PathoFinder®

RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit

M. tuberculosis komplex a netuberkulózní *mykobakterie*

Kat. č. PF0920-R (50 reakcí)

Návod k použití

Červen 2020

Zřeknutí se odpovědnosti

Výsledky získané z tohoto nebo jakéhokoli jiného diagnostického panelu by měly být používány a interpretovány pouze v klinickém prostředí. Společnost PathoFinder BV nemůže převzít žádnou odpovědnost za učiněná klinická rozhodnutí. Tato příručka není prezentována společností PathoFinder BV jako úplný souhrn všech možných důsledků používání produktů RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria. Tato příručka by měla sloužit pouze jako kontrolní seznam. Neměl by být používán pro klinickou interpretaci získaných výsledků. Laboratoře by měly interpretovat a sdělovat výsledky na základě svých vlastních místních postupů

Informace obsažené v tomto dokumentu se mohou změnit bez předchozího upozornění.

PathoFinder BV SE ZŘÍKÁ VŠECH ZÁRUK TÝKAJÍCÍCH SE TOHOTO DOKUMENTU, VÝSLOVNÝCH NEBO PŘEDPOKLÁDANÝCH, VČETNĚ, ALE BEZ OMEZENÍ, ZÁRUK PRODEJNOSTI NEBO VHODNOSTI PRO KONKRÉTNÍ ÚČEL. V MAXIMÁLNÍM ROZSAHU POVOLENÉM ZÁKONEM V ŽÁDNÉM PŘÍPADĚ NEBUDE PathoFinder BV V ŽÁDNÉM PŘÍPADĚ ODPOVĚDNÝ, AŤ UŽ NA ZÁKLADĚ SMLOUVY, DELIKTU NEBO ZÁRUKY, NEBO PODLE JAKÉHOKOLI ZÁKONA NEBO NA JAKÉMKOLI JINÉM ZÁKLADĚ, ZA JAKÉKOLI ZVLÁŠTNÍ, NÁHODNÉ, NEPŘÍMÉ, REPRESIVNÍ, VÍCENÁSOBNÉ NEBO NÁSLEDNÉ ŠKODY V SOUVISLOSTI S TÍMTO DOKUMENTEM, VČETNĚ, ALE BEZ OMEZENÍ, ZDA JE TO PŘEDVÍDATELNÉ NEBO NE A ZDA JE SPOLEČNOST PathoFinder BV UPOZORNĚNA NA MOŽNOST TAKOVÝCH ŠKOD.

Produkty Realaccurate® Quadruplex Mycobacteria JSOU POSKYTOVÁNY PRO PROFESIONÁLNÍ VÝZKUMNÉ TESTOVÁNÍ . TYTO PRODUKTY NEPOSKYTUJÍ LICENCI K PROVÁDĚNÍ PCR NA ZÁKLADĚ PATENTŮ VLASTNĚNÝCH TŘETÍ STRANOU, VČETNĚ HOFFMAN-LA ROCHE (DIAGNOSTIKA, CH-4070 BASILEJ, ŠVÝCARSKO) A ROCHE MOLECULAR SYSTEMS, INC (ROCHE MOLECULAR SYSTEMS, INC., 1145 ATLANTIC AVENUE, ALAMEDA, KALIFORNIE 94501).

Uživatel je odpovědný za validaci testů a dodržování regulačních požadavků týkajících se postupů a použití soupravy RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit.

Obsah

1. Úvod

Tuberkulóza (TBC), způsobená členy komplexu *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC), zůstává hlavním zdravotním problémem [1]. Netuberkulózní mykobakterie (NTM) jsou různorodou skupinou bakterií, která zahrnuje více než 200 různých druhů, z nichž některé mohou infikovat člověka a způsobit poškození plic podobné TBC [2]. Je důležité provést rychlou diagnózu MTBC a NCD, protože konvenční kultivace trvají 2 až 8 týdnů, v závislosti na druhu mykobakterií. Zvláště důležité je umět rozlišovat mezi typy MTBC a NCD, aby bylo možné kontrolovat infekci a zvolit antimikrobiální léčbu [3].

RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit dokáže detekovat a rozlišovat mezi MTBC a NCD DNA. Sada navíc obsahuje vnitřní kontrolu, která umožňuje sledování extrakce nukleových kyselin a PCR amplifikace.

Popis

RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit je kvalitativní in vitro diagnostický test s označením CE, založený na technologii multiplexní PCR v reálném čase, který dokáže detekovat a rozlišit druhy CMTB a nepřenosné choroby klinického zájmu za 75 minut.

Vstupní vzorek se skládá z purifikovaného extraktu celkových nukleových kyselin ze sputa, bronchoalveolární laváže (BAL), zbytků ze sputa nebo LBA dekontaminovaných N-acetyl-L-cysteinem (NAC) a vzorků ze zkumavek s indikátorem růstu mykobakterií (MGIT ™).

RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit byla validována pro použití na NucliSENS® easyMAG® (bioMérieux), QIAamp® MinElute® Virus Spin Kit (QIAGEN) a RTP® Pathogen Kit (Stratec Molecular) pro extrakci nukleových kyselin z výše uvedených vzorků.

RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit byl validován pro použití na LightCycler® 480 II (Roche), Rotor-Gene® Q (QIAGEN), Mic qPCR Cycler (Bio Molecular Systems) a CFX96™ (Bio-Rad) pro detekci patogenních nukleových kyselin.

Před stanovením konečné diagnózy jsou vyžadovány další laboratorní testy a klinické studie. Negativní výsledky nemusí nutně znamenat nepřítomnost mykobakteriální infekce. Negativní výsledky by neměly být používány jako jediný základ pro diagnózu, léčbu, jiná klinická následná rozhodnutí nebo opatření k prevenci infekcí. Pozitivní výsledky nevylučují souběžnou infekci s jinými patogeny. Patogen (patogeny) nemusí být jedinou příčinou onemocnění.

Tento výrobek by měl používat pouze laboratorní personál.

2. Princip testu

RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit je nová verze RealAccurate® Mycobacterium tuberculosis PCR Kit (PF0020-R). Tento produkt poskytuje rychlou detekci druhů MTBC a NTM a skládá se ze směsí primerů a sond připravených k použití pro detekci a diferenciaci MTBC a NTM. Master směs obsahuje *Taq* DNA polymerázu a byla rozsáhle validována pomocí Mycobacterial primer/probe mixů, aby umožnila detekci nízkého počtu kopií druhů *Mycobacterium*.

Detekce se provádí na přístroji PCR v reálném čase, který je schopen detekovat FAM, Texas Red a TYE665 (viz tabulka 3), jako je LightCycler® 480 (Roche), Rotor-Gene® Q (QIAGEN), CFX96™ (Bio-Rad) nebo Mic qPCR Cycler (Bio Molecular Systems).

Součástí testu je interní kontrola (IC), která rozlišuje mezi skutečně negativními vzorky a falešně negativními výsledky, které mohou být důsledkem degradace nukleových kyselin, nesprávné extrakce DNA, inhibice PCR nebo chyby testu. RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit obsahuje pozitivní kontrolu (PC Mycobacteria) skládající se ze sekvencí CMTB, NTM a IC detekovaných v sadě.

Vstupní vzorek se skládá z purifikovaného extraktu nukleových kyselin ze sputa, bronchoalveolární laváže (BAL), zbytků ze sputa nebo BAL dekontaminovaných N-acetyl-L-cysteinem (NAC) a vzorků ze zkumavek s indikátorem růstu mykobakterií (MGIT ™).
Extrakce nukleových kyselin je samostatná technika, která je mimo rozsah tohoto testu. RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit pro extrakci nukleových kyselin byla validována na NucliSENS® easyMAG® (bioMérieux), QIAamp® MinElute Virus Spin Kit (QIAGEN) a RTP® Pathogen Kit (Stratec Molecular).

3. Cílové oblasti

Sekvence, na které se RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit zaměřuje, byly vybrány z konzervovaných oblastí zájmového patogenu. Cílové amplikony sady RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit jsou detekovány měřením fluorescence FAM, Texas Red a TYE665 v důsledku hydrolýzy sond.
Vybrané cílové oblasti a fluorescenční značky jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1: Vybrané cílové oblasti a fluorescenční detekční markery ze sady RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit

Patogen	Cíle	Fluorescenční štítek
Komplex *Mycobacterium tuberculosis*	IS6110	FAM
Všechny mykobakterie	*Gen ATPE*	Texas Red
U13 (IC)	Gen pro sestavení fágů	TYE665

4. Obsah sady

Následující materiál je uveden v sadě RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit (tabulka 2).

Tabulka 2: Materiál poskytnutý v sadě RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit

Součásti	Objem	Barva tuby	Barva šroubovacího uzávěru
Mykobakteriální primer/probe mix (Mix primerů / mykobakteriálních sond)	>400 µl	Jantarová	Zelená
Master mix	>650 µl	Průhledná	Černá
Vnitřní kontrola Pozitivní kontrola mykobakterií	>800 µl	Průhledná	Hnědá
Negativní kontrola (Contrôle Négatif)	>125 µl	Průhledná	Transparentní
	>1500 µl	Průhledná	Zelená
*RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit – Návod k použití**			

* pro jiné jazyky kontaktujte PathoFinder nebo jeho místního distributora

5. **Uživatelský hardware a činidla**

K provedení testu je nutné mít následující vybavení:

- Činidla pro extrakci DNA uvedená v oddíle 10
- Přístroj pro měření PCR v reálném čase* pro detekci fluorescenčních markerů uvedených v tabulce 1, včetně sterilních zkumavek, proužků nebo destiček PCR bez RNázy/DNázy
- Jednorázové rukavice
- Nastavitelné pipety*: 2–20 µl, 20–200 µl, 100–1000 µl
- Jednorázové špičky obsahující hydrofobní filtry
- Vírové míchadlo
- Sterilní lahvičky bez RNázy/DNázy o objemu 1,5 ml
- Odstředivka* schopná centrifugovat zkumavky, proužky nebo destičky PCR a 1,5 ml lahvičky
- Ledový obklad nebo led

* Poznámka: Tyto přístroje by měly být zkontrolovány a kalibrovány podle pokynů výrobce.

6. Skladování a manipulace

Reagencie RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit skladujte mimo dosah světla mezi –30 °C a –15 °C. Datum exspirace je uvedeno na štítku. Vyhněte se opakovanému zmrazování/rozmrazování (> 10x).
Aby se zabránilo kontaminaci, doporučujeme provádět testy ve třech samostatných oblastech.

Zóna 1: – Příprava PCR mixu

Zóna 2: – Extrakce nukleových kyselin ze vzorků
– Přidání extraktů nukleových kyselin do směsi
– Přidání pozitivního řízení do mixu

Zóna 3: – PCR reakce

7. Opatření

Aby se zabránilo křížové kontaminaci a dosáhlo se optimální replikace zkoušek, měla by být přijata následující opatření:

- Tento molekulárně diagnostický test by měl používat pouze kvalifikovaný laboratorní personál.
- Fyzicky oddělené pracovní oblasti, jak je uvedeno v části 6.
- Během dávkování používejte jednorázové rukavice.
- Používejte jednorázové hroty obsahující hydrofobní filtry, abyste zabránili křížové kontaminaci.
- Používejte lahvičky PCR bez RNázy/DNázy.
- Vždy rozmrazte vzorky RNA/DNA v ledu a uložte je do ledu nebo na ledový obklad.
- Při vyjímání enzymů z mrazničky vždy skladujte v ledu nebo na ledovém obalu. Zacházejte s nimi opatrně a velmi jemně promíchejte.
- Po rozmrazení činidla odstřeďujte po dobu 5 sekund a jemně je promíchejte, několikrát je pipetujte.
- Plán cyklu (tabulka 5) bude stanoven v přístroji PCR v reálném čase před zahájením testu.
- Vždy krátce centrifugujte lahvičky a destičky PCR a opatrně je otevřete, abyste se vyhnuli aerosolům.

8. Nastavení přístroje real-time PCR

RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit je navržen pro rychlou detekci na přístrojích PCR v reálném čase, které mají 3 různé detekční kanály: FAM, Texas Red a TYE665. Ostatní produkty RealAccurate® Quadruplex používají pro fluorescenční měření doplňkový detekční kanál MAX. Tabulka 3 ukazuje optimální nastavení filtru pro detekci 4 fluorescenčních značek používaných produkty RealAccurate® Quadruplex. Pro každý PCR přístroj v čase

Vybrat optimální filtry pro detekci fluorescenčních markerů používaných produkty RealAccurate® Quadruplex PCR.

Tabulka 3: Nastavení filtrů nástrojů real-time PCR pro test RealAccurate® Quadruplex PCR

Fluorescenční štítek	Zdroj	Detektor
FAM	495 nm	516 nm
MAX	524 nm	557 nm
Texas Red	598 nm	617 nm
TYE665	645 nm	665 nm

Přístroje jsou naprogramovány podle pokynů výrobce. Detekce bude povolena v kanálech FAM, Texas Red a TYE665 pro sadu RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit (detekční kanály specifické pro PCR viz část 13).

Výsledky jsou prezentovány jako sigmoidální grafy (pokud je použita lineární stupnice), reprezentující fluorescenci jako funkci počtu prstenců. Mezní hodnota cyklu (Ct) se zvyšuje, když se množství matrice v testu sníží. Prahová hodnota je upravena nad referenční čárou, ale musí být v logline rozsahu real-time PCR. Před určením hodnoty Ct zkontrolujte, zda je referenční čára správně umístěna, a v případě potřeby ji upravte.

9. Vzorky Klinický

Diagnóza mykobakteriální infekce závisí na kvalitě odběru vzorku , jeho rychlém transportu do laboratoře a jeho správném skladování před laboratorním vyšetřením.

Klinické vzorky by měly být co nejdříve přepraveny do laboratoře, alikovány a okamžitě testovány. Měly by být skladovány při teplotě 2-8 °C. Pokud je nelze podat do 48 hodin, měly by být zmrazeny při teplotě minimálně -20 °C, lépe při teplotě -70 °C.

Souprava RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit byla validována na sputu, BAL, reziduích ze sputa nebo BAL dekontaminovaných N-acetyl-L-cysteinem (NAC) a vzorcích ze zkumavek s indikátorem růstu mykobakterií (MGIT ™).

10. Příprava na extrakci DNA ze vzorků

Příprava vzorků je součástí samostatného procesu, který je mimo rozsah tohoto produktu, takže ke zpracování vzorků a provedení extrakce a purifikace nukleových kyselin budou použity vhodné metody nebo produkty.
Před extrakcí nukleových kyselin může být nutné projít krokem předúpravy, aby se homogenizovaly a solubilizovaly některé vzorky sliznice, jako je sputum. Za tímto účelem lze do vzorku přidat dithiothreitol (DTT) za

konečná koncentrace 0,1 M. Může být nutné smíchat vzorek s vírem a inkubovat při 37 °C po dobu 15 minut.

Následující metody extrakce DNA byly ověřeny pro použití se soupravou RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR:

- NucliSENS® easyMAG® (bioMérieux)

Extrakce nukleových kyselin pomocí NucliSENS® easyMAG® by měla být provedena podle pokynů výrobce a pomocí extrakčního protokolu "Generic 2.0.0". Použijte dvě stě (200) µl vzorku se zabudovanou lýzou a zvolte eluční objem 100 µl. Ke každému vzorku se přidá pět (5) µl vnitřní kontroly před extrakcí nukleové kyseliny.

- QIAamp® MinElute Virus Spin Kit (kat. č. 57704, QIAGEN)

Budeme se řídit protokolem výrobce. Použijte 200 µl vzorku a eluujte ve 100 µl vody. Doporučujeme nepokoušet se o nadměrnou koncentraci nukleových kyselin, protože to může zvýšit riziko inhibice enzymů PCR. Před extrakcí nukleové kyseliny by mělo být ke každému vzorku přidáno pět (5) µl vnitřní kontroly .

- RTP® Pathogen Kit (kat. č. 1040500200, Stratec Molekulární)

Je třeba dodržovat pokyny výrobce k protokolu. Použijte 200 µl vzorku a eluujte ve 100 µl vody. Před extrakcí nukleové kyseliny by mělo být ke každému vzorku přidáno pět (5) µl vnitřní kontroly.

Pokud je test proveden ve stejný den, vyhněte se cyklům zmrazování/rozmrazování extraktů DNA a skladujte extrakty nukleových kyselin při teplotě 2-8 °C. Po delší dobu by měly být extrakty DNA skladovány při –20 °C nebo –70 °C.

11. **Kontroly**

RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit obsahuje následující ovládací prvky:

- Vnitřní kontrola (IC)

Internal Control (IC) je roztok obsahující bakteriofág M13, který umožňuje kontrolovat lýzu vzorku, extrakci DNA, výkon PCR v reálném čase a hledat možnou inhibici PCR. Pět (5) µl HF se přidá do každého klinického vzorku (200 µl) před zahájením postupu extrakce nukleové kyseliny.

V případě vysoké infekce nemusí být PCR křivka HF v konečné analýze viditelná.Je to proto, že vysoké množství patogenních nukleových kyselin spotřebovává většinu testovacích činidel. Výsledkem je, že když signál CI chybí v přítomnosti jedné nebo více pozitivních křivek PCR, je test stále platný.

- Pozitivní kontrola (PC)

RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit obsahuje pozitivní kontrolu. Pozitivní kontrola se skládá ze syntetických fragmentů DNA reprezentujících MTBC, NTM a vnitřní kontrolu. Pozitivní kontrola se používá jako normální extrakt nukleové kyseliny, který umožňuje kontrolovat činidla PCR a protokol PCR v reálném čase. Pozitivní kontrola by neměla být podrobena postupu extrakce nukleových kyselin.

- Negativní kontrola (NC)

Negativní kontrola v sérii sady RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit se skládá z 200 µl negativní kontroly (je součástí sady) nebo 200 µl negativního vzorku. S touto negativní kontrolou se zachází jako se vzorkem, včetně přidání CI a umožňuje kontrolu kontaminace během extrakce nebo testování mykobakterií RealAccurate® Quadruplex.

12. Protokol PCR s kvadruplexními mykobakteriemi RealAccurate®

12.1 Příprava PCR směsi

PCR reakce se provádí na finálním objemu 25 µl. Směs PCR se připraví podle tabulky 4.

Tabulka 4: Příprava směsi PCR

Komponenta	Objem/reakce
Hlavní mix	12,5 µl
Mix Primer / Probe	7,5 µl
Celkový objem	20 µl

Opatrně, ale opatrně promíchejte směs PCR a pipetujte 20 µl pro každý vzorek nebo kontrolu do lahvičky PCR nebo jamky proužku nebo destičky PCR. Přidejte 5 µl extraktu nukleové kyseliny z každého vzorku, 5 µl extraktu nukleové kyseliny negativní kontroly nebo 5 µl pozitivní kontroly do lahviček nebo jamek destičky obsahující směs PCR.
Lahvičky, proužky nebo destičky PCR uzavřete, krátce odstřeďte a lahvičky umístěte PCR, proužky nebo destičky na přístroji PCR v reálném čase.

12.2 Programování PCR cyklů

Tabulka 5 ukazuje plán cyklu PCR pro soupravu RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR.

Tabulka 5: Programování cyklů přístroje PCR v reálném čase

	Teplota	Funkce
2 minuty	95 °C	Aktivace Taq *DNA polymerázy*
10 sekund 60 sekund	95 °C 60 °C	Denaturace Hybridizace a rozšíření Získávání fluorescence při 60 °C } Jednotka PCR 40 Cykly

13. Problémy s přístrojem PCR

- LightCycler® 480 (skála)

Při použití LightCycler® 480 II se soupravou RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit by měly být detekční kanály vybrány podle tabulky 6:

Tabulka 6: Snímací kanály LightCycler® 480 II

Cíl	Fluorescenční štítek	Excitace	Emise
Složitý *Mycobacterium tuberkulóza*	FAM	465 nm	510 nm
Všechny mykobakterie	Texaská červená	533 nm	610 nm
U13 (IC)	TYE665 řekl:	618 nm	660 nm

Výsledky budou analyzovány pomocí "Abs Quant/2nd Derivative Max".
U řady LightCycler® 480 byla použita barevná kompenzace za účelem korekce možného rušení mezi snímacími kanály pomocí objektu CC vytvořeného pomocí sady RealAccurate® Quadruplex Color Compensation Kit (PFCC-R).

Ve vzácných případech poskytuje software LightCycler® hodnoty Cp (bod křížení), které neodpovídají hodnotám výsledků pozorovaných při použití PCR v reálném čase (např. hodnota Cp se rovná 9 v části fluorescenčního pozadí grafu PCR). Doporučuje se proto ručně kontrolovat hodnoty Cp generované softwarem LightCycler® 480.

- Rotor-Gene® Q (QIAGEN)

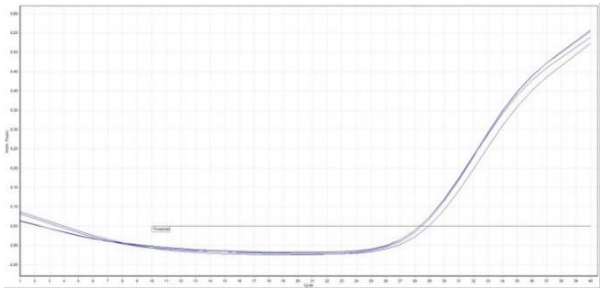
Při použití Rotor-Gene® Q se soupravou RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit by měly být detekční kanály vybrány s odkazem na tabulku 7. Pro všechny kanály vybereme zesílení 5.

Tabulka 7: Detekční kanály pro rotorový gen® Q

Cíl	Fluorescenční štítek	Kanál	Zdroj	Detektor	Zisk
Komplex *Mycobacterium tuberkulóza*	FAM	Jamkoviště (Zelená)	465 nm	510 nm	5
Všechny mykobakterie	Texas Red	Pomeranč	585 nm	610 nm	5
U13 (IC)	TYE665	Červený (Červená)	625 nm	660 nm	5

Výsledky je nutné analyzovat předložením fluorescence na logaritmické stupnici (tlačítko "Log. Scale" umístěné pod grafem PCR) a aktivací funkce "dynamická trubice" (výchozí nastavení). Prahové hodnoty musí být nastaveny pro každý kanál pomocí úrovně fluorescence pozadí získané pro negativní kontrolu.

Bylo zjištěno, že někdy fluorescenční signál PCR křivky získaný na rotorovém genu® Q klesá během prvních cyklů PCR reakce. Příklad je uveden na obrázku 1. Aby se předešlo použití nesprávného Ct, může být během analýzy výsledků eliminováno několik prvních cyklů výpočtu Rotor-Gene® Q Ct.



Obrázek 1: Příklad poklesu fluorescenčního signálu v prvních cyklech PCR série provedených na rotorovém genu® Q.

- CFX96™ (Bio-Rad)

Při použití CFX96™ se soupravou RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit by měly být jako detekční kanály vybrány fluorofory uvedené v tabulce 8.

Tabulka 8: Detekční kanály CFX96™

Cíl	Fluorescenční štítek	Fluorofor
Komplex Mycobacterium tuberculosis	FAM	FAM
Všechny mykobakterie	Texaská Red	Texaská červená
U13 (IC)	TYE665	CY5

Na CFX96 byly použity PCR destičky "Clear Hard-shell®96-Well" (Bio-Rad ref: HSP9641) v kombinaci se soupravou RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR.™
Pro analýzu výsledků použijte režim stanovení Cq: "Single Threshold" a použijte: "Korekce driftu fluorescence".

Mikrofonní qPCR Cycler

Pokud se Mic qPCR Cycler používá se soupravou RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR, měly by být jako detekční kanály vybrány fluorofory uvedené v tabulce 9. Před přiřazením kanálů vyberte jako typ reakce v záložce "Informace" "Hydrolytická sonda". To odpovídá automatickému nastavení zesílení 10 pro všechny kanály.

Tabulka 9: Detekční kanály mic qPCR Cycleru

Cíl	Fluorescenční štítek	Fluorofor
Komplex Mycobacterium tuberculosis	FAM	FAM
Všechny mykobakterie	Texaská Red	Texas Red
U13 (IC)	TYE665	CY5

Tabulka 10 poskytuje přehled dalších nastavení pro analýzu cyklu na cykleru Mic qPCR používaném se soupravou RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR.

Tabulka 10: Nastavení softwaru Mic qPCR Cycler

Nastavení analýzy	Kanál		
	FAM	Texas Red	Cy5
Automatické nastavení prahové hodnoty (Seuil Automatique)	Zaškrtnutý	Zaškrtnutý	Zaškrtnutý
Metoda	Dynamická	Dynamická	Dynamická
Prahová úroveň	0,100*	0,100*	0,100*
Práh začátku	1,00	1,00	1,00
Ignorovat cykly před	0	0	0
Vyloučení	Rozsáhlé	Rozsáhlé	Rozsáhlé
Mezní úroveň fluorescence fluorescence)	5,0%	5,0%	5,0%
Počáteční stupnice Y-acis (Echelle initiale de l'axe des Y)	Lineární	Lineární	Lineární
Automatické generování Analusis	Zaškrtnutý	Zaškrtnutý	Zaškrtnutý

** standardní hodnota, ignoruje se, pokud je zaškrtnuta automatická prahová hodnota*

Vyberte "Test" pro test odpovídající vzorkům, které mají být analyzovány v seznamu "Samples".

Tento "test", který zahrnuje všechna nastavení nezbytná pro použití testu RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR, jak je popsáno výše, lze také získat z PathoFinder.

14. **Analýza dat**

Hodnoty Ct (prahová hodnota cyklu) získané pro PCR v reálném čase závisí na použitém přístroji a metodě výpočtu Ct t. Obecně platí, že silně pozitivní vzorek je charakterizován hodnotou Ct menší než 25, zatímco hodnota Ct mezi 35 a 40 odráží slabě pozitivní vzorek. Výsledky získané pomocí RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit by měly být analyzovány podle bodu 13. Kromě toho lze pro interpretaci výsledků vzorku použít míru fluorescence pozadí negativní kontroly.

Výsledky pro každý vzorek by měly být interpretovány takto:

- Pokud je v odpovědi PCR detekován fluorescenční signál FAM, vzorek obsahuje DNA z druhového komplexu *M. tuberculosis* (MTBC). Pozitivní fluorescenční signál bude pravděpodobně pozorován také pro Texas Red, ale to může být překonáno zesílením produktu, který dává fluorescenční signál FAM.
- Pokud je detekován fluorescenční signál Texas Red, ale v PCR reakci není FAM, vzorek obsahuje DNA z netuberkulózních druhů *Mycobacterium*. Bylo zjištěno, že nespecifické signály, někdy velmi slabé, jsou získávány pomocí testu RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria v kanálu Texas Red. Proto je třeba vždy zvážit slabě pozitivní výsledek Texas Red (Ct ≥ 37) v kontextu klinického a anamnestického nálezu.
  Poznámka: V LightCycleru 480 jsou slabé signály volány s Cp 35 a komentářem "Pozdní Cp volání (posledních pět cyklů) má vyšší nejistotu".
- Pokud je detekován signál Texas Red i FAM a reakce Texas Red má zjevně nižší hodnotu Ct než reakce FAM, vzorek pravděpodobně obsahuje DNA z komplexu druhů *M. tuberculosis* (MTBC) A *netuberkulózních* druhů Mycobacterium.
- Pokud je v testu PCR detekován fluorescenční signál TYE665, vzorek obsahuje HF DNA.
- Pokud v žádném z detekčních kanálů není přítomen žádný fluorescenční signál, vzorek obsahuje inhibiční faktory nebo jeden z kroků testu selhal nebo došlo k ruční chybě. Pokyny jsou uvedeny v části 16 (Odstraňování problémů).

- Vnitřní kontrola

CI s nízkou koncentrací se přidává k reakci soupravy RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit, aby nekonkurovala amplifikaci patogenů , ale aby byla přítomna, když v reakci nejsou detekovány žádné patogeny. V závislosti na použitém nástroji PCR v reálném čase by hodnota Ct CI měla být mezi 30 a 35.

- Pozitivní test

Cíle patogenů v pozitivní kontrole soupravy RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit jsou přítomny v mírném množství a měly by mít hodnotu Ct přibližně 30 (v závislosti na použitém nástroji PCR v reálném čase).

15. Představení

Charakteristiky testu byly získány pomocí referenčních kmenů a vzorků různého původu. V této části jsou uvedeny následující zkratky zdrojů:

ATCC	Kolekce kultur amerického typu
BCCM	Belgické koordinované sbírky mikroorganismů
CWZ	Canisius Wilhelmina Ziekenhuis, Nijmegen, Nizozemsko
Erasmus MC	Erasmus Medical Center, Rotterdam, Nizozemsko VieCuri Nemocnice VieCuri, Venlo, Nizozemsko
Univerzitní nemocnice v Caen	Univerzitní nemocnice, Caen, Francie
QCMD	Kontrola kvality pro molekulární diagnostiku, Glasgow, Velká Británie
PatoNostika	PathoNostics, Maastricht, Nizozemsko
ZeptoMetrix	ZeptoMetrix corporation, Buffalo, USA

Charakteristiky testu popsané v této kapitole byly získány pomocí přístrojů PCR, jejichž nastavení bylo provedeno podle popisu v kapitole 13.

Pro LightCycler® 480 II byl použit software 1.5.0
Pro Rotor-Gene® Q byl použit software 2.3.1 (verze 49). Pro Mic qPCR Cycler byl použit software 2.6.4
Pro CFX96™ byla použita verze softwaru 3.1

Mez detekce (LoD)
Mez detekce (LoD) (mez citlivosti) pro RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit byla stanovena pomocí referenčních kultivačních kmenů *M. tuberculosis* (MTBC), *M. xenopi* (MNT) a *M. avium* (MNT) ve sputu, bronchoalveolární laváži (BAL), reziduí ze sputa nebo BAL dekontaminovaných N-acetyl-L-cysteinem (NAC) a vzorků ze zkumavek s indikátorem růstu Mykobakteriální (MGIT). ™ Tyto vzorky byly podrobeny extrakci DNA pomocí NucliSENS® easyMAG® podle protokolu "Generic 2.0.0" (extrakční objem: 200 µl, eluční objem: 100 µl). Vzorky sputa byly předběžně ošetřeny DTT (konečná koncentrace 0,1 M) při 37 °C po dobu 15 minut. Každá z 5 extrakcí byla čtyřnásobně analyzována pomocí sady RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit. Výsledky byly určeny mírou úspěšnosti (mírou úspěšnosti
≥ 95 % bylo definováno jako limit detekce příslušných patogenů). Přehled LoD pro všechny testované patogeny je uveden v tabulce 11. LoD byla vypočtena pomocí absolutních počtů kopií získaných interním kvantifikací zásobních roztoků pomocí QX200™ Droplet Digital™ PCR, Bio-Rad.

Tabulka 11: Detekční limit daný purifikací (NucliSENS easyMAG®) soupravy RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR. Divergentní LoD sputa je červeně, sedimentů modře.

Patogen	Skupina	Zdroj	Mat#	LOD kopií/ml	LOD kopie / reakce
Mycobacterium tuberkulóza	MTBC	BCCM	000092	1,000 10,000	10 100
Mycobacterium avium	Moduly NCM	CWZ	–	3,160 10,000 31,600	31.6 100 316
Mycobacterium xenopi	Moduly NCM	CWZ	–	10,000 31,600 100,000	100 316 1000

MTBC: *komplex Mycobacterium tuberculosis* ; NCD: Netuberkulózní mykobakterie

Detekční limit byl analyzován na vzorcích BAL s manuální extrakcí nukleových kyselin pomocí QIAamp® MinElute Virus Spin Kit a RTP® Pathogen Kit s následným testováním pomocí RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit pomocí Rotor-Gene® Q, CFX™ 96 nebo Mic qPCR Cycler. Hodnoty LoD jsou uvedeny v tabulce 12.

Tabulka 12: Detekční limit pro vzorky AML

Patogen	LoD kopie / reakce				
Extrakce nukleové kyseliny	NucliSENS easyMAG	NucliSENS easyMAG	NucliSENS easyMAG	RTP Patogen	QIAamp MinElute
Přístrojová PCR	LightCycler 480	CFX96	Mic qPCR cykler	Mic qPCR cykler	Rotor - Gen Q
Mycobacterium tuberculosis	10	10	100	10	10
Mycobacterium avium	31.6	316	316	316	31.6
Mycobacterium xenopi	100	316	316	316	100

Inkluze

Zahrnutí (analytická reaktivita) sady RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit je v první řadě zaručeno výběrem primeru. Primery byly zkontrolovány na možné homologie se všemi sekvencemi mykobakteriální DNA ve veřejné doméně srovnávací sekvenční analýzou. Kromě toho byla ověřena detekovatelnost všech genotypů v řadě RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria na LightCycleru® 480 pomocí extraktů nukleových kyselin z kmenů referenčních genotypů uvedených v tabulce 13.

Tyto kmeny byly testovány při koncentraci rovnající se 10x LoD, což znamená, že všechny druhy MTBC byly testovány se 100 kopiemi na reakci a všechny druhy NTM byly testovány s 316 kopiemi na reakci. Zásobní koncentrace mykobakteriálních kmenů byla stanovena pomocí QX200™ Droplet Digital™ PCR, Bio-Rad.

Tabulka 13: Testování na zařazení relevantních kmenů druhů MTBC a NTM detekovaných soupravou RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit (extrakce pomocí NucliSENS easyMAG®).

Patogenní	Skupina	Zdroj	Kmen Reference #
Mycobacterium africanum	MTBC	BCCM	M008470
Mycobacterium bovis	MTBC	BCCM	Katalogové číslo C00573
Mycobacterium canetti	MTBC	BCCM	Katalogové číslo C02321
Mycobacterium abscessus	Moduly NCM	BCCM	Katalogové číslo C04975
Mycobacterium chelonae	Moduly NCM	CWZ	–
Mycobacterium chimaera	Moduly NCM	CWZ	–
Mycobacterium intracellulare	Moduly NCM	CWZ	–
Mycobacterium fortuitum	Moduly NCM	BCCM	031816
Mycobacterium peregrinum	Moduly NCM	CWZ	–
Mycobacterium gordonae	Moduly NCM	CWZ	–
Mycobacterium kansaii	Moduly NCM	CWZ	–
Mycobacterium malmoense	Moduly NCM	BCCM	Katalogové číslo C01412
Mycobacterium marinum	Moduly NCM	BCCM	Katalogové číslo C00615
Mycobacterium simiae	Moduly NCM	CWZ	–
Mycobacterium aurum	Moduly NCM	BCCM	M006993
Mycobacterium haemophilum	Moduly NCM	BCCM	Katalogové číslo C00777
Mycobacterium scrofulaceum	Moduly NCM	BCCM	M009018
Mycobacterium ulcerans	Moduly NCM	BCCM	Katalogové číslo C05142

MTBC: *komplex Mycobacterium tuberculosis* ; NCD: Netuberkulózní mykobakterie

Specifičnost

Potenciální zkřížená reakce soupravy RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit byla testována na vzorcích obsahujících klinicky relevantní hladiny patogenů, které jsou pravděpodobně přítomny v klinických vzorcích použitých k testování *Mycobacterium* (tabulka 14). Žádný z testovaných vzorků nereagoval v sadě RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit.

Tabulka 14: Vzorky použité k testování specifičnosti soupravy RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit

Patogenní	Kmen	Zdroj	Hardware
Chřipka A/Victoria/H3N2	ATCC VR-822	ATCC	Kultura
Chřipka B/Maryland	ATCC-VR-296	ATCC	Kultura
Chřipka A/Virginie H1N1/2009	ATCC-VR-1737	ATCC	Kultura
Koronavirus 229E	ATCC VR-740	ATCC	Kultura
Koronavirus OC43	ATCC VR-1588	ATCC	Kultura
Koronavirus NL63	08100224CF	ZeptoMetrix	Kultura
Koronavirus HKU1	-	Univerzitní nemocnice v	Kultura

		Caen	
Virus parainfluenzy 1	ATCC VR-94	ATCC	Kultura
Virus parainfluenzy 2	ATCC VR-92	ATCC	Kultura
Virus chřipky 3	ATCC VR-93	ATCC	Kultura
Virus parainfluenzy 4a	ATCC VR-1378	ATCC	Kultura

Patogenní	Kmen	Zdroj	Hardware
Respirační syncytiální virus A2	ATCC VR-1540	ATCC	Kultura
Respirační syncytiální virus B 18537	ATCC VR-1580	ATCC	Kultura
Lidský metapneumovirus B3	–	ZeptoMetrix	Kultura
Adenovirus B3	ATCC VR-3	ATCC	Kultura
Bocavirus	Recomb. prstenec DNA	domácí	Prstenec DNA
Lidský rhinovirus 16	ATCC VR-283	ATCC	Kultura
Virus Coxsackie A9	ATCC VR-1311	ATCC	Kultura
Staphylococcus aureus	Číslo výrobku: 14039477-1	VieCuri	Kultura
Escherichia coli	Číslo výrobku: 14039179-1	VieCuri	Kultura
Haemophilus influenzae	Číslo výrobku: 14038962-1	VieCuri	Kultura
Moraxella catarrhalis	Číslo výrobku: 14048051-2	VieCuri	Kultura
Streptococcus pneumoniae	Číslo výrobku: 14038978-1	VieCuri	Kultura
Pseudomonas aeruginosa	Číslo výrobku: 14039709-1	VieCuri	Kultura
Klebsiella pneumoniae	Číslo výrobku: 14038777-1	VieCuri	Kultura
Herpes virus	20120198861802	Erasmus MC	AML
Virus Epstein-Barrové + Herpes virus	20100113789407	Erasmus MC	AML
Virus herpes simplex typu 1	20100112344107	Erasmus MC	AML
Serratia marcescens	20130070524902	Erasmus MC	AML
Herpes virus	CMV12-01 řekl:	QCMD	Plazma
Virus Epstein-Barrové	EBV13-06	QCMD	VTM
Virus Epstein-Barrové	EBV13-07 řekl:	QCMD	Plazma
Virus varicella-zoster	VZVDNA15C1-01 - Prodej	QCMD	VTM
Virus varicella-zoster	VZVDNA15C1-04	QCMD	VTM
Achromobacter xylosoxidans	Číslo výrobku 13025336-1	VieCuri	Kultura
Mycoplasma pneumoniae	29085	ATCC	Kultura
Chlamydophila pneumoniae	VR1360	ATCC	Kultura
Legionella pneumophila	33152	ATCC	Kultura
Bordetella pertussis	BAA-589	ATCC	Kultura
Aspergillus fumigatus	20120220921702	Erasmus MC	AML
Candida krusei	2107CBS	PatoNostika	Kultura

BAL: bronchoalveolární laváže; VTM: Médium pro přenos virů

Robustnost

Kontrola robustnosti určuje celkovou poruchovost interní kontroly sady RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit. Aby bylo možné ověřit vliv složení klinického vzorku na výkon soupravy, bylo 30 negativních vzorků pro každý ze 4 typů klinických vzorků (sputum, BAL, dekontaminovaný sediment a MGIT) ™ podrobeno protokolu extrakce nukleových kyselin "Generic 2.0.0" NucliSENS® easyMAG® a analyzováno pomocí RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit na LightCycler® 480. Vzorky sputa byly před extrakcí nukleových kyselin ošetřeny DTT (konečná koncentrace 0,1 M) při 37 °C po dobu 15 minut.

Vnitřní kontrola byla zjištěna u 93 % sputa, 100 % AML, 100 % dekontaminovaných sedimentů a 100 % MGIT™. Soupravu RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit lze proto považovat za robustní.

Kromě toho byla robustnost s ohledem na vzorky AML prokázána pomocí souprav QIAamp® MinElute Virus Spin Kit a RTP® Pathogen Kit pro manuální extrakci nukleových kyselin ze vzorků AML a CFX™96, Mic qPCR Cycler a Rotor-Gene® Q pro reakci RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR.

Rušivé látky

Test RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR byl testován na potenciální interference, jako je lidská genomová DNA (400 ng/ml), lidská krev (5 % v/v), hypertonický fyziologický roztok (5 % w/v) [4] a deoxyribonukleáza (3 µg/ml) [5]. Poslední dvě látky jsou často předepisovány při léčbě cystické fibrózy, progresivního genetického onemocnění, které vede k opakovaným plicním infekcím spojeným s infekcemi NCD.

Referenční kmeny *M. tuberculosis*, *M. avium* a *M. xenopi* byly testovány v koncentracích 0,5 log x LoD v přítomnosti výše uvedených koncentrací příslušných interferujících látek. Všechny vzorky a interní kontroly byly detekovány správně a nevykazovaly žádný vliv lidské DNA, lidské krve, hypertonického fyziologického roztoku nebo deoxyribonukleázy na výkon soupravy RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR.

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost soupravy RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit byla testována pomocí počítače. Čtyřnásobná amplifikace byla provedena na 2 různých LightCycler® 480 a 2 různých Rotor-Gene® Q. Každý přístroj byl používán po dobu 3 dnů, pro 2 série zesílení a se 2 různými operátory. Byly vypočteny střední hodnoty Ct (Rotor-Gene® Q) a C_p (LightCycler® 480) a také směrodatné odchylky pro 48 replikátů testovaných na každém typu přístroje. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 15.

Tabulka 15: Reprodukovatelnost výsledků pro Cp a Ct Testovali jsme 2 přístroje od každého typu přístroje, každý ve 3 různých dnech se 2 různými operátory. Byly vypočteny střední hodnoty Cp a C_t a směrodatné odchylky.

Přístroj pro PCR v reálném čase	MTBC	Moduly NCM	MEZIPODNIKOVÉ
LightCycler® 480 II	30.12 ± 0.17	30.02 ± 0.15 hodin	30.91 ± 0.30 hod
Rotor-Gene® Q	27.31 ± 0.44 hod	28.06 ± 0.38 hod	29.48 ± 0.66 hod

Hodnoty Cp získané pomocí možnosti Abs Quant / 2nd Derivative Max softwaru LightCycler® pro sérii zesílení na LightCycleru® 480 byly vyšší pro každý detekční kanál ve srovnání s hodnotami Ct získanými pomocí softwaru Rotor-Gene® Q při použití prahové hodnoty 0,05 pro všechny kanály v sérii prováděné na Rotor-Gene® Q. Je důležité si uvědomit,

že hodnoty Cp a C_t jsou vzájemně srovnatelné pro každý cíl. Směrodatná odchylka se lišila v závislosti na cíli, ale celkově lze říci, že reprodukovatelné výsledky byly získány pro všechny cíle pomocí sady RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR.

16. Řešení problémů

Problém	Možná příčina	Doporučení
Kontroly zůstávají negativní (interní řízení nebo pozitivní)	Vzorek je inhibován, jeden z testovacích kroků selhal nebo došlo k chybě manuál došlo	Ověřte, zda byly přidány všechny sloučeniny
	Vnitřní kontrola nebo pozitivní kontrola nebyla správně Udržoval	Skladujte všechny komponenty podle pokynů výrobce
	Nesprávný profil PCR	Kontrola programování tepelného cykleru v reálném čase
Fluorescenční signál pro negativní kontrolu	Kontaminace	Kompletně znovu otestujte s novými činidly Zacházení se vzorky, součástmi a spotřebním materiálem podle režimu zaměstnání.
Fluorescenční signály a velmi slabé kontroly	Nesprávné naladění nástroje	Zkontrolujte nastavení kanálu
	Nesprávné míchání real-time PCR	Kontrola přípravy PCR mixu
Velmi slabý fluorescenční signál pouze v jednom z detekčních kanálů	Zbytkové rušení	Zkontrolujte výsledky s korekcemi kolizí nebo bez nich. Pokud se signál při použití korekce rušení výrazně sníží, je slabý signál pravděpodobně způsoben zbytkovým rušením. Zkontrolujte také signály v sousedních kanálech.

17. Odkazy

1. Lienhardt C, Glaziou P, Uplekar M, Lönnroth K, Getahun H & Raviglione M. Globální kontrola tuberkulózy : poučení a vyhlídky do budoucna (2012) Nature Reviews Mikrobiologie 10, 407-416
2. Halstrom S, Cena P, Thomson R. Recenze: Environmentální mykobakterie jako příčina lidské infekce. (2015) Int J Mycobacteriol 4(2):81-91
3. Shiau M, Lee M, Huang T, Tsai J, Chang Y. Prevalence mykobakterií a trendy frekvence rezistence vůči antibiotikům na Tchaj-wanu mykobakteriálních klinických izolátů od roku 2002 do roku 2014 (2016) Medicína (Baltimore) 95(12):e2942
4. Elkins MR, Robinson M, Rose BR et al. Kontrolovaná studie dlouhodobého inhalačního hypertonického fyziologického roztoku u pacientů s cystickou fibrózou. (2006) Nová Anglie J Med 354: 229-24
5. Kearney CE, Wallis CE. Deoxyribonukleáza pro cystickou fibrózu. Cochrane Database Syst Rev (2000) 2:CD001127

18. Informace pro kupujícího

Tyto produkty jsou produkty RealAccurate® vyráběné společností PathoFinder BV v Maastrichtu, Nizozemsko podle norem ISO 13485:2016. Tyto produkty jsou určeny pouze k použití a nesmí být dále prodávány, distribuovány ani repasovány.
Nemíchejte činidla z různých šarží RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria ve stejném testu.
Pokud je krabice obsahující sadu RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit po obdržení poškozena , kontaktujte PathoFinder nebo místního distributora.
Tento návod k použití je k dispozici v jiných jazycích od PathoFinder nebo vašeho místního distributora

Ochranné známky:
RealAccurate® je registrovaná ochranná známka společnosti PathoFinder BV. LightCycler® je registrovaná ochranná známka společnosti Roche.
QIAamp® a Rotor-Gene® jsou registrované ochranné známky skupiny QIAGEN.
EasyMAG® a NucliSENS® jsou registrované ochranné známky společnosti bioMérieux.
CFX™ 96, QX200™ a Droplet Digital™ jsou registrované ochranné známky společnosti Bio-Rad. MGIT™ je registrovaná ochranná známka společnosti Becton, Dickinson and Company.
RTP® je registrovaná ochranná známka společnosti Stratec Molecular.

19. Související produkty

- RealAccurate® Quadruplex Color Compensation v2:
  Sada obsahující činidla pro kompenzaci barev pro použití v testech RealAccurate® Quadruplex na LightCycler® 480s.

  Katalog. číslo: PFCC-R

- RealAccurate® Quadruplex Influenza PCR kit:
  RealAccurate Quadruplex Test pro detekci chřipky A, chřipky B a chřipky A (H1N1) pdm09.

  Katalogové číslo: PF0970-R

- RealAccurate® Quadruplex Corona PCR sada:
  Test RealAccurate Quadruplex pro detekci koronavirů 229E, OC43 a NL63/HKU1 (bez rozlišení).

  Katalogové číslo: PF0971-R

- RealAccurate® Quadruplex Parainfluenza PCR sada:
  RealAccurate Quadruplex Test na viry parainfluenzy 1, 2/4 (bez diferenciace) a 3.

  Katalogové číslo: PF0972-R

- RealAccurate® Quadruplex RSV/hMPV PCR sada:
  Test RealAccurate Quadruplex pro detekci respiračního synciálního viru A, respiračního synciálního viru B a lidského metapneumoviru.

  Katalogové číslo: PF0973-R

- RealAccurate® Quadruplex Adeno/Boca/Rhino/Entero PCR kit:
  RealAccurate Quadruplex Test pro detekci adenoviru, bocaviru a rhino/enteroviru (bez rozlišení)

  Katalogové číslo: PF0974-R

- RealAccurate® Quadruplex Bordetella PCR kit:
  Test RealAccurate Quadruplex pro detekci *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* a *Bordetella holmesii*.

  Katalogové číslo: PF0975-R

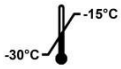
- RealAccurate® TVMG^{RES} PCR sada:
  Test RealAccurate pro detekci *Trichomonas vaginalis, Mycoplasma genitalium* a *Mycoplasma genitalium* rezistentní na azithromycin

  Katalogové číslo: PF0977-R

RealAccurate® Quadruplex Mycobacteria PCR Kit

Kat. č. PF0920-R

50 reakcí



Skladujte při teplotě od –30 °C do –15 °C

Skladujte mimo dosah světla

PathoFinder B.V.
Randwycksingel 45, 6229 EG Maastricht,
Nizozemsko
Tel: +31 (0)43 3030400, Fax: +31 (0)84 7469245
E-mail: info@pathofinder.com,Web : www.pathofinder.com