

IVD

Gebrauchsanweisung (Deutsch)

1 Zweckbestimmung

Der ampliCube STD Panel 2.1 ist ein qualitativer In-vitro-Test zum spezifischen Nachweis der DNA von *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* und *Ureaplasma parvum* (sowie deren Differenzierung) in Urinproben (vorzugsweise Erststrahlurin) oder Urogenitalabstrichen humanen Ursprungs.

Dieser Test ist für die Anwendung auf Real-Time PCR-Thermocyclern (nähere Angaben siehe Kapitel 8) bestimmt. Ein LightCycler® 480 II (Roche) kann für diesen Test nicht verwendet werden.

2 Anwendungsbereich

Trichomonas vaginalis ist ein parasitisch lebendes, anaerobes Protozoon, das zur Familie der Trichomonaden gehört und hauptsächlich durch Geschlechtsverkehr übertragen wird. Beim Mann verläuft die Erkrankung meist ohne Symptome, es kann jedoch zu einer Urethritis kommen. Bei der Frau äußern sich die Symptome in einer Entzündung der Schleimhäute an den Geschlechtsorganen (Trichomonadenkolpitis). Auch hier kann ein Befall der Harnröhre erfolgen und zur Entzündung führen.

Die Bakterien *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* und *Ureaplasma parvum* gehören zur Familie der Mykoplasmen. Eine Mykoplasmeninfektion ist eine hochansteckende und häufig auftretende sexuell übertragbare Erkrankung. Die Erreger besiedeln häufig die Genitalien ohne den Wirt zu schädigen, doch manchmal können sie lokale Entzündungen auslösen. Je nach Lokalisation der Entzündung (Harnleiter, Blase, Prostata, Nieren, Nierenbecken, Scheide, Eileiter, Eierstöcke) sind die Symptome unterschiedlich. Häufigste Symptome sind gesteigerter Harndrang, Brennen beim Wasserlassen, gelblicher Ausfluss (Urethritis) und Schmerzen in der Nierengegend. Beim Mann ist *U. urealyticum* der Erreger der nicht-gonorrhöischen Urethritis und Prostatitis.

3 Testprinzip

Bei dem Test handelt es sich um ein Real-Time (Echtzeit) PCR-System. Es verwendet spezifische Primer und markierte Sonden für die Amplifikation und Detektion der DNA von *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* und *Ureaplasma parvum*.

Um sicherzustellen, dass die aus der Patientenprobe isolierten Nukleinsäuren keine PCR-inhibierenden Substanzen enthalten, wird der Probe während der DNA-Isolierung eine Interne Kontrolle (IC) zugesetzt. Diese IC wird im selben PCR-Ansatz amplifiziert und detektiert. So können falsch negative Testergebnisse aufgrund einer Inhibition der PCR-Reaktion ausgeschlossen werden. Gleichzeitig dient die IC als Nachweis der Nukleinsäure-Extraktion aus der Patientenprobe. Sonden für die Detektion der erregerspezifischen DNA sind mit den Reporter-Farbstoffen FAM (*Trichomonas vaginalis*), HEX (*Mycoplasma hominis*), ATTO Rho12 (*Ureaplasma urealyticum*) und Quasar 705 (*Ureaplasma parvum*) markiert, Sonden für die Detektion der Internen Kontrolle mit ATTO 647N. Dadurch ist die simultane Detektion aller Zielsequenzen in einem Reaktionsansatz möglich.

Der Ct-Wert (*cycle threshold*) beschreibt den Teil der Kurve, in dem die Fluoreszenz erstmals exponentiell über den Hintergrundwert ansteigt.

4 Reagenzien

4.1 Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung reichen für 50 Bestimmungen. Jeder Reagenziensatz enthält:

P&P MIX	150 µl Primer & Probe-Mix für <i>Trichomonas vaginalis</i> , <i>Mycoplasma hominis</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i> , <i>Ureaplasma parvum</i> und Interne Kontrolle (Deckelfarbe grün)
ENZYME	600 µl Enzym Mix (Deckelfarbe weiß) Enthält DNA-Polymerase. (Komponente ist blau eingefärbt.)
CONTROL INT	250 µl Interne Kontrolle (Deckelfarbe farblos)
CONTROL +	170 µl Positivkontrolle (Deckelfarbe rot)
CONTROL -	2x 1800 µl Negativkontrolle (Deckelfarbe blau)

INSTRU	1 Gebrauchsanweisung
---------------	----------------------

4.2 Zusätzlich benötigte Reagenzien, Materialien und Geräte

- Je nach verwendetem Real-Time PCR-Cycler stellt MIKROGEN Reagenzien zur Farbstoffkalibrierung zur Verfügung: MIKROGEN ampliCube Color Compensation (cobas z 480 Analyzer (Roche), 5-Plex, Artikel-Nr. 50503), Farbstoffkalibrierungsset für QuantStudio 5 (Applied Biosystems, Artikel-Nr. 50504) oder das Farbstoffkalibrierungsset für den CFX96 (Bio-Rad, Artikel-Nr. 50505). Bei Abarbeitung am Mic (bms) PCR-Cycler stellt MIKROGEN Mic-Assay-Templates zur Verfügung.
- Nukleinsäure-Extraktion: Es werden folgende Nukleinsäure-Extraktionssysteme empfohlen: MAGNA Pure® System, Total Nucleic Acid Isolation Kit (Roche) oder alphaClean Mag RNA/DNA Kit (MIKROGEN) mit Abarbeitung am M32-, M48- oder M96-Extractor (Bio-comma)
- Real-Time Cycler: cobas z 480 Analyzer (Roche), CFX96™ (Bio-Rad), QuantStudio 5 (Applied Biosystems), Mic (bms), Rotor-Gene Q (Qiagen)
- 96-Well PCR-Platten und Folien oder Reaktionsgefäße (PCR-clean): Empfehlungen des Real-Time PCR-Cycler-Herstellers beachten
- Mikropipetten mit Einwegspitzen mit Filter 10 µl, 20 µl, 100 µl und 1000 µl
- Vortex-Mixer mit hoher Drehzahl (empfohlen 3200 rpm)
- Mini-Zentrifuge
- Ggf. Plattenzentrifuge
- Einweg-Schutzhandschuhe puderfrei
- Kühlblock

5 Haltbarkeitsdauer und Handhabung

- Reagenzien vor und nach Gebrauch zwischen -25 °C und -18 °C lagern.
- Wiederholtes Auftauen und Einfrieren der Komponenten (mehr als zehnmal) muss vermieden werden. Aliquotierung der Testkomponenten nach dem ersten Auftauen wird empfohlen.
- Reagenzien während der Arbeitsschritte stets geeignet kühlen (+2 °C bis +8 °C).
- Kitkomponenten während der gesamten Testdurchführung vor direktem Sonnenlicht schützen.
- Vor Testbeginn alle Reagenzien vollständig auftauen, mischen (kurzes Vortexen) und abzentrifugieren.
- Die Packungen tragen ein Verfallsdatum, nach dessen Erreichen keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden kann.
- Der Test ist nur von geschultem und autorisiertem Fachpersonal durchzuführen.
- Bei substanziellen Änderungen am Produkt bzw. der Anwendungsvorschrift durch den Anwender kann die Anwendung außerhalb der von MIKROGEN vorgegebenen Zweckbestimmung liegen.
- Kreuzkontamination kann zu falschen Testergebnissen führen. Fügen Sie Patientenproben und Kontrollen sorgfältig zu. Achten Sie darauf, dass Reaktionsansätze nicht in andere Vertiefungen verschleppt werden.

6 Warnungen und Sicherheitsvorkehrungen

- Nur für die In-vitro-Diagnostik verwenden.
- Sämtliche Patientenproben müssen als potenziell infektiös behandelt werden.
- Während des gesamten Testverfahrens müssen geeignete Einweg-Handschuhe getragen werden.
- Sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potenziell infektiösen Proben in Berührung kommen, müssen mit geeigneten Desinfektionsmitteln behandelt oder entsprechend den Hygienevorschriften entsorgt werden. Die Konzentrationsangaben und Inkubationszeiten der Hersteller müssen beachtet werden.
- Ersetzen oder mischen Sie die Reagenzien nicht mit Reagenzien aus anderen Kit-Chargen, anderen MIKROGEN PCR-Kits oder mit Reagenzien anderer Hersteller.
- Vor Durchführung des Tests die gesamte Gebrauchsanweisung durchlesen und sorgfältig befolgen. Abweichungen vom in der Gebrauchsanweisung aufgeführten Testprotokoll können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

7 Probenentnahme und Reagenzien-Vorbereitung

7.1 Probenmaterial und Probenvorbereitung

Ausgangsmaterial für den ampliCube STD Panel 2.1 ist DNA extrahiert aus Urinproben (vorzugsweise Erstrahlurin) oder Urogenitalabstrichen humanen Ursprungs. Die Qualität der Nukleinsäurepräparation hat Einfluss auf das Testergebnis. Es muss sichergestellt werden, dass die gewählte Extraktionsmethode vereinbar mit der Real-Time PCR-Technologie ist.

7.2 Extraktion der Nukleinsäuren

Extrahieren Sie die Nukleinsäuren aus der Patientenprobe und der Negativkontrolle (NC). Wir empfehlen ein Startvolumen für die Extraktion von 200 µl und ein Elutionsvolumen von 50 µl bzw. 100 µl je nach Extraktionssystem. Folgen Sie den Anweisungen des Herstellers des Extraktionskits.

1. Tauen Sie die Interne Kontrolle (IC) (Deckelfarbe farblos) und die Negativkontrolle (NC) (Deckelfarbe blau) auf.
Stellen Sie sicher, dass die IC und die NC vollständig aufgetaut sind. Mischen Sie die IC und die NC vor Gebrauch durch kurzes Vortexen und zentrifugieren Sie kurz ab!
2. Fügen Sie bei der Extraktion jeder Patientenprobe und der NC 5 µl IC zu. Die IC soll dem Proben-Lysepuffer-Mix und nicht direkt dem Probenmaterial zugesetzt werden.
3. Extrahieren Sie die Patientenproben und die NC. (Hinweis: die NC kann nicht ohne Extraktion in die PCR eingesetzt werden!)
4. Die Positivkontrolle wird nicht extrahiert.

Folgende Nukleinsäure-Extraktionssysteme wurden für die Leistungsbewertung verwendet:

Extraktionssystem	Probenvolumen	Elutionsvolumen
MagNA Pure® 24 (Roche) Total NA Isolation Kit	200 µl	50 µl
M96 Nucleic Acid Extraction Systems (biocomma) alphaClean Mag RNA/DNA Kit (MIKROGEN)	200 µl	100 µl
M32 Nucleic Acid Extraction Systems (biocomma) alphaClean Mag RNA/DNA Kit (MIKROGEN)	200 µl	100 µl

Möchten Sie andere Extraktionsmethoden als die unter 4.2 und für die Leistungsbewertung aufgeführten verwenden, so wenden Sie sich bitte an den Hersteller, um die Kompatibilität zu klären.

7.3 Ansetzen des Mastermixes

1. Tauen Sie den Primer & Probe-Mix (Deckelfarbe grün) und den Enzym Mix (Deckelfarbe weiß) auf. Schützen Sie dabei die Reagenzien vor Licht.
Stellen Sie sicher, dass die Reagenzien vollständig aufgetaut sind. Mischen Sie die Reagenzien vor dem Gebrauch durch Vortexen und zentrifugieren Sie kurz ab!
2. Setzen Sie den Mastermix nach folgendem Pipettierschema an:

Komponente	Mastermix für 1 Reaktion
Primer & Probe-Mix	3 µl
Enzym Mix	12 µl
Gesamtvolumen	15 µl

3. Mischen Sie den kompletten Mastermix durch Vortexen und zentrifugieren Sie kurz ab.
4. Legen Sie 15 µl Mastermix für jede PCR-Reaktion vor.

7.4 Ansetzen der PCR-Reaktion

1. Tauen Sie die Positivkontrolle (PC) (Deckelfarbe rot) auf.
Stellen Sie sicher, dass die Reagenzien vollständig aufgetaut sind. Mischen Sie die Reagenzien vor dem Gebrauch durch Vortexen und zentrifugieren Sie kurz ab!

Komponente	1 Reaktion
Mastermix aus 7.3	15 µl
Proben-Eluat oder Eluat der NC oder die PC	10 µl

2. Pipettieren Sie je 10 µl des Proben-Eluates zu 15 µl Mastermix.
3. Pipettieren Sie 10 µl der Positivkontrolle (nicht präpariert) zu 15 µl Mastermix.
4. Pipettieren Sie 10 µl des Eluates der Negativkontrolle zu 15 µl Mastermix.

Jeder Lauf muss eine Positiv- und eine Negativkontrolle beinhalten!

Verschließen Sie die PCR-Platte mit einer adhäsiven, optischen Folie bzw. die Reaktionsgefäße mit den vorgesehenen Deckeln.

 **Die PCR-Platten bzw. Reaktionsgefäße müssen mind. 5 Sek. mit maximaler Drehzahl gevortext und anschließend kurz zentrifugiert werden.**

 **PCR-Reaktionsgefäße für den Mic PCR-Cycler müssen mind. 10 Sek. mit maximaler Drehzahl gevortext werden.**

8 Programmierung des Real-Time Cyclers

Der ampliCube STD Panel 2.1 wurde mit dem CFX96™ (Bio-Rad) evaluiert und am QuantStudio 5 (Applied Biosystems), cobas z 480 Analyzer (Roche), Mic (bms) und Rotor-Gene Q (Qiagen) validiert.

8.1 Einstellung der Detektionskanäle

CFX96™ (Bio-Rad)

	<i>Trichomonas vaginalis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Interne Kontrolle (IC)	<i>Ureaplasma parvum</i>
Farbe	grün	gelb	orange	rot	dunkelrot
Reporterfarbstoff	FAM	HEX	ATTO Rho12	ATTO 647N	Quasar 705
Modus	all channels				

Die Datenaufnahme und -auswertung am CFX96™ erfolgt mit der Methode *calc / data acquisition mode: all channels*. Eine Kalibrierung des CFX96™ (Bio-Rad) muss für ATTO Rho12 und ATTO 647N vorab durchgeführt werden. Von MIKROGEN erhalten Sie das benötigte Farbstoffkalibrierungsset (Bio-Rad, Artikel-Nr. 50505).

QuantStudio 5 (Applied Biosystems)

	<i>Trichomonas vaginalis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Interne Kontrolle (IC)	<i>Ureaplasma parvum</i>
Farbe	grün	gelb	orange	rot	dunkelrot
Reporterfarbstoff	FAM	HEX	ATTO Rho12	ATTO 647N	Quasar 705
Anregung	X1 / 470 nm	X2 / 520 nm	X4 / 580 nm	X5 / 640 nm	X6 / 662 nm
Emission	M1 / 520 nm	M2 / 558 nm	M4 / 623 nm	M5 / 682 nm	M6 / 711 nm
Quencher	[none]	[none]	[none]	[none]	[none]

Wählen Sie unter Settings 1. Run mode „standard“, 2. Reference dye „none“, 3. Experiment type „custom“. Eine Kalibrierung des QS5 (QuantStudio 5) muss vorab für ATTO 647N und Quasar 705 durchgeführt werden. Von MIKROGEN erhalten Sie das benötigte Farbstoffkalibrierungsset (Applied Biosystems, Artikel-Nr. 50504).

cobas z 480 Analyzer (Roche)

	<i>Trichomonas vaginalis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Interne Kontrolle (IC)	<i>Ureaplasma parvum</i>
Farbe	grün	gelb	orange	rot	dunkelrot
Reporterfarbstoff	FAM	HEX	ATTO Rho12	ATTO 647N	Quasar 705
Anregung	465 nm	540 nm	540 nm	610 nm	680 nm
Emission	510 nm	580 nm	610 nm	670 nm	700 nm
Quencher	[none]	[none]	[none]	[none]	[none]

Beim cobas z 480 Analyzer (Roche) ist es notwendig, vorab eine Color Compensation (5-Plex, Artikel-Nr. 50503) zu verwenden, die von MIKROGEN zur Verfügung gestellt wird.

Mic (bms)

Bei Verwendung eines Mic (bms) sind aufgrund der Begrenzung auf vier Kanäle nur vier Farben nutzbar.

	<i>Trichomonas vaginalis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Interne Kontrolle (IC)	<i>Ureaplasma parvum</i>
Farbe	grün	gelb	orange	rot	keine Detektion

MIKROGEN stellt Ihnen für die Abarbeitung validierte Mic-Assay-Templates zur Verfügung. Bitte verwenden Sie ausschließlich die MIKROGEN Mic-Assay-Templates.

Rotor-Gene Q (Qiagen)

Bei Verwendung eines Rotor-Gene Q (Qiagen) sind nur vier Farben nutzbar.

	<i>Trichomonas vaginalis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Interne Kontrolle (IC)	<i>Ureaplasma parvum</i>
Farbe	grün	gelb	orange	rot	dunkelrot
Reporterfarbstoff	FAM	HEX	ATTO Rho12	ATTO 647N	keine Detektion
Anregung	470 nm	530 nm	585 nm	625 nm	keine Detektion
Emission	510 nm	555 nm	610 nm	660 nm	keine Detektion
Quencher	[none]	[none]	[none]	[none]	keine Detektion

8.2 PCR-Programm

Reverse Transkription	50 °C	8 Min.
Denaturierung	95 °C	3 Min.
Amplifikation	45 Zyklen	
• Denaturierung	95 °C	10 Sek.
• Annealing/Elongation	60 °C	45 Sek.

Grundlegende Informationen zur Programmierung des jeweiligen Real-Time PCR-Cyclers entnehmen Sie bitte der Anleitung des Cyclers. Für spezielle Informationen zur Programmierung des Real-Time PCR-Cyclers bei Verwendung des ampliCube STD Panel 2.1 kontaktieren Sie bitte den Hersteller.

9 Ergebnisse

9.1 Validierung

- Die Negativkontrolle muss unterhalb des *Thresholds* liegen. Die Interne Kontrolle (IC) in der Negativkontrolle muss einen positiven Kurvenverlauf zeigen. Zeigt die Negativkontrolle einen positiven Kurvenverlauf (Kontamination) oder ist die IC in der Negativkontrolle nicht valide, ist der Testlauf nicht auswertbar.
- Die Positivkontrolle muss einen positiven Kurvenverlauf zeigen. Der Ct-Wert der Positivkontrolle muss < 33 sein. Eine Positivkontrolle außerhalb dieses Bereichs gibt einen Hinweis auf ein Problem bei der Amplifikation.
- Die Interne Kontrolle (IC) bei negativen Proben muss einen positiven Kurvenverlauf zeigen. Das Signal der IC einer Patientenprobe muss mit dem Signal der IC in der extrahierten Negativkontrolle verglichen werden. Ein Unterschied von > +3 für den Ct-Wert der IC einer Probe im Vergleich zur IC der Negativkontrolle oder das Fehlen eines IC-Signals in der Probe können auf signifikante Inhibition der PCR-Reaktion hinweisen. In diesen Fällen ist ein negatives Testergebnis nicht valide.

9.2 Auswertung

Die Auswertung der Daten kann mit der entsprechenden PCR-Cycler-Software oder einer speziell von MIKROGEN unterstützten Software-Lösung zur automatisierten PCR-Auswertung und Interpretation erfolgen. Weitere Informationen und entsprechende Anleitungen erhalten Sie auf Anfrage bei MIKROGEN.

	<i>Trichomonas vaginalis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Interne Kontrolle (IC)	<i>Ureaplasma parvum</i>	
Farbe	grün	gelb	orange	rot	dunkelrot	
Reporterfarbstoff	FAM	HEX	ATTO Rho12	ATTO 647N	Quasar 705	
Auswertung mit	CFX96™	FAM	HEX	ROX	Cy5	Quasar 705
	QS5	FAM	VIC	ROX	ATTO 647N	Quasar 705
	Mic	FAM	HEX	ROX	Cy5	keine Detektion
	RG Q	green	yellow	orange	red	keine Detektion

Amplifikationssignale über dem *Threshold* werden als positive Ergebnisse gewertet. Leere Felder in der Tabelle gelten als negatives Ergebnis.

Farbe	<i>Trichomonas vaginalis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Interne Kontrolle (IC)	<i>Ureaplasma parvum</i>
grün	positiv				
gelb		positiv			
orange			positiv		
rot				positiv*	
dunkelrot					positiv

* Im Falle positiver Signale in den Detektionskanälen der Pathogene wird das Signal der Internen Kontrolle nicht für die Testinterpretation benötigt. Eine hohe Erregerlast in der Patientenprobe kann zu einem verminderten oder fehlenden Signal für die Interne Kontrolle führen.

10 Grenzen der Methode, Einschränkungen

- Testergebnisse sind immer in Zusammenhang mit dem klinischen Bild zu sehen. Therapeutische Konsequenzen der Befundung sind im Zusammenhang mit den klinischen Daten zu ziehen.
- Ein negatives *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* oder *Ureaplasma parvum*-Testresultat kann eine Infektion mit den jeweiligen Erregern nicht ausschließen.

11 Leistungsmerkmale

11.1 Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Die Sensitivität und Spezifität wurden anhand von definiert positiven und definiert negativen Proben bestimmt.

Tabelle 1: Definiert positive klinische Proben

ampliCube STD Panel 2.1	<i>Trichomonas vaginalis</i> (n=33)	<i>Mycoplasma hominis</i> (n=5)	<i>Ureaplasma urealyticum</i> (n=6)	<i>Ureaplasma parvum</i> (n=19)
Negativ	0	0	0	0
Positiv	33	5	6	19
Sensitivität [%]	100	100	100	100
95 % CI* [%]	89,57 – 100	56,55 – 100	60,97 – 100	83,18 – 100

* CI = Konfidenzintervall (engl. confidence interval)

Tabelle 2: Definiert negative klinische Proben

ampliCube STD Panel 2.1	<i>Trichomonas vaginalis</i> (n=66)	<i>Mycoplasma hominis</i> (n=66)	<i>Ureaplasma urealyticum</i> (n=66)	<i>Ureaplasma parvum</i> (n=66)
Negativ	66	66	66	66
Positiv	0	0	0	0
Spezifität [%]	100	100	100	100
95 % CI* [%]	94,50 – 100	94,50 – 100	94,50 – 100	94,50 – 100

* CI = Konfidenzintervall (engl. confidence interval)

11.2 Analytische Sensitivität

Die Nachweisgrenze (LoD) des ampliCube STD Panel 2.1 wurde mit Verdünnungsreihen von aufgereinigter genomischer DNA (Vircell Standard) bekannter Konzentration auf dem CFX96™ (Bio-Rad) ermitelt. Die 95%-Nachweisgrenze wurde mittels Probit Regressionsanalyse mit der CombiStats™ Version 6.0 Software (Council of Europe) bestimmt.

Tabelle 3: Nachweisgrenze (LoD)

	<i>Trichomonas vaginalis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	<i>Ureaplasma parvum</i>
LoD 95%- Detektionslimit [Kopien/PCR]	6,41	15,50	5,64	8,90
95% CI* [Kopien/PCR]	2,90 – 25,28	9,53 – 37,67	3,28 – 18,69	4,80 – 27,51

* CI = Konfidenzintervall (engl. confidence interval)

11.3 Analytische Spezifität

Die BLAST Suche (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/) zeigte, dass die ausgewählten Primer und Sonden des ampliCube STD Panel 2.1 die ausgewählten Pathogene spezifisch detektieren. Darüber hinaus wurde die Spezifität durch Untersuchung genomischer DNA/RNA von weiteren humanpathogenen Bakterien und Viren ermittelt.

Tabelle 4: Bakterien und Viren, die getestet wurden, um die analytische Spezifität des ampliCube STD Panel 2.1 zu zeigen.

Bakterien	Viren
<i>Aerococcus urinae</i>	Adenovirus
<i>Campylobacter coli</i>	Cytomegalovirus
<i>Campylobacter jejuni</i>	Herpes simplex Virus 1
<i>Candida albicans</i>	Herpes simplex Virus 2
<i>Candida glabrata</i>	Mumps Virus
<i>Candida krusei</i>	Varicella zoster Virus
<i>Candida parapsilosis</i>	
<i>Chlamydia trachomatis</i>	
<i>Citrobacter freundii</i>	
<i>Clostridium difficile</i>	
<i>Clostridium perfringens</i>	
EHEC stx+	
<i>Enterococcus faecalis</i>	
<i>Mycoplasma genitalium</i>	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
<i>Proteus mirabilis</i>	
<i>Proteus vulgaris</i>	
<i>Providencia stuarti</i>	
<i>Treponema pallidum</i>	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	

Keine dieser Proben zeigte ein positives Signal. Die im ampliCube STD Panel 2.1 verwendeten Primer und Sonden zeigten keine Kreuzreaktionen mit den in Tabelle 4 aufgeführten Erregern. Die Interne Kontrolle (IC) war bei allen Testungen valide.

11.4 Äquivalenz verschiedener Probenmaterialien

Bestimmt wurde der Variationskoeffizient (VK) des Ct-Wertes zwischen Wasser und dem Extrakt des jeweiligen Probenmaterials nach Zugabe von aufgereinigter genomischer DNA (Vircell Standard) bekannter Konzentration.

Tabelle 5: Äquivalenz verschiedener Probenmaterialien

	<i>Trichomonas vaginalis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	<i>Ureaplasma parvum</i>
VK [%] (Urin, H ₂ O)	0,57	0,95	1,24	0,75
VK [%] (Abstrich, H ₂ O)	0,73	1,11	1,32	0,81

Der Variationskoeffizient (VK), basierend auf dem Ct-Wert (*cycle threshold*) zwischen Wasser und den DNA-Extrakten (gewonnen aus den verschiedenen Probenmaterialien), war bei allen Zielgenen ≤ 1,32%.

12 Literatur

1. M. Biernat-Sudolska et al. (2006): Assessment of various diagnostic methods of ureaplasma respiratory tract infections in newborns. Acta Biochimica Polonica, October 2006; Vol 53 No.3/2006 pp: 609-612
2. M. Bradic et al (2017): Genetic indicators of drug resistance in the highly repetitive genomes of *Trichomonas vaginalis* and other trichomonads.

3. R. L Dunne et al (2003): Drug resistance in the sexually transmitted protozoan *Trichomonas vaginalis*. Cell Research (2003); 13(4): pp: 239-249
4. T. Edwards et al (2014): *Trichomonas vaginalis*: Clinical relevance, pathogenicity and diagnosis. Crit Rev Microbiol, Early Online: 1–12
5. M Hobbs et al (2013): Modern diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection.
6. C. Huang et al (2015): *Mycoplasma* and *ureaplasma* infection and male infertility: a systematic review and meta-analysis, Andrology 3.5, pp: 809-816
7. R. D. Kirkcaldy et al (2012): *Trichomonas vaginalis* Antimicrobial Drug Resistance in 6 US Cities, STD Surveillance Network, 2009–2010. Emerging Infectious Diseases Vol. 18, No. 6, June 2012, pp: 939-943
8. B. Larsen et al (2010): *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, and Adverse Pregnancy Outcomes: A Fresh Look. Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology, Volume 2010, Article ID 521921, pp: 1-7
9. H. Moi et al (2015): Management of non-gonococcal urethritis, BMC infectious diseases 15.1, pp: 1-7
10. T. E. Paulish-Miller et al (2014): *Trichomonas vaginalis* Metronidazole Resistance Is Associated with
11. Sex Transm Infect. 2013 September; 89(6): pp: 434–438
12. Single Nucleotide Polymorphisms in the Nitroreductase Genes *ntf4Tv* and *ntf6Tv*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy p. 2938–2943 May 2014 Volume 58 Number 5
13. J. R. Schwebke et al (2004): Trichomoniasis. Clinical Microbiology Reviews, Oct. 2004, pp. 794–803
14. D. Shey Nsagha et al (2015): The Epidemiology of *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella vaginalis* and *Candida albicans* Co- Infections in Women Attending the Yaounde University Teaching Hospital. American Journal of Epidemiology and Infectious Disease, 2015, Vol. 3, No. 2, pp: 28-31

Auf Anforderung senden wir Ihnen gerne weiterführende Literatur zu.

13 Erläuterung der Symbole

	Inhalt ist ausreichend für <n> Ansätze Anzahl der Ansätze
	Primer & Probe-Mix
	Enzym Mix
	Interne Kontrolle
	Positivkontrolle
	Negativkontrolle
	Gebrauchsanweisung
	Gebrauchsanweisung beachten
	Inhalt, enthält
	In-vitro-Diagnostikum
	Chargen-/Versionsnummer
	Bestell-Nummer
	Verwendbar bis Verfallsdatum
	Lagerung bei x°C bis y°C
	Hersteller

14 Hersteller- und Versionsdaten

ampliCube STD Panel 2.1	Artikel-Nr. 50322
Gebrauchsanweisung gültig ab	GAACSD2102D 2023-04
	MIKROGEN GmbH Anna-Sigmund-Str. 10 82061 Neuried Germany Tel. +49 89 54801-0 Fax +49 89 54801-100 E-Mail mikrogen@mikrogen.de Internet www.mikrogen.de



GAACSD2102