuell übertragen. *H. ducreyi* ist der Erreger einer sexuell übertragbaren Erkrankung, die als weicher Schanker bekannt ist und eine schmerzhaft, erythematöse Wunde an den Genitalien bildet, die sich zu einer schmerzhaften Ulzeration mit assoziierter Lymphadenopathie entwickelt.

Das Varicella Zoster-Virus (VZV) ist ein behülltes, ikosaedrisches, doppelsträngiges DNA-Virus mit einem Durchmesser von 150 bis 200 nm. Varicella (die Primärinfektion) tritt am häufigsten bei Kindern auf und ist durch ein generalisiertes Bläschenexanthem gekennzeichnet. Herpes zoster, der durch die Reaktivierung des latenten Varicella-Virus hervorgerufen wird, tritt bei Erwachsenen auf und besteht aus einer schmerzhaften Eruption vesikulärer Läsionen in Begleitung einer Entzündung der Nervenganglien.

Das Monkeypox-Virus (MPXV) ist ein doppelsträngiges DNA-Virus, ein Mitglied des *Orthopoxvirus*, das ursprünglich bei Affen identifiziert wurde, aber hauptsächlich bei Nagetieren gefunden werden konnte. Beim Menschen wurde dieses zoonotische Virus bis vor kurzem nur selten in Ländern außerhalb seines Endemiegebiets (Zentralafrika) nachgewiesen. Ab Mai 2022 wurde jedoch in einer Reihe anderer Länder, zunächst in Europa, ein Ausbruch in anderen Breitengraden festgestellt, in Verbindung mit Männern, die Sex mit Männern haben, wobei erstmals eine lokale Übertragung ohne epidemiologische Verbindungen nach Afrika gemeldet wurde.

Das Monkeypox-Virus gehört zur Gattung *Orthopoxvirus*, wie unter anderem das Variolavirus (Erreger der Pocken), Vacciniavirus oder Kuhpocken. Es gibt zwei

bekannte Kladen von MPXV, eine endemische in Zentralafrika (Region Kongobecken) und eine in Westafrika.

Dieses Kit basiert auf der Amplifikation spezifischer Fragmente von CT-LGV, HSV-1, HSV-2, TP, HD, VZV und MPXV urch Echtzeit-PCR. Die Tatsache, dass durch diese Mikroorganismen verursachte Infektionen einige klinische Anzeichen gemeinsam haben, zeigt, wie wichtig eine schnelle und präzise klinische Diagnose ist.

## PRÜFGRUNDSATZ

Basierend auf der Amplifikation spezifischer Nukleinsäurefragmente aus *Chlamydia trachomatis* serovar L (CT-LGV), Herpes-simplex-Virus 1 (HSV-1), Herpes-simplex-Virus 2 (HSV-2), *Treponema pallidum* (TP), *Haemophilus ducreyi* (HD), Varizellen-Zoster (VZV) and Monkeypox-Virus (MPXV) mittels Real-Time-PCR.

Zwei Mastermixe (VIRCELL GU RT-PCR MIX A und VIRCELL GU RT-PCR MIX B) stehen für das Screening und die Bestätigung zur Verfügung, wobei für jeden Mikroorganismus ein unabhängiges Ziel verwendet wird.

VIRCELL GU RT-PCR MIX A zielt auf ein spezifisches Fragment des *pmpH*-Gens für CT-LGV, des *GlyG*-Gens für HSV-1, des *GlyB*-Gens für HSV-2 und des *ttp47*-Gens für TP, während VIRCELL GU RT-PCR MIX B auf ein spezifisches Fragment von *ITS 16-23S* intergenische Region von HD, *HHV3gp31*-Gens für VZV und *F3L*-Gens für MPXV.

Eine Amplifikationskontrolle ist enthalten, um die Abwesenheit eines Übertrags von Amplifikationsinhibitoren sowie den korrekten Amplifikationsablauf zu überprüfen. Diese Kontrolle besteht aus exogenen Nukleinsäuren und einem spezifischen Oligonukleotid/Sondenpaar für die Amplifikation.

Die Methode gliedert sich in 2 wesentliche Schritte: DNA-Extraktion und Amplifikation/Nachweis durch spezifische Oligopaare und Sonden. Im VIRCELL GU RT-PCR MIX A wird CT-LGV-DNA im FAM-Kanal, HSV-2-DNA im HEX/VIC-Kanal, HSV-1-DNA im Cy5-Kanal und TP-DNA im Texas/ROX-Kanal nachgewiesen, während im VIRCELL GU RT-PCR MIX B HD-DNA im FAM-Kanal, MPXV-DNA im HEX/VIC-Kanal und VZV-DNA im Texas/ROX-Kanal nachgewiesen wird. Die interne Kontrolle wird im Q705-Kanal nachgewiesen.

## EIGENSCHAFTEN DES KITS

VIRCELL RT-PCR MIX und VIRCELL POSITIVE CONTROL sind lyophilisiert. Sie müssen vor dem Gebrauch erst rekonstituiert werden (siehe „Produktvorbehandlung“). Die restlichen Reagenzien sind schon gebrauchsfertig. Dieser Kit basiert auf der Amplifikation und dem Nachweis durch Echtzeit-PCR.

## MITGELIEFERTER MATERIALIEN

**[1]** VIRCELL GU RT-PCR MIX LPD: 1 Platte mit 96 Röhren, teilbar in 12 Streifen mit 8 Röhren. Jeder Streifen enthält 4 Röhren mit GU RT-PCR MIX A, mit Taq-Polymerase, Puffer, spezifische Primer/Sonden für CT-LGV (*pmpH*-Gen), HSV-1 (*GlyG*-Gen), HSV-2 (*GlyB*-Gen), TP (*ttp47*-Gen) und als interne Kontrolle Primer/Sonde, und 4 Röhren mit GU RT-PCR MIX B, mit Taq-Polymerase, Puffer, spezifische Primer/Sonde für HD (region *ITS 16-23S*), VZV (*HHV3gp31*-Gen) und MPXV (*F3L*-Gen) und als interne Kontrolle Primer/Sonde. 1 Reaktion pro Röhren. Lyophilisiert.

Siehe Abbildung 1 für die Verteilung von GU RT-PCR MIX A und GU RT-PCR MIX B auf dem Streifen.

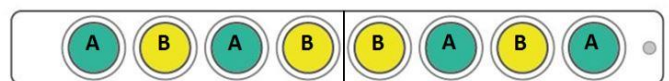


Abbildung 1: Verteilung von GU RT-PCR MIX A und GU RT-PCR MIX B auf dem Streifen.

Legende: A= GU RT-PCR MIX A und B= GU RT-PCR MIX B

**[3]** VIRCELL GU POSITIVE CONTROL: 1 Fläschchen mit einem Gemisch aus lyophilisierten nicht infektiösen Nukleinsäuren zur Verwendung als Positivkontrolle. Roter Verschluss.

**[4]** VIRCELL NEGATIVE CONTROL: 200 µl entionisiertem Wasser für den Gebrauch als Negativkontrolle. Grüner Verschluss.

**[5]** VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION: 2 x 1 ml wässriger Lösung für die Herstellung der PCR-Mischung. Gelber Verschluss.

**[6]** VIRCELL POSITIVE CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION: 500 µl wässriger Lösung zur Herstellung der Positivkontrolle. Brauner Verschluss.

[7] VIRCELL RT-PCR MIX CAPS: 12 Streifen mit 8 RT-PCR-kompatiblen Verschlüssen.

#### Spezielle Materialien, die benötigt, aber nicht mitgeliefert werden:

- Mikrobiologische Sicherheitswerkbank.
- DNA/RNA-Extraktions-Kit (siehe Empfehlungen unter „Testverfahren“).
- Real Time PCR Thermocycler (kompatibel mit weißen Röhrchen mit niedrigem Profil und FAM, HEX/VIC, Texas/ROX, Cy5 und Q705-Detektion)
- Präzisions-Mikropipetten.
- Sterile Spitzen mit Aerosolbarriere.
- Mikrozentrifuge.
- PCR-Kabine (empfohlen).
- Vortex.

#### **LAGERUNGS- UND HANDHABUNGSBEDINGUNGEN**

Bei 2-8°C lagern. Reagenzien nicht nach Ablauf des Verfallsdatums einsetzen. Das Verfallsdatum der Reagenzien ist nur gültig bei Lagerung in gut verschlossenem Zustand bei 2-8°C.

#### **HALTBARKEIT NACH ANBRUCH**

VIRCELL POSITIVE CONTROL rekonstituiert: zwischen -25°C und -15°C lagern und bis zum Verfallsdatum aufbrauchen. Mehr als 10 Gefrier-Auftau-Zyklen während dieser Zeitspanne vermeiden.

VIRCELL RT-PCR MIX rekonstituiert: Zwischen 2°C und 8°C lagern und innerhalb von 60 Minuten aufbrauchen.

Restliche Reagenzien: Siehe Verfallsdatum auf der Packung (bei 2-8°C).

VIRCELL, S.L. ist nicht verantwortlich für Fehler, die durch eine falsche Handhabung der Reagenzien dieses Kits verursacht wurden.

#### **WARNUNGEN UND VORSICHTSHINWEISE**

1. Einsatz ausschließlich für *in-vitro* diagnostische Zwecke. Nur für den professionellen Einsatz.
2. Das Produkt sollte auf Personal begrenzt werden, das in der Technik geschult wurde.
3. Dem Anwender des Tests wird empfohlen, diese Gebrauchsanleitung vor der Testdurchführung sorgfältig zu lesen und die einzelnen Schritte nachzuvollziehen. Die strikte Einhaltung der Gebrauchsanleitung ist notwendig.
4. Verwenden Sie nur die in dieser Broschüre beschriebenen Protokolle. Wenn die Bedingungen nicht den Angaben entsprechen, sind die Ergebnisse möglicherweise falsch.
5. Tragen Sie beim Umgang mit Proben und Reagenzien persönliche Schutzausrüstung. Waschen Sie Ihre Hände beim Umgang mit Proben und Reagenzien gründlich. Alle Verfahren müssen in Übereinstimmung mit den genehmigten Sicherheitsstandards durchgeführt werden.
6. Für jeden Testschritt neue Pipettenspitzen verwenden. Nur sauberes, vorzugsweise Einweg-Material verwenden.
7. Nicht mit dem Mund pipettieren.
8. Keine beschädigten Kits verwenden.
9. Verwenden Sie das Kit nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr.
10. Lassen Sie die Reagenzien nicht länger als unbedingt erforderlich auf einer anderen Temperatur als empfohlen.
11. Halten Sie Behälter für Proben und Reagenzien geschlossen, wenn diese nicht bearbeitet werden.
12. Vermeiden Sie die Verwendung von Proben, die wiederholten Gefrier-Auftau-Zyklen ausgesetzt sind.
13. Verwenden unter aseptischen Bedingungen, um eine mikrobielle Kontamination zu vermeiden.
14. Die Reagenzien in diesem Kit können Nukleinsäuren enthalten. Beachten Sie die lokalen Bestimmungen für Abfälle.
15. Jedes nicht verwendete Material muss gemäß den geltenden Bestimmungen entsorgt werden.
16. Nur Kit-Bestandteile verwenden. Reagenzien aus Kits unterschiedlicher Chargennummer oder von anderen Herstellern dürfen nicht verwendet werden. Nur VIRCELL NEGATIVE CONTROL, VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION und VIRCELL POSITIVE CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION sind mit entsprechenden, weiteren RTPCR VIRCELL-Referenzen und -Artikeln kompatibel.
17. Die Proben müssen gemäß den Sicherheitsverfahren in Laboratorien so behandelt werden, als wären sie infektiös, gemäß den Sicherheitsverfahren in Laboratorien. Halten Sie alle Arbeitsflächen mit einer frisch hergestellten Lösung aus 0,5% Natriumhypochlorit in entionisiertem oder destilliertem Wasser sauber und steril.
18. Um zuverlässigere Ergebnisse zu erhalten, ist es ratsam, die Proben so früh wie möglich nach deren Gewinnung zu testen. Es sind keine Untersuchungen über die Auswirkungen der Transportzeit durchgeführt worden.

19. Für die Durchführung des Tests ist es notwendig, über voneinander getrennte Arbeitsbereiche zu verfügen: einen Bereich vor der Amplifikation und einen Bereich für die Amplifikation.

20. Wegen der hohen analytischen Sensitivität des Tests müssen die Vorsichtsmaßnahmen verschärft werden, um die Reinheit der Reagenzien des Kits und der Amplifikationsmischungen zu gewährleisten. Alle verwendeten Reagenzien müssen den höchsten Reinheitsgrad aufweisen.

21. Es wird empfohlen, konventionelle DNA-Reinigungskits zu verwenden.

22. Alle im Zusammenhang mit dem Produkt auftretenden schwerwiegenden Vorfälle sind dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist, zu melden.

#### **BEDINGUNGEN FÜR DIE ENTNAHME, BEHANDLUNG UND AUFBEREITUNG DER PROBE**

Das Kit ist für Proben validiert, die von der Läsion entnommen werden, wie z. B. genitale Hautläsionen und perianale/rektale Exsudate, die auf einem Transportmedium oder einem trockenen Tupfer gesammelt werden.

Verzögerungen bei Transport und Laboruntersuchungen sollten vermieden werden. Falls eine sofortige Lieferung an das Labor nicht möglich ist, sollten die Proben im Kühlschrank (2 bis 8 °C) gelagert oder auf feuchtes Eis oder einen Kühlakku gelegt werden. Proben, deren Kultivierung sich über 48 Stunden nach der Entnahme hinaus verzögert, bei -70 °C oder niedriger lagern; Einfrieren bei höheren Temperaturen und Gefrier-Auftau-Zyklen vermeiden.

Empfohlene Leitlinien: Specimen Collection and Processing. p.10.4.6. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. ASM, Washington (Probenentnahme und -verarbeitung. S.10.4.6. Handbuch für klinische mikrobiologische Verfahren, 2. Aufl., ASM, Washington).

#### **PRODUKTVORBEHANDLUNG**

Alle gelieferten Reagenzien sind gebrauchsfertig, außer VIRCELL RT-PCR MIX [1] und VIRCELL POSITIVE CONTROL [3].

[1] VIRCELL RT-PCR MIX. Fügen Sie für die Rekonstitution pro Fläschchen 10 µl VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION [5] hinzu.

⚠ Sollte sich der Beginn des Tests verzögern, muss der rekonstituierte VIRCELL RT-PCR MIX innerhalb von 60 Minuten nach Zugabe der Rekonstitutionslösung verwendet und bei 2-8°C gelagert werden. In diesem Fall empfiehlt sich ein Gefriergestell.

[3] VIRCELL POSITIVE CONTROL. Führen Sie für die Rekonstitution die folgenden Schritte aus:

- Zentrifugieren Sie das entsprechende Röhrchen 5 Sekunden lang bei 5000 g.
- Fügen Sie 100 µl VIRCELL POSITIVE CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION [6] hinzu.

- Mischen Sie 1-2 Sekunden lang mit einem Vortexmischer.

- Zentrifugieren Sie das Röhrchen 5 Sekunden lang bei 5000 g.

Nach der Rekonstitution kann die VIRCELL POSITIVE CONTROL [3] bei Temperaturen unter -25 bis -15 °C eingefroren werden für ihren Gebrauch bei späteren Ansätzen.

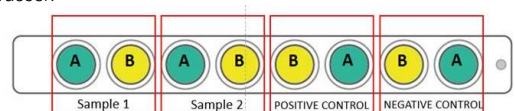
#### **TESTVERFAHREN**

1. DNA/RNA-Extraktion (durchgeführt im Prä-Amplifikationsbereich):

- 1.1. Es wird empfohlen, ein kommerzielles Extraktionskit für DNA/RNA-Extraktionen zu verwenden. Bei der Verwendung von kommerziellen Extraktionskits sind die Anweisungen des Herstellers zu befolgen. Kontakt zum Kundendienst.

2. Amplifikation mit RT-PCR (durchgeführt im Amplifikationsbereich):

- 2.1. Rekonstitution des VIRCELL RT-PCR MIX: Die mitgelieferte Platte mit 96 Röhrchen könnte je nach zu testenden Proben leicht in einen oder mehrere einzelne 8-Röhrchen-Streifen geteilt werden. Bitte beachten Sie, dass jeder 8-Röhrchen-Streifen für 4 Proben verwendet wird. Fügen Sie pro Fläschchen 10 µl VIRCELL PCR MIX RECONSTITUTION SOLUTION [5] hinzu. Nach der Rekonstitution/dem Auftauen kalt halten.
- 2.2. Hinzufügen der Probe: Geben Sie 10 µl jeder extrahierten DNA/RNA-Probe in ein Röhrchen mit RT-PCR MIX A und ein Röhrchen mit RT-PCR-MIX B. Fügen Sie den entsprechenden Röhrchen mit RT-PCR MIX A und RT-PCR MIX B 10 µl VIRCELL POSITIVE CONTROL [3] und VIRCELL NEGATIVE CONTROL [4] hinzu. Die Negativkontrolle ist Wasser.



- 2.3. Verschließen Sie die Röhrchen mit VIRCELL RT-PCR MIX CAPS [7].

- 2.4. Es wird empfohlen, die Platte/-streifen kurz zu zentrifugieren, um sicherzustellen, dass sich der Fläschcheninhalt unten im Röhrchen befindet.
- 2.5. RT-PCR-Programm: Geben Sie die PCR-Röhrchen in den Echtzeit-Thermocycler und führen Sie das folgende Programm\* aus:

1 Zyklus	95 °C	3 Minuten
45 Zyklen	95 °C	15 Sekunden
	58 °C	45 Sekunden*

\* Fluoreszenzdaten (FAM, HEX/VIC, Texas/ROX, Cy5 und Q705) sollten erfasst werden.

#### INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

Jede Charge wird unter Einhaltung strenger Vorgaben internen Qualitätskontrollen unterzogen, bevor sie freigegeben wird.

#### TEST-VALIDIERUNG FÜR ANWENDER

Bei jeder Testdurchführung muss eine Negativkontrolle mit eingeschlossen werden. Durch die Negativkontrolle wird die Kontamination des Reagenzes oder der Umgebung überprüft.

Es wird empfohlen, die Positivkontrolle bei jedem Durchlauf einzubeziehen. Die Positivkontrolle überprüft auf fehlerhafte Reagenzien und die korrekte Durchführung des Arbeitsvorgangs.

Die Thermocycler Software berechnet voraussichtlich automatisch den Baseline-Fluoreszenzwert (Schwellenwert) auf Grundlage der Amplifikationskurve für jedes Zielgen (Fluoreszenzdetektion). Dennoch wird empfohlen, die Schwellenwerte für die verschiedenen Detektionskanäle individuell festzulegen. Um einen Schwellenwert für jedes Zielgen festzulegen, wird empfohlen, die Amplifikationskurven der positiven und negativen Kontrollen als Referenz zu verwenden. Der Schwellenwert sollte auf den Beginn des exponentiellen Anstiegs der gemessenen Fluoreszenz und oberhalb des Hintergrundsignals festgelegt werden.

Die Ergebnisinterpretation der Kontrollen lautet wie folgt:

KONTROLLE	MIX A					MIX B				Interpretation
	CT-LGV (FAM)	HSV-2 (HEX/VIC)	HSV-1 (Cy5)	TP (Texas/ROX)	IC (Q705)	HD (FAM)	MPXV (HEX/VIC)	VZV (Texas/ROX)	IC (Q705)	
VIRCELL GU POSITIVE CONTROL	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Korrekt
	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Ungültig
VIRCELL NEGATIVE CONTROL	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Korrekt
	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Ungültig

#### INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Die Ergebnisinterpretation wird in den nachstehenden Tabellen dargestellt:

Tabelle 1: RT-PCR MIX A

ERGEBNIS	CT-LGV (FAM)	HSV-2 (HEX/VIC)	HSV-1 (Cy5)	TP (Texas/ROX)	IC <sup>1</sup> (Q705)	Interpretation
1	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Ungültig (Probe/den Kit/Ablauf betreffend)
2	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Negative
3	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	CT-LGV Positiv
4	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	HSV-2 Positiv
5	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	HSV-1 Positiv
6	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	TP Positiv
7	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	CT-LGV, HSV-2 Positiv
8	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	CT-LGV, HSV-1 Positiv
9	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	CT-LGV, TP Positiv
10	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	HSV-2, HSV-1 Positiv
11	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	HSV-2, TP Positiv

ERGEBNIS	CT-LGV (FAM)	HSV-2 (HEX/VIC)	HSV-1 (Cy5)	TP (Texas/ROX)	IC <sup>1</sup> (Q705)	Interpretation
12	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	HSV-1, TP Positiv
13	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	CT-LGV, HSV-2, HSV-1 Positiv
14	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	CT-LGV, HSV-2, TP Positiv
15	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	CT-LGV, HSV-1, TP Positiv
16	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	HSV-2, HSV-1, TP Positiv
17	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	CT-LGV, HSV-2, HSV-1, TP Positiv

Tabelle 2: RT-PCR MIX B

ERGEBNIS	HD (FAM)	MPXV (HEX/VIC)	VZV (Texas/ROX)	IC <sup>1</sup> (Q705)	Interpretation
1	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Ungültig (Probe/den Kit/Ablauf betreffend)
2	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Negative
3	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	HD Positiv
4	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	MPXV Positiv
5	Keine Amplifikation oder Ct >40	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	VZV Positiv
6	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	HD, MPXV Positiv
7	Amplifikation (Ct < 40)	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	HD, VZV Positiv
8	Keine Amplifikation oder Ct >40	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	MPXV, VZV Positiv
9	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40)	Amplifikation (Ct < 40) oder Keine Amplifikation	HD, MPXV, VZV Positiv

<sup>1</sup> Bei einer hohen Vervielfältigungszahl der Zielnukleinsäure kann die Amplifikation der internen Kontrolle (IC) in den Ergebnissen 3 bis 17 (Tabelle 1) und 3 bis 9 (Tabelle 2) beeinträchtigt sein. Die Amplifikation oder eine fehlende IC-Amplifikation ändert nichts an der Interpretation des Ergebnisses.

Bei einem ungültigen oder unklaren Ergebnis wird empfohlen, die DNA-Extraktion aus der Originalprobe zu wiederholen und erneut zu testen. Bei einer fehlgeschlagenen Amplifikation der internen Kontrolle kann eine unsachgemäße Extraktion von Nukleinsäuren oder eine Hemmung der Amplifikation angenommen werden. Es wird empfohlen, eine neue Probe zu testen.

#### VERWENDUNGSBESCHRÄNKUNGEN

- Die Eignung für andere Probenarten als genitale Hautläsionen und perianale/rektale Exsudate wurde nicht untersucht.
- Das Gerät ist zum Nachweis des Infektionserregers bestimmt, es dient nicht zum Nachweis der Exposition gegenüber dem Infektionserreger.
- Das Gerät ist nicht zur Verwendung mit Proben bestimmt, die aus Liquor oder Blut stammen.
- Das Gerät ist außerdem nicht zum Nachweis der Anwesenheit von oder der Exposition gegenüber einem übertragbaren Erreger in biologischen Proben bestimmt, um deren Eignung zur Transfusion, Transplantation oder Zellverabreichung zu beurteilen.
- Das Gerät ist nicht zum Nachweis von Antikörpern zur Erkennung des latenten Krankheitsstatus einer Virusinfektion vor einer Organ- oder Knochenmarkstransplantation bestimmt.

6. Die Ergebnisse der Proben sollten immer in Verbindung mit den klinischen Daten und anderen diagnostischen Ergebnissen interpretiert werden.

7. Der Nachweis der Nukleinsäuren der Krankheitserreger ist abhängig von der Anzahl der in der Probe vorhandenen Organismen und kann durch die Probenentnahmemethoden, Patientenfaktoren, das Stadium der Infektion und/oder den Stamm beeinflusst werden. Falsche negative Ergebnisse können auch auftreten, wenn Amplifikationsinhibitoren in der Probe vorhanden sind; überprüfen Sie daher bitte die interne Kontrolle. Das Kit wurde mit einer spezifischen Nukleinsäure-Extraktionsmethode validiert. Alternative Extraktionsverfahren können ebenfalls geeignet sein, erfordern jedoch eine Validierung durch den Anwender; in der Regel ist eine Reinheit OD260/280 zwischen 1,8 – 2,0 akzeptabel.

8. Die Ergebnisse des Tests sind qualitativer Natur. Es existiert keinerlei Korrelation zwischen der Größe des positiven Ergebniswertes und der Anzahl an Mikroorganismen in der Probe.

9. Der Test funktioniert nur innerhalb der Grenzen der genomischen Regionen, für die die Sonden ausgewählt worden sind. Der Test zielt auf stark konservierte Regionen ab, Aufgrund der hohen Variabilität der DNA Genome, ist es möglich, dass bestimmte Subtypen nicht festgestellt werden. Zur Zeit der Entwicklung wurden keine Mutationen der Zielregionen detektiert.

10. Ein negatives Ergebnis schließt das Vorhandensein des Mikroorganismus in Konzentrationen unterhalb der Bestimmungsgrenze des Tests nicht aus.

11. Ein positiver Test schließt die Möglichkeit nicht aus, dass andere Pathogene vorhanden sind.

12. Die in der Studie zur Sensitivität und Spezifität ermittelten Werte beziehen sich auf die Gesamtzahl der getesteten Proben und können je nach Art der Probe variieren.

13. Die angezeigten Leistungsergebnisse wurden unter der Verwendung des Thermocyclers CFX96 (Bio-Rad) generiert.

14. Die angegebenen Testergebnisse entsprechen komparativen Studien mit kommerziellen prädikativen Produkten in einer definierten Bevölkerungsstichprobe. Es können kleine Unterschiede zwischen verschiedenen Bevölkerungen oder verschiedenen prädikativen Produkten bestehen.

15. Eine Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung ist auf EUDAMED erhältlich.

### LEISTUNGSMERKMALE SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT

#### *Chlamydia trachomatis* serovar L

Klinisch positive humane Hautläsionen aus der Genitalregion und perianale/rektale Exsudate (n = 32) für ein CT-LGV werden mit dem OptiPure Viral Kit auf dem Instrument Maelstrom 4800 (TANBead) extrahiert und mit einem Echtzeit-PCR-Kit im CFX96 (Bio-Rad) verglichen. Ebenso wurden klinische humane perianale/rektale Exsudate (n = 32), die mit einem CT-LGV Kontrollen unterzogen wurden, extrahiert und verglichen. Zuvor bestätigte negative Proben (n = 24) wurden ebenfalls in das Assay-Verfahren aufgenommen.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe Nr	88	
Sensitivität (%)	98	
	95% CI	92-99
Spezifität (%)	100	
	95% CI	86-100
PPV (%)	100	
NPV (%)	96	
LR+/LR-	-0,99/-0,97	
Echt-positiv	63	
Echt-negativ	24	
Falsch-positiv	0	
Falsch-negativ	1	
Grenzfälle	0	

CI: Konfidenzintervall  
PPV: Positiver prädiktiver Wert  
NPV: Negativer prädiktiver Wert  
LR+: Positives Wahrscheinlichkeitsverhältnis  
LR-: Negatives Wahrscheinlichkeitsverhältnis

#### *Haemophilus ducreyi*

Klinische humane Proben von HD-Kontrollen unterzogenen perianalen/rektalen Exsudaten (n = 50) wurden mit dem OptiPure Viral Kit auf dem Instrument Maelstrom 4800 (TANBead) extrahiert und mit einem Echtzeit-PCR-Kit im CFX96 (Bio-Rad) verglichen. Zuvor bestätigte negative Proben (n = 24) wurden ebenfalls in das Assay-Verfahren aufgenommen.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe Nr	74	
Sensitivität (%)	100	
	95% CI	93-100
Spezifität (%)	100	
	95% CI	86-100
PPV (%)	100	
NPV (%)	100	
LR+/LR-	-1,01/-0,99	
Echt-positiv	50	
Echt-negativ	24	
Falsch-positiv	0	
Falsch-negativ	0	
Grenzfälle	0	

CI: Konfidenzintervall  
PPV: Positiver prädiktiver Wert  
NPV: Negativer prädiktiver Wert  
LR+: Positives Wahrscheinlichkeitsverhältnis  
LR-: Negatives Wahrscheinlichkeitsverhältnis

#### *Herpes simplex virus type 1*

Klinisch für eine Prüfung auf HSV-1 positive humane Hautläsionen aus der Genitalregion (n = 57) wurden mit dem OptiPure Viral Kit auf dem Instrument Maelstrom 4800 (TANBead) extrahiert und mit einem Echtzeit-PCR-Kit im CFX96 (Bio-Rad) verglichen. Zuvor bestätigte negative Proben (n = 24) wurden ebenfalls in das Assay-Verfahren aufgenommen.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe Nr	81	
Sensitivität (%)	98	
	95% CI	91-100
Spezifität (%)	100	
	95% CI	86-100
PPV (%)	100	
NPV (%)	96	
LR+/LR-	-0,99/-0,97	
Echt-positiv	56	
Echt-negativ	24	
Falsch-positiv	0	
Falsch-negativ	1	
Grenzfälle	0	

CI: Konfidenzintervall  
PPV: Positiver prädiktiver Wert  
NPV: Negativer prädiktiver Wert  
LR+: Positives Wahrscheinlichkeitsverhältnis  
LR-: Negatives Wahrscheinlichkeitsverhältnis

#### *Herpes simplex virus type 2*

Klinisch für eine Prüfung auf HSV-2 positive humane Hautläsionen aus der Genitalregion (n = 36) wurden mit dem OptiPure Viral Kit auf dem Instrument Maelstrom 4800 (TANBead) extrahiert und mit einem Echtzeit-PCR-Kit im CFX96 (Bio-Rad) verglichen. Ebenso wurden klinische humane perianale/rektale Exsudate (n = 14), die mit einem HSV-2 Kontrollen unterzogen wurden, extrahiert und verglichen.

Zuvor bestätigte negative Proben (n = 24) wurden ebenfalls in das Assay-Verfahren aufgenommen.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe Nr	74	
Sensitivität (%)	100	
	95% CI	92-100
Spezifität (%)	100	
	95% CI	86-100
PPV (%)	100	
NPV (%)	100	
LR+/LR-	-1,01/-0,99	
Echt-positiv	50	
Echt-negativ	24	
Falsch-positiv	0	
Falsch-negativ	0	
Grenzfälle	0	

CI: Konfidenzintervall  
PPV: Positiver prädiktiver Wert  
NPV: Negativer prädiktiver Wert  
LR+: Positives Wahrscheinlichkeitsverhältnis  
LR-: Negatives Wahrscheinlichkeitsverhältnis

#### *Monkeypox virus*

Klinisch für eine Prüfung auf MPXV positive humane Hautläsionen aus der Genitalregion (n = 21) wurden mit dem OptiPure Viral Kit auf dem Instrument Maelstrom 4800 (TANBead) extrahiert und mit einem Echtzeit-PCR-Kit im CFX96 (Bio-Rad) verglichen. Ebenso wurden klinische humane perianale/rektale Exsudate (n = 32), die mit einem MPXV Kontrollen unterzogen wurden, extrahiert und verglichen. Zuvor bestätigte negative Proben (n = 24) wurden ebenfalls in das Assay-Verfahren aufgenommen.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe Nr	77	
Sensitivität (%)	100	
	95% CI	93-100
Spezifität (%)	100	
	95% CI	86-100
PPV (%)	100	
NPV (%)	100	
LR+/LR-	-1,01/-0,99	
Echt-positiv	53	
Echt-negativ	24	

Falsch-positiv	0
Falsch-negativ	0
Grenzfälle	0

CI: Konfidenzintervall  
 PPV: Positiver prädiktiver Wert  
 NPV: Negativer prädiktiver Wert  
 LR+: Positives Wahrscheinlichkeitsverhältnis  
 LR-: Negatives Wahrscheinlichkeitsverhältnis

*Treponema pallidum*

Klinisch positive humane Hautläsionen aus der Genitalregion und perianale/rektale Exsudate (n = 28) für ein TP werden mit dem OptiPure Viral Kit auf dem Instrument Maelstrom 4800 (TANBead) extrahiert und mit einem Echtzeit-PCR-Kit im CFX96 (Bio-Rad) verglichen. Ebenso wurden klinische humane perianale/rektale Exsudate (n = 22), die mit einem TP Kontrollen unterzogen wurden, extrahiert und verglichen. Zuvor bestätigte negative Proben (n = 24) wurden ebenfalls in das Assay-Verfahren aufgenommen.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe Nr	74	
Sensitivität (%)	100	
	95% CI	93-100
Spezifität (%)	100	
	95% CI	86-100
PPV (%)	100	
NPV (%)	100	
LR+/LR-	-1,01/-0,99	
Echt-positiv	50	
Echt-negativ	24	
Falsch-positiv	0	
Falsch-negativ	0	
Grenzfälle	0	

CI: Konfidenzintervall  
 PPV: Positiver prädiktiver Wert  
 NPV: Negativer prädiktiver Wert  
 LR+: Positives Wahrscheinlichkeitsverhältnis  
 LR-: Negatives Wahrscheinlichkeitsverhältnis

*Varicella zoster virus*

Klinisch für eine Prüfung auf VZV positive humane Hautläsionen aus der Genitalregion (n = 4) wurden mit dem OptiPure Viral Kit auf dem Instrument Maelstrom 4800 (TANBead) extrahiert und mit einem Echtzeit-PCR-Kit im CFX96 (Bio-Rad) verglichen. Ebenso wurden klinische humane perianale/rektale Exsudate (n = 46), die mit einem VZV Kontrollen unterzogen wurden, extrahiert und verglichen. Zuvor bestätigte negative Proben (n = 24) wurden ebenfalls in das Assay-Verfahren aufgenommen.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe Nr	74	
Sensitivität (%)	100	
	95% CI	93-100
Spezifität (%)	100	
	95% CI	86-100
PPV (%)	100	
NPV (%)	100	
LR+/LR-	-1,01/-0,99	
Echt-positiv	50	
Echt-negativ	24	
Falsch-positiv	0	
Falsch-negativ	0	
Grenzfälle	0	

CI: Konfidenzintervall  
 PPV: Positiver prädiktiver Wert  
 NPV: Negativer prädiktiver Wert  
 LR+: Positives Wahrscheinlichkeitsverhältnis  
 LR-: Negatives Wahrscheinlichkeitsverhältnis

**GENAUIGKEIT**

4 Proben (2 positive und die Positiv- und Negativkontrolle) wurden zweimal in 2 Durchläufen pro Tag in 2 verschiedenen qRT-PCR-Thermocyclern an 20 aufeinanderfolgenden Tagen amplifiziert. Die Proben wurden auf dem CFX96 (Bio-Rad) getestet. Es wurden die Genauigkeit innerhalb eines Durchlaufs, die Genauigkeit zwischen den Durchläufen, die Genauigkeit zwischen den Tagen und die Genauigkeit zwischen den Labors ermittelt.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

*Chlamydia trachomatis serovar L*

Probe	Genauigkeit innerhalb eines Durchlaufs %CV	Genauigkeit zwischen den Durchläufen %CV	Genauigkeit zwischen den Tagen %CV	Genauigkeit zwischen den Labors %CV
Positiven Kontrolle	0,5	1,3	1,5	2,1
Positive Probe 1	0,6	1,4	1,3	2,0
Positive Probe 2	0,8	1,3	1,4	2,1
Negativkontrolle	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation

CV: Variationskoeffizient

*Haemophilus ducreyi*

Probe	Genauigkeit innerhalb eines Durchlaufs %CV	Genauigkeit zwischen den Durchläufen %CV	Genauigkeit zwischen den Tagen %CV	Genauigkeit zwischen den Labors %CV
Positiven Kontrolle	0,6	1,4	1,7	2,3
Positive Probe 1	0,8	1,7	2,0	2,8
Positive Probe 2	1,9	1,5	1,2	2,7
Negativkontrolle	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation

CV: Variationskoeffizient

*Herpes simplex virus type 1*

Probe	Genauigkeit innerhalb eines Durchlaufs %CV	Genauigkeit zwischen den Durchläufen %CV	Genauigkeit zwischen den Tagen %CV	Genauigkeit zwischen den Labors %CV
Positiven Kontrolle	0,6	0,9	0,6	1,2
Positive Probe 1	1,4	0,8	0,1	1,6
Positive Probe 2	1,6	0,8	0,6	1,9
Negativkontrolle	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation

CV: Variationskoeffizient

*Herpes simplex virus type 2*

Probe	Genauigkeit innerhalb eines Durchlaufs %CV	Genauigkeit zwischen den Durchläufen %CV	Genauigkeit zwischen den Tagen %CV	Genauigkeit zwischen den Labors %CV
Positiven Kontrolle	0,5	1,8	1,9	2,7
Positive Probe 1	0,4	1,3	1,7	2,2
Positive Probe 2	0,8	1,5	1,8	2,4
Negativkontrolle	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation

CV: Variationskoeffizient

*Monkeypox virus*

Probe	Genauigkeit innerhalb eines Durchlaufs %CV	Genauigkeit zwischen den Durchläufen %CV	Genauigkeit zwischen den Tagen %CV	Genauigkeit zwischen den Labors %CV
Positiven Kontrolle	0,6	1,6	1,8	2,5
Positive Probe 1	1,1	1,2	1,9	2,5
Positive Probe 2	2,7	0,8	1,5	3,0
Negativkontrolle	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation

CV: Variationskoeffizient

*Treponema pallidum*

Probe	Genauigkeit innerhalb eines Durchlaufs %CV	Genauigkeit zwischen den Durchläufen %CV	Genauigkeit zwischen den Tagen %CV	Genauigkeit zwischen den Labors %CV
Positiven Kontrolle	0,5	1,2	1,6	2,0
Positive Probe 1	0,6	1,1	1,6	2,0
Positive Probe 2	0,8	1,3	1,6	2,2
Negativkontrolle	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation

CV: Variationskoeffizient

*Varicella zoster virus*

Probe	Genauigkeit innerhalb eines Durchlaufs %CV	Genauigkeit zwischen den Durchläufen %CV	Genauigkeit zwischen den Tagen %CV	Genauigkeit zwischen den Labors %CV
Positiven Kontrolle	0,5	1,3	1,7	2,1
Positive Probe 1	0,9	0,9	1,4	1,9
Positive Probe 2	2,8	1,2	0,3	3,1
Negativkontrolle	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation	Keine Amplifikation

CV: Variationskoeffizient

**KREUZREAKTIVITÄT**

Auch wurde eine Studie durchgeführt, um die Wirkung potenziell kreuzreaktiver Mikroorganismen zu bewerten.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Mikroorganismen	Probe Nr	Positive Nr
<i>Atopobium vaginae</i>	1	0
<i>Candida albicans</i>	1	0
<i>Candida auris</i>	1	0
<i>Candida dubliniensis</i>	1	0
<i>Candida glabrata</i>	1	0
<i>Candida guilliermondii</i>	1	0
<i>Candida krusei</i>	1	0
<i>Candida parapsilosis</i>	1	0
<i>Candida tropicalis</i>	1	0
<i>Chlamydia trachomatis</i> serovar B	1	0
<i>Chlamydia trachomatis</i> serovar D	1	0
<i>Chlamydia trachomatis</i> serovar E	1	0
<i>Chlamydia trachomatis</i> serovar J	1	0
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1	0
<i>Chlamydia psittaci</i>	1	0
Coronavirus	1	0
Zytomegalie-Virus	1	0
Enterovirus 68	1	0
Epstein-Barr Virus VCA	1	0
<i>Escherichia coli</i> (EAEC)	1	0
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1	0
<i>Helicobacter pylori</i>	1	0
<i>Lactobacillus jensenii</i>	1	0
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1	0
<i>Mycoplasma genitalium</i>	1	0
<i>Mycoplasma hominis</i>	1	0
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1	0
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	0
<i>Neisseria lactamica</i>	1	0
<i>Neisseria meningitidis</i> serogruppe A	1	0
<i>Neisseria mucosa</i>	1	0
<i>Neisseria perflava</i>	1	0
<i>Neisseria polysaccharea</i>	1	0
<i>Neisseria sicca</i>	1	0

Mikroorganismen	Probe Nr	Positive Nr
Papillomavirus Typ 16 (Ca Ski Zellen)	1	0
Papillomavirus Typ 18 (HeLa Zellen)	1	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1	0
<i>Shigella flexneri</i>	1	0
<i>Staphylococcus aureus</i> (mecA-)	1	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	0
<i>Trichomonas vaginalis</i>	1	0
<i>Ureaplasma parvum</i>	1	0
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1	0
INSGESAMT	44	0

Zusätzlich wurde eine in-silico-Analyse der Primer-/Sondensequenzen zum Vergleich mit anderen Mikroorganismen, die in die in klinischen Proben gefunden werden können, durchgeführt.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Mikroorganismen	Homologie >80%						
	CT	HSV-1	HSV-2	TP	HD	MPXV	VZV
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	No	No	No	No	Sí	No	No
<i>Actinomyces israelii</i>	No	No	No	No	No	No	No
<i>Alcaligenes faecalis</i>	No	No	No	No	No	No	Sí
<i>Bacillus subtilis</i>	No	No	No	No	No	No	No
<i>Bacteroides caccae</i>	No	No	No	No	No	No	No
<i>Bacteroides fragilis</i>	No	No	Sí	No	No	No	No
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	No	No	No	No	No	No	No
<i>Bifidobacterium breve</i>	No	No	No	No	No	No	No
<i>Blastomyces spp.</i>	Sí	No	No	No	No	No	No
<i>Coccidioides immitis</i>	No	No	No	Sí	No	No	No
Hepatitis A-Virus	No	No	No	No	No	No	No
<i>Histoplasma spp</i>	No	No	Sí	Sí	No	No	No
Humanes Immundefizienz-Virus Typ 1	No	No	Sí	No	No	No	No
Virus der lymphozytären Choriomeningitis	No	Sí	No	No	No	No	No
<i>Mobiluncus curtisii</i>	No	No	No	No	No	No	No
<i>Mobiluncus mulieris</i>	No	No	No	No	No	No	No
<i>Naegleria fowleri</i>	No	No	No	Sí	No	No	No
<i>Pentatrichomonas hominis</i>	No	No	No	No	No	No	No
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	No	No	No	No	No	No	No
<i>Peptostreptococcus magnus</i>	No	No	No	No	No	No	No
<i>Powassan virus</i>	No	No	No	No	No	No	No
<i>Prevotella bivia</i>	No	No	No	No	No	No	No
Rabiesvirus	No	No	No	No	No	No	No
<i>Taenia solium</i>	No	No	No	No	No	No	No
<i>Trichomonas tenax</i>	No	No	No	No	No	No	No

Die in der Tabelle aufgeführten Mikroorganismen wiesen eine Homologie von mehr als 80 % zu einem der Oligonukleotide auf, jedoch nicht zu einem anderen im Test enthaltenen. Eine Kreuzreaktion und/oder Interferenz mit dem Assay aufgrund der Anwesenheit dieses Organismus ist daher unwahrscheinlich.

**ANALYTISCHE SENSITIVITÄT**

Es wurde eine vorläufige LOD (Limit of Detection) bestimmt, indem seriellen Verdünnungen quantifizierter CT-LGV, HSV-1, HSV-2, TP, HD, VZV und MPXV-Proben getestet wurden. Die Proben wurden mit OptiPure Viral Kit auf dem Maelstrom 4800-Gerät (TANBead) extrahiert und auf dem CFX96 (Bio-Rad) getestet.

Nach dem Festlegen einer angenäherten LoD wurde die Endkonzentration bestätigt, indem 3 serielle Verdünnungen getestet wurden. Für jede Verdünnung werden mindestens 20 Replikate getestet.

Die LoD wird als die niedrigste Konzentration bestimmt, in der ≥ 95 % der Replikate positiv sind.

	CT-LGV	HD	HSV-1	HSV-2	MPXV	TP	VZV
LoD (kopien/µL)	0.3	0.4	0.1	0.3	0.3	0.2	0.4
LoD (kopien/mL)	300	400	100	300	300	200	400
LoD (kopien/reaktion)	3	4	1	3	3	2	4

## INKLUSIVITÄT

Es wurde eine in-silico-Analyse der im Test enthaltenen analysierten Gene durchgeführt, um die Inklusivität für die verschiedenen vorhandenen CT-LGV, HSV-1, HSV-2, TP, HD, VZV und MPXV-Sequenzen zu bestimmen.

Die Kriterien für die Einbeziehung der verschiedenen Sequenzen in die Analyse waren geografische Daten und das Datum, an dem die Sequenz hinterlegt wurde. In die Analyse jedes Mikroorganismus wurden verschiedene Abstammungslinien, Typen oder Subtypen einbezogen.

Der Zugriff auf die Sequenzen erfolgte über die Datenbanken der GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>).

Die Ergebnisse der In-silico-Analyse zeigen, dass der GENITAL ULCER REALTIME PCR KIT voraussichtlich alle derzeit verfügbaren CT-LGV, HSV-1, HSV-2, TP, HD, VZV und MPXV-Sequenzen nachweisen wird.

## EXTERNE KONTROLLE

Die folgenden Kontrollen sind erforderlich, werden aber nicht mit dem Test-Kit geliefert:

als positive Extraktionskontrolle, AMPLIRUN® TOTAL MONKEYPOX VIRUS CONTROL (SWAB) Cat. MBTC032-R (Vircell).

Externe Kontrollen helfen bei der Kontrolle von Kreuzkontaminationen während des Extraktionsvorgangs und dienen zusätzlich als Validierungsinstrument für Extraktionsreagenzien.

## BENUTZTE ETIKETTEN-SYMBOLLE



Für die *In-vitro* Diagnostik



Verwendbar bis (Verfallsdatum)



Bei x-y°C lagern



Inhalt ausreichend für <n> Bestimmungen



Chargen-Nummer



Bestell-Nummer



Gebrauchsanleitung beachten



Rekonstituieren in <X> µl



Hersteller

## LITERATUR

1. Barrientos-Durán, A. et al. 2020. Detection of sexually transmitted disease-causing pathogens from direct clinical specimens with the multiplex PCR-based STD direct flow chip kit. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 39, 235–241.
2. Cyril, C. Y. Yip. et al. 2019. Evaluation of RealStar® Alpha Herpesvirus PCR Kit for Detection of HSV-1, HSV-2, and VZV in Clinical Specimens. *BioMed Research International* Article ID 5715180, 6 pages.
3. Gomes Naveca, F. et al. 2013. Etiology of genital ulcer disease in a sexually transmitted infection reference center in Manaus, Brazilian Amazon. *PLoS One* 8, e63953.
4. Isenberg, H. D. 2004. Specimen Collection and Processing. p.10.4.6. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 2nd ed. ASM, Washington.
5. Ivanova N. V., Kuzmina M. L. 2013. Protocols for dry DNA storage and shipment at room temperature. *Molecular Ecology Resources*, 13, 890–898.
6. Kularatne, RS. et al. 2018. Trends in the relative prevalence of genital ulcer disease pathogens and associations with HIV infection in Johannesburg, South Africa, 2007–2015. *PLoS One* 13, e0194125.
7. Kriesel, JD. et al. 2016. Multiplex PCR testing for nine different sexually transmitted infections. *Int J STD AIDS*, 27, 1275–1282.
8. Romana, C. and Sandra, J. G. 2015. Lymphogranuloma venereum: diagnostic and treatment challenges. *Infection and Drug Resistance*, 8, 39–47.
9. Scott, L.J. et al. 2010. A new multiplex real-time PCR test for HSV1/2 and syphilis: an evaluation of its impact in the laboratory and clinical setting. *Sexually Transmitted Infections* BMJ Publishing Group, 86, 537–539.
10. World Health Organization. 2013. *Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus*. ISBN 978 92 4 150584 0.

11. Zhou, L. et al. 2015. Development of a multiplex real-time PCR assay for the detection of *Treponema pallidum*, HCV, HIV-1 and HBV. *Jpn J Infect Dis*, 68, 481–487.

Versionsnummer: L-RTPCR007-LPD-DE-01

Datum: 2023/09/25

Aktualisierungen: Neue Bestellnummer