

Allplex™

# STI Essential Assay

(kat. č. SD9801X, SD10245Z)

Multiplexní Real-time PCR pro detekci *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhoeae* (NG), *Mycoplasma genitalium* (MG), *Mycoplasma hominis* (MH), *Ureaplasma urealyticum* (UU), *Ureaplasma parvum* (UP) a *Trichomonas vaginalis* (TV) z moči, genitálního stěru, cytologických vzorků na bázi tekutin, spermatu, orofaryngeálního (krčního) stěru a anorektálního stěru.

## Pro použití s

1. CFX96™ Detekční systém Real-Time PCR (CFX Manager™ Software-IVD v1.6)
2. Systém CFX96™ Dx (software CFX Manager™ Dx v3.1)



Pouze pro diagnostiku *in vitro*



SD9801X



100SD10245Z



25



Seegene Inc.

Taewon Bldg., 91 Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul, Republic of Korea 05548



Medical Technology Promedt Consulting GmbH

Altenhofstrasse 80, D-66386 St.Ingbert, Germany

Není k dispozici v USA

**OBSAH**

|                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------|----|
| UPOZORNĚNÍ .....                                              | 3  |
| ÚČEL POUŽITÍ .....                                            | 5  |
| PRINCIP METODY A SCHÉMA POSTUPU .....                         | 5  |
| ZÁKLADNÍ INFORMACE .....                                      | 7  |
| REAGENCIE .....                                               | 9  |
| SKLADOVÁNÍ A MANIPULACE S PRODUKTEM .....                     | 11 |
| POŽADOVANÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ BALENÍ .....      | 11 |
| PROTOKOL .....                                                | 12 |
| NASTAVENÍ PŘÍSTROJE PRO REAL-TIME PCR A ANALÝZA VÝSLEDKŮ ---- | 23 |
| VÝSLEDKY .....                                                | 43 |
| ŘEŠENÍ PROBLÉMŮ .....                                         | 46 |
| ÚČINNOST .....                                                | 48 |
| REFERENCE .....                                               | 56 |
| VÝZNAM SYMBOLŮ .....                                          | 58 |
| INFORMACE PRO OBJEDNÁNÍ .....                                 | 60 |

**UPOZORNĚNÍ**

- Pouze pro diagnostiku *in vitro*.
- Spolehlivost výsledků závisí na vhodném postupu odběru, skladování, přepravy a zpracování vzorků.
- **Tento produkt je určen pouze pro použití s Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS a Seegene STARlet a maximálně 5 samostatných běhů.**
- AIOS kombinuje Seegene STARlet prodáváný společností Seegene se zařízením pro Real-time PCR (CFX96 Dx, výrobce: Bio-Rad) a zařízením pro uzavírání plat (výrobce: SAMICK THK) a vytváří tak automatizovanou strukturu propojení izolace nukleových kyselin s PCR.
- **Tento test byl validován pro následující typy vzorků: moč, genitální stěr, cytologické vzorky na bázi tekutin, sperma, orofaryngeální (krční) stěr a anorektální stěr.** Tento test nebyl validován pro žádné jiné typy vzorků.
- **Vzorky DNA skladujte při teplotě  $\leq -20\text{ °C}$  až do použití a během použití je uchovávejte na ledu.**
- Citlivost testu se může snížit, pokud jsou vzorky opakovaně zmrazovány/rozmrazovány nebo skladovány po delší dobu.
- Pracovní postup v laboratoři by měl probíhat jednosměrně.
- Používejte jednorázové rukavice a před vstupem do různých prostor si je vyměňte. V případě kontaminace rukavice okamžitě vyměňte nebo je ošetřete dekontaminační reagensii DNA.
- Zásoby a vybavení musí být vyhrazeny pro pracovní oblasti a neměly by se přemísťovat z jedné oblasti do druhé.
- Nepipetujte ústy.
- V laboratorních prostorách nejezte, nepijte a nekuřte. Při manipulaci se vzorky a reagensii používejte jednorázové nepudrované rukavice, laboratorní pláště a ochranné brýle. Po manipulaci se vzorky a testovacími reagensii si důkladně umyjte ruce.
- Při odebrání alikvotních částí ze zkumavek s reagensii zabraňte jejich kontaminaci. Doporučuje se používat sterilní jednorázové špičky pipet odolné proti aerosolu.
- Nekombinujte reagensie z různých šarží nebo z různých zkumavek stejné šarže.
- Nepoužívejte přípravek po uplynutí doby použitelnosti.
- Nepoužívejte znovu předměty na jedno použití.
- Používejte zkumavky se šroubovacím víčkem a zabraňte případnému rozstříku nebo křížové kontaminaci vzorků během přípravy.
- Dávejte pozor, abyste nekontaminovali reagensie extrahovanými nukleovými kyselinami, produkty PCR, a pozitivní kontroly. Aby se zabránilo kontaminaci činidel, doporučuje se používat filtrační špičky.

- Pro každý experiment používejte oddělené pracovní prostory.
- Abyste zabránili kontaminaci pracovních oblastí produkty amplifikace, otevírejte zkumavky nebo stripy s PCR reakcí po amplifikaci pouze na určených pracovních místech.
- Pozitivní materiály skladujte odděleně od reagensů soupravy.
- Při manipulaci se vzorky je třeba dodržovat laboratorní bezpečnostní postupy (viz Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories & CLSI Documents). Důkladně vyčistěte a dezinfikujte všechny pracovní plochy 0,5 % chlornanem sodným (v deionizované nebo destilované vodě). Součástí produktu (zbytky produktu, obaly) lze považovat za laboratorní odpad.
- Nepoužité reagensy a odpad likvidujte v souladu s platnými státními a místními předpisy.
- Doba použitelnosti je 12 měsíců od data výroby při teplotě  $\leq -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Informace o expiraci naleznete na štítku.
- Seegene NIMBUS a Seegene STARlet jsou stejná zařízení jako Microlab NIMBUS IVD a Microlab STARlet IVD, i když výrobce je jiný. Vzhledem k tomu, že na zařízení nedošlo k žádným hardwarovým změnám, jsou výsledky testů stejné.
- Obchodní název "CFX96™ Real-time PCR Detection System-IVD" se mění na "CFX96™ Dx system". Vzhledem k tomu, že u systémů nedošlo k žádným hardwarovým změnám, očekává se, že z obou systémů bude možné získat stejné výsledky.
- "CFX Manager™ Dx Software v3.1" je aktualizovaná verze "CFX Manager™ Software-IVD". v1.6". Aktualizovaný software obsahuje vylepšení nabídky "Spustit". Tato vylepšení nemají vliv na výsledky analýzy dat; výsledky tedy budou stejné.
- Tato souprava je určena jako pomůcka při diferenciální diagnostice infekcí cílovými patogeny; *C. trachomatis* (CT), *N. gonorrhoeae* (NG), *M. genitalium* (MG), *M. hominis* (MH), *U. urealyticum* (UU), *U. parvum* (UP) a *T. vaginalis* (TV).

## ÚČEL POUŽITÍ

Allplex™ STI Essential Assay je kvalitativní *in vitro* test pro jednorázovou nebo vícenásobnou detekci *C. trachomatis* (CT), *N. gonorrhoeae* (NG), *M. genitalium* (MG), *M. hominis* (MH), *U. urealyticum* (UU), *U. parvum* (UP) a *T. vaginalis* (TV) z moči, genitálního stěru, cytologických vzorků na bázi tekutin, spermatu, orofaryngeálního (krčního) stěru a anorektálního stěru.

## PRINCIP METODY A SCHÉMA POSTUPU

### 1. Principy

Allplex™ STI Essential Assay využívá patentovanou technologii MuDT™ společnosti Seegene, která umožňuje poskytovat hodnoty multi-Ct (prahový cyklus) v jediném fluorescenčním kanálu bez analýzy křivky tání na přístroji Real- time PCR.

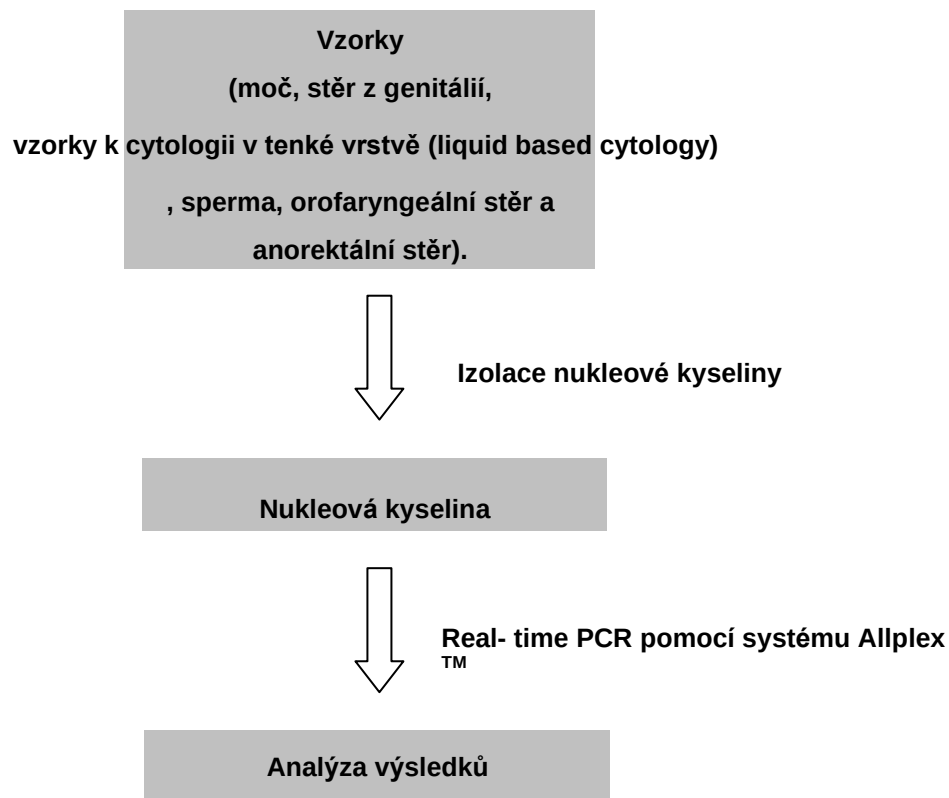
Allplex™ STI Essential Assay je Real- time PCR test, který umožňuje současnou amplifikaci a detekci cílových nukleových kyselin *C. trachomatis* (CT), *N. gonorrhoeae* (NG), *M. genitalium* (MG), *M. hominis* (MH), *U. urealyticum* (UU), *U. parvum* (UP), *T. vaginalis* (TV) a vnitřní kontroly (IC).

V testu Allplex™ STI Essential Assay se endogenní lidský gen používá jako vnitřní kontrola (IC) pro monitorování celého procesu od odběru vzorku po izolaci nukleové kyseliny a také pro kontrolu případné inhibice PCR. Účinnost PCR mohou snižovat inhibitory, které mohou být přítomny v klinických vzorcích. Avšak vzhledem k nesrovnalostem v počtu lidských buněk obsažených v moči a anorektálním stěru se IC exogenně přidává pouze do vzorků moči a anorektálního stěru, aby sloužila jako exogenní celková kontrola procesu. IC. V klinickém vzorku se koamplifikuje s cílovými nukleovými kyselinami. Aby se zabránilo tomu, že amplifikační produkt bude působit jako potenciální kontaminant, používá se v testu Allplex™ STI Essential Assay systém Uracil-DNA glykosylázy (UDG).

Přirozenou funkcí UDG je zabránit mutagenезi odstraněním uracilu z DNA.

molekuly štěpením N-glykosylové vazby a zahájením cesty opravy bází (BER). Systémy UDG se proto používají ke kontrole křížové kontaminace vzorků s amplikony.

## 2. Přehled postupů



**ZÁKLADNÍ INFORMACE**

Termín sexuálně přenosné nemoci (sexually transmitted diseases - STDs) je používán pro širokou škálu klinických příznaků způsobených patogeny, které mohou být získány a přenášeny sexuálními aktivitami.

Sexuální aktivitou je přenosných více než 30 bakteriálních, virových a parazitických patogenů. Společně představují skupinu sexuálně přenosných infekčních onemocnění (STI).

Některé z těchto nemocí mohou až třikrát zvyšovat riziko nákazy virem HIV. Sexuálně přenosné infekční nemoci mohou mít vážné důsledky, přesahující rámec vlastního infekčního onemocnění. Představují riziko přenosu infekce z matky na dítě, riziko vzniku chronického onemocnění.

Každý den je sexuálně přenosným infekčním onemocněním nakaženo více než 1 milion osob. Každý rok se více než 500 milionů osob nakazí jedním z následujících čtyř onemocnění: chlamydie, kapavka, syfilis a trichomoniáza.

**1. *Chlamydia trachomatis***

*Chlamydia trachomatis*, původce onemocnění chlamydiemi, způsobuje celosvětově významnou nemocnost provázenou velkými ekonomickými náklady. Chlamydiové infekce u žen probíhají obvykle bez příznaků. Nicméně mohou způsobit pánevní zánětlivou nemoc (PID), mezi jejíž hlavní následky patří neplodnost, mimoděložní těhotenství nebo chronická bolest pánevní oblasti. Stejně jako jiná zánětlivá onemocnění STD, mohou i chlamydiové infekce přispět k snadnějšímu přenosu infekce HIV. U těhotných žen může navíc během porodu dojít k přenosu infekce z matky na dítě, u dítěte pak následně může tato infekce vést k neonatální oftalmii a pneumonii.

**2. *Neisseria gonorrhoeae***

Kapavka je jedno z velmi častých infekčních onemocnění. U většiny nakažených žen probíhá toto onemocnění bezpříznakově. Pokud není toto onemocnění diagnostikováno a zůstává neléčeno, nebo je léčeno nesprávně či nevhodně, může infekce pokročit do horních částí genitálního ústrojí a způsobit u žen komplikované gonokokové infekce (např. PID a související komplikace jako je mimoděložní těhotenství nebo neplodnost), u mužů edém penisu a zánět nadvarlete.

**3. *Trichomonas vaginalis***

*Trichomonas vaginalis* je etiologickým původcem celosvětově nejrozšířenější neviróvé pohlavně přenosné infekce. *T. vaginalis* může způsobovat abnormální vaginální výtok (trichomoniázu) u žen a může být zodpovědná až za 10~12 % případů negonokokové uretritidy u mužů, přičemž infekce může být asymptomatická nejméně u 50 % žen a 70~80 % mužů.

#### **4. Genitální mykoplazmata**

*M.genitalium* a *M.hominis* a dva druhy ureaplasmy *U.urealyticum* (dříve známé jako *U. urealyticum*, biovar 2) a *U. parvum* (dříve známé jako *U. urealyticum*, biovar 1) se běžně vyskytují v lidském urogenitálním traktu.

*M.genitalium* byla poprvé identifikována na počátku 80 let minulého století a byla rozpoznána jako příčina uretitid u mužů. Je původcem v přibližně 15–20 % případů negonokokální uretitidy (NGU), 20–25 % nechlamydiových NGU a přibližně 30 % přetrvávajících nebo opakujících se uretritid. *M. genitalium* je nacházena na děložním čípku nebo děložní sliznici častěji u žen trpících PID než u žen bez tohoto onemocnění.

Ureaplazma je nacházeno na děložním hrdle nebo ve vagíně u 40–80 % sexuálně aktivních žen bez příznaků onemocnění, *M.hominis* u 20–50 %. Na základě těchto skutečností lze ureaplazmata a *M.hominis*, jsou-li detekovány v dolní části genitálního ústrojí, považovat primárně za komenzály. Přestože diskuze na toto téma stále probíhá, důkazy, že tyto mikroby způsobují onemocnění spodního genitálního ústrojí, včetně zánětu děložního hrdla u žen, stále přibývají. Přesná diagnóza *Ureaplasma spp.* a *Mycoplasma hominis* ve vzorcích z děložního hrdla je důležitá právě proto, že tyto mikroorganismy jsou potenciálně patogenní s možnými negativními dopady na těhotenství, mohou vést k poporodní sepsi, neonatálnímu syndromu systémové zánětové odpovědi a bronchopulmonární displázií.

Současné standardy klinické péče v oblasti sexuálně přenosných infekčních onemocnění (STI) vyžadují k detekci všech případných patogenů použití jednotlivých testů. Většina komerčně nabízených testů se soustředí na detekci dvou nejčastěji se vyskytujících bakteriálních původců sexuálně přenosných onemocnění: CT a NG. Nicméně, protože většina sexuálně přenosných nemocí probíhá v podstatě bez příznaků, je testování širší škály patogenů klíčové. Další komplikací diagnostiky STI je skutečnost, že přestože rozdílné patogeny mohou způsobovat podobné symptomy, léčba jednotlivých patogenů může vyžadovat použití jiné řady antibiotik. Komplexnost této problematika staví z hlediska cenově efektivní péče o tyto pacienty do klíčové pozice simultánní a přesnou detekci STI patogenů.



**REAGENCIE**

Reagencie obsažené v jedné sadě vystačí na 100 reakcí.

Informace k objednávce ( **REF** SD9801X)

| <b>Allplex™ STI Essential Assay</b>                                                 |                      |              |                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|--------------|---------------------------------------------------------------------|
| <b>Symbol</b>                                                                       | <b>Obsah</b>         | <b>Objem</b> | <b>Popis</b>                                                        |
| <b>PRIMER</b>                                                                       | 4X STI-EA MOM        | 500 µl       | MuDT Oligo Mix (MOM):<br>- reagencie pro amplifikaci a detekci      |
| <b>PREMIX</b>                                                                       | EM1                  | 500 µl       | - DNA polymeráza<br>- Uracil-DNA glykosyláza (UDG)<br>- Pufr s dNTP |
| <b>CONTROL +</b>                                                                    | STI-EA PC            | 50 µl        | Pozitivní kontrola (PC)<br>- směs patogenních klonů                 |
| <b>CONTROL IC</b>                                                                   | ASTI IC              | 1 000 µl     | Vnitřní kontrola (IC) pro vzorky<br>moči a anorektálního stěru      |
| <b>WATER</b>                                                                        | RNase free water     | 1 000 µl     | Ultračistá kvalita, stupeň PCR                                      |
|  | Uživatelská příručka |              |                                                                     |

| <b>Příslušenství produktu - software pro analýzu</b> |
|------------------------------------------------------|
| Seegene Viewer*                                      |

\* Analytický software poskytuje společnost Seegene Inc. nebo místní obchodní zástupce.

Použijte prosím Seegene Viewer V3 a novější.

Reagencie obsažené v jedné sadě vystačí na 25 reakcí. Informace k  
objednávce ( **REF** SD10245Z)

| <b>Allplex™ STI Essential Assay</b>                                                 |                      |              |                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|--------------|---------------------------------------------------------------------|
| <b>Symbol</b>                                                                       | <b>Obsah</b>         | <b>Objem</b> | <b>Popis</b>                                                        |
| <b>PRIMER</b>                                                                       | 4X STI-EA MOM        | 125 µl       | MuDT Oligo Mix (MOM):<br>- reagencie pro amplifikaci a detekci      |
| <b>PREMIX</b>                                                                       | EM1                  | 125 µl       | - DNA polymeráza<br>- Uracil-DNA glykosyláza (UDG)<br>- Pufr s dNTP |
| <b>CONTROL +</b>                                                                    | STI-EA PC            | 50 µl        | Pozitivní kontrola (PC)<br>- směs patogenních klonů                 |
| <b>CONTROL IC</b>                                                                   | ASTI IC              | 250 µl       | Vnitřní kontrola (IC) pro vzorky<br>moči a anorektálního stěru      |
| <b>WATER</b>                                                                        | RNase free water     | 1 000 µl     | Ultračistá kvalita, stupeň PCR                                      |
|  | Uživatelská příručka |              |                                                                     |

| <b>Příslušenství produktu - software pro analýzu</b> |
|------------------------------------------------------|
| Seegene Viewer*                                      |

\* Analytický software poskytuje společnost Seegene Inc. nebo místní obchodní zástupce.  
Použijte prosím Seegene Viewer V3 a novější.

## **SKLADOVÁNÍ A MANIPULACE**

**Všechny součásti testu Allplex™ STI Essential Assay by měly být skladovány při teplotě  $\leq -20\text{ °C}$ .** Při dodržení těchto podmínek skladování jsou všechny složky stabilní až do data expirace uvedeného na štítku soupravy. Tento produkt lze používat 30 dní po prvním otevření soupravy a jeho výkon není ovlivněn až 5 cykly zmrazování a rozmrazování. Pokud budou reagencie používány pouze občasně, je vhodné je uskladnit po alikvótních částech.

## **POŽADOVANÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ BALENÍ**

- Jednorázové bezprašné rukavice (latexové nebo nitrilové)
- Pipety (nastavitelné) a sterilní špičky na pipety
- 1,5 ml zkumavky do mikrocentrifugy
- Výrobník ledu
- Stolní centrifuga
- Centrifuga Mini plate spinner
- Vortex
- Detekční systém CFX96™ Real-time PCR system (Bio-Rad)
- Systém CFX96™ Dx (Bio-Rad)
- Stripy 8 zkumavek s nízkým profilem 0,2 ml bez víček (bílé barvy, kat. č. TLS0851, Bio-Rad)
- Stripy 8 víček s opticky rovnou plochou (kat. č. TCS0803, Bio-Rad)
- Destičky s 96 jamkami WHT/WHT Hard-Shell® PCR (kat. č. HSP9655, Bio-Rad)
- Destičky s 96 jamkami WHT/WHT Hard-Shell® PCR nízký profil, tenkostěnné, s lemem, bílé/bílé, s čárovým kódem (kat. č. HSP9655, Bio-Rad)
- Vial Cap Management System (kat. č. 6600532-01, Hamilton)
- AIOS (kat. č. SG72100, Seegene)
- Propichovací víčko (kat. č. 922119, SPL) (pouze pro použití v AIOS)
- Permanentní čirá tepelná pečeť (kat. č. 1814035, Bio-Rad) \*
- PX1 PCR zařízení na utěsnění destičky (automatické utěsnění, kat. č. 181-4000, Bio-Rad) \*
- Fyziologický roztok
- Čistá lavice

\* Ujistěte se, že používáte kompatibilní tepelné těsnění a výše uvedené zařízení na utěsnění.

**PROTOKOL****1. Odběr, skladování a přeprava vzorků**

**Poznámka:** Se všemi vzorky je třeba zacházet jako s potenciálně infekčními materiály. Povoleny jsou pouze ty vzorky, které jsou odebírány, přepravovány a skladovány za přísného dodržování následujících pravidel a pokynů.

***Vzorek moči***

***Vzorek stěru z genitálií***

***Vzorky k cytologii v tenké vrstvě (liquid based cytology)***

***Sperma***

***Vzorek orofaryngeálního (krčního) stěru***

***Vzorek anorektálního stěru***

**Poznámka:** Přepravu vzorků je nutné uskutečnit co nejdříve, jen tak je možné zajistit dostatečnou kvalitu vzorků. Vzorky je třeba přepravovat při teplotách uvedených dále v textu.

**Vzorek moči**

- Pacient musí být poučen, že nesmí močit nejméně dvě hodiny před odběrem vzorku.
- Do čisté polypropylenové nádoby odeberte 10 ~ 30 ml moči z prvního proudu. Nádoby na vzorky uzavřete a označte. Důsledně dodržujte pokyny uvedené pro skladování a přepravu vzorku.

**Vzorek genitálního stěru, orofaryngeálního (krčního) stěru a anorektálního stěru**

Pro odběr vzorků genitálního stěru, orofaryngeálního (krčního) stěru a anorektálního stěru použijte tyto prostředky:

- Vzorky genitálního stěru, orofaryngeálního (krčního) stěru a anorektálního stěru lze odebrat a přepravit v 1 ~ 3 ml následujících médiích:
  - ENAT PM 2ML REGULÁRNÍ APLIKÁTOR (Copan)
  - UTM se stěrkami (Copan)

**Poznámka:** Orofaryngeální (krční) stěr a anorektální stěr nebyly validovány pomocí UTM s blokovacími tampony (Copan).

- Ponechte tampon v přepravním médiu. Kontejner se vzorkem zavřete a označte štítkem. Důsledně dodržujte pokyny uvedené pro skladování a přepravu.
- Při použití genitálních stěrů postupujte podle doporučeného protokolu pro odběr buněk sloupcového a dlaždicového epitelu po odstranění cervikálního hlenu.

#### **Vzorek cytologie v tenké vrstvě (liquid based cytology)**

- Použijte tekutá cytologická média ThinPrep® (HOLOGIC, USA) nebo SurePath™ (Becton- Dickinson, USA) nebo CellPreserv (Kolplast, Brazílie).
- Při odběru vzorků buněk děložního hrdla do médií ThinPrep®, SurePath™ a CellPreserv postupujte podle pokynů výrobce.

#### **Sperma**

- Odeberte sperma do čisté polypropylenového kontejneru. Kontejner se vzorkem uzavřete a označte štítkem. Důsledně dodržujte pokyny uvedené pro skladování a přepravu.

### **B. Skladování a přeprava vzorků**

| Skladování a přeprava    |             |                                 |              |                                                                                                                                             |
|--------------------------|-------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                          |             | Teplota                         | Doba trvání* |                                                                                                                                             |
| Vzorek moči              |             | 2~8°C                           | 1 týden      | Účinnost může být ovlivněna delším skladováním vzorků.<br><br>Manipulace se vzorky se musí řídit pokyny pro přepravu patogenního materiálu. |
| Vzorek stěru z genitálií |             | 2~8°C                           | 1 týden      |                                                                                                                                             |
| Cytologie v tenké vrstvě | ThinPrep®   | 2 ~ 8 °C** a pokojová teplota** | 90 dní       |                                                                                                                                             |
|                          | CellPreserv |                                 |              |                                                                                                                                             |
|                          | SurePathTM  | 2~8°C                           | 2 týdny      |                                                                                                                                             |
| Sperma                   |             | 2~8°C                           | 1 týden      |                                                                                                                                             |
| Orofaryngeální tampon    |             | 2~8°C                           | 3 dny        |                                                                                                                                             |
| Anorektální stěr         |             | 2~8°C                           | 2 dny        |                                                                                                                                             |
|                          |             | -20°C                           | 1 měsíc      |                                                                                                                                             |

\* Doba trvání: Doba od odběru vzorku do provedení testu, včetně skladování a přepravy vzorku před testem.

\*\* Optimální teplota pro přepravu je 2 ~ 25 °C.

## **2. Izolace nukleových kyselin**

### **A. Příprava vzorku**

**Poznámka:** Proces přípravy pro izolaci nukleových kyselin je stejný pro manuální i automatický extrakční systém.

#### **Vzorky genitálního stěru, orofaryngeálního stěru a anorektálního stěru**

U stěru z genitálií, orofaryngeálního stěru a anorektálního stěru se používá bez předchozího ošetření.

**Poznámka:** Vzorky orofaryngeálního a anorektálního stěru nebyly validovány pro použití s SEEPREP32.

#### **Cytologické vzorky moči a tekutin**

- Nechte vzorky vytemperovat na pokojovou teplotu (19 ~ 25 °C).
- Odstředte 1 ml vzorku moči a cytologického vzorku na bázi tekutiny po dobu 15 minut při 15 000 x g (13 000 ot./min.).
- Je nutné odstranit supernatant. Poté sediment pomocí vortexu pečlivě zcela resuspendujte v doporučeném objemu fyziologického roztoku (viz doporučený objem v bodech 2.C-1, 2.C-2).

**Poznámka:** Pokud jsou vzorky odebrány v médiu SurePath™, musí být extrahovány pomocí Microlab NIMBUS, IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS nebo Seegene STARlet proveďte přípravu pomocí lytického pufru v extrakční soupravě, nikoliv fyziologického roztoku.

**Poznámka:** Moč, média ThinPrep® a SurePath™ lze při použití Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS nebo Seegene STARlet zpracovat bez přípravy.

**Poznámka:** CellPreserv nevyžaduje přípravu.

**Poznámka:** SurePath™ použitý po přípravě nebyl validován se sadou STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C.

**Poznámka:** SurePath™ nebyl validován se sadou Ribo\_spin vRD, NucliSENS® easyMAG® a SEEPREP32.

- Postupujte podle protokolu výrobce.

**Sperma**

- Sperma nechte 30 minut ve tmě zkapalnit při pokojové teplotě (19 ~ 25 °C).
- Třikrát zřed'te fyziologickým roztokem v doporučeném objemu (viz Doporučený objem. 2.C) důkladným vířením ve vortexu.

**Poznámka:** Sperma nebylo validováno pro použití s SEEPREP32.

- Postupujte podle protokolu výrobce.

**B. Vnitřní kontrola**

**Poznámka:** U ostatních vzorků, s výjimkou moči a anorektálního stěru, se pro vnitřní kontrolu používá endogenní gen. Proto není potřeba další IC, která je součástí soupravy.

**Poznámka:** Součástí sady je integrovaný obvod ASTI. To umožňuje uživateli potvrdit nejen postup izolace nukleových kyselin, ale také identifikovat případnou inhibici PCR.

- U vzorků moči a anorektálního stěru je třeba před extrakcí nukleové kyseliny přidat ke každému vzorku 10 µl kontrolu ASTI IC.

**C. Automatizovaný systém izolace nukleových kyselin**

**Poznámka:** Použijte doporučené objemy vzorku a eluát, jak je uvedeno níže. Ostatní údaje naleznete v protokolu výrobce.

**C-1. Microlab NIMBUS IVD**

**Poznámka:** Viz příručka pro použití **Microlab NIMBUS IVD**.

| Automatický extrakční systém                 | Výrobce  | Kat. č.            | Doporučený objem                |
|----------------------------------------------|----------|--------------------|---------------------------------|
| Microlab NIMBUS IVD                          | Hamilton | 65415-02*          | -                               |
| STARMag 96 X 4<br>UniversalCartridge Kit     | Seegene  | 744300.4.<br>UC384 | Vzorek: 300 µl<br>Eluát: 100 µl |
| STARMag 96 X 4<br>Viral DNA/RNA 200 C Kit ** | Seegene  | EX00013C           | Vzorek: 300 µl<br>Eluát: 100 µl |

\*Pokud si přejete zakoupit tento produkt od společnosti Seegene Inc., použijte toto katalogové číslo.

\*\* SurePath™ použitý po přípravě nebyl validován se sadou STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C.

### C-2. Microlab STARlet IVD

**Možnost:** (viz návod k obsluze Vial Cap Management System)

| Automatický preanalytický systém | Výrobce  | Kat. č.     |
|----------------------------------|----------|-------------|
| Vial Cap Management System       | Hamilton | 6600532-01* |

\* Pokud si přejete zakoupit výše uvedené produkty od společnosti Seegene Inc., použijte toto katalogové číslo.

**Poznámka:** Viz příručka pro použití **Microlab STARlet IVD**.

| Automatický extrakční systém                 | Výrobce  | Kat. č.            | Doporučený objem                  |
|----------------------------------------------|----------|--------------------|-----------------------------------|
| Microlab STARlet IVD                         | Hamilton | 173000-075*        | -                                 |
| STARMag 96 X 4<br>UniversalCartridge Kit     | Seegene  | 744300.4.<br>UC384 | Vzorek: 300 µl<br>Eluát: 100 µl   |
| STARMag 96 X 4<br>Viral DNA/RNA 200 C Kit ** | Seegene  | EX00013C           | Vzorek: 300 µl L<br>Eluát: 100 µl |

\* Pokud si přejete zakoupit tento produkt od společnosti Seegene Inc., použijte toto katalogové číslo.

\*\* SurePath™ použitý po přípravě nebyl validován se sadou STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C.

### C-3. Seegene NIMBUS

**Poznámka:** Viz návod k obsluze **Seegene NIMBUS**.

| Automatický extrakční systém                | Výrobce | Kat. č.            | Doporučený objem                |
|---------------------------------------------|---------|--------------------|---------------------------------|
| Seegene NIMBUS                              | Seegene | 65415-03           | -                               |
| STARMag 96 X 4<br>UniversalCartridge Kit    | Seegene | 744300.4.<br>UC384 | Vzorek: 300 µl<br>Eluát: 100 µl |
| STARMag 96 X 4<br>Viral DNA/RNA 200 C Kit * | Seegene | EX00013C           | Vzorek: 300 µl<br>Eluát: 100 µl |



\* SurePath™ použitý po přípravě nebyl validován se sadou STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C.

#### C-4. Seegene STARlet

**Možnost:** (viz návod k obsluze Vial Cap Management System)

| Automatizovaný preanalytický systém | Výrobce  | Kat.č.      |
|-------------------------------------|----------|-------------|
| Vial Cap Management System          | Hamilton | 6600532-01* |

\* Pokud si přejete zakoupit výše uvedené produkty od společnosti Seegene Inc., použijte toto katalogové číslo.

**Možnost:** Automatická struktura propojení (viz návod k obsluze AIOS)

| Automatizovaná struktura propojení | Výrobce | Kat.č.  |
|------------------------------------|---------|---------|
| AIOS                               | Seegene | SG72100 |

**Poznámka:** Vyměňte víčko pozitivní kontroly (PC) za propichovací víčko. Po dokončení operace vyměňte víčko pozitivní kontroly (PC) za původní víčko.

**Poznámka:** Propichovací víčko je výrobek na jedno použití a po jednom použití musí být zlikvidováno.

**Poznámka:** Při použití s AIOS lze tento produkt použít maximálně pro 3 samostatné běhy.

**Poznámka:** Viz návod k obsluze **Seegene STARlet**.

| Automatizovaný extrakční systém             | Výrobce | Kat.č.             | Doporučený objem                |
|---------------------------------------------|---------|--------------------|---------------------------------|
| Seegene STARlet                             | Seegene | 67930-03           | -                               |
| STARMag 96 X 4<br>UniversalCartridge Kit    | Seegene | 744300.4.<br>UC384 | Vzorek: 300 µl<br>Eluát: 100 µl |
| STARMag 96 X 4<br>Viral DNA/RNA 200 C Kit * | Seegene | EX00013C           | Vzorek: 300 µl<br>Eluát: 100 µl |

\* SurePath™ použitý po přípravě nebyl validován se sadou STARMag 96 X 4 Viral DNA/RNA 200 C.

**C-5. NucliSENS® easyMAG®**

- Pokračujte v procesu izolace pomocí "**obecného protokolu**".

| Automatizovaný extrakční systém | Výrobce    | Kat. č. | Doporučený objem                                        |
|---------------------------------|------------|---------|---------------------------------------------------------|
| NucliSENS® easyMAG®             | BioMerieux | 200111  | Vzorek: Magnetický oxid křemičitý: 50Λ<br>Eluát: 100 µl |

\* V případě vzorku moči resuspendujte peletu s 200 µl fyziologického roztoku a přidejte 10 µl ASTI IC.

\* V případě vzorku anorektálního stěru přidejte 10 µl kontroly ASTI IC.

**Poznámka:** SurePath™ nebyl ověřen s NucliSENS® easyMAG®.

**C-6. SEEPREP32**

- Pokračujte v izolaci pomocí "**Pro-Protokolu A**".

| Automatizovaný extrakční systém     | Výrobce | Kat. č.  | Doporučený Objem                 |
|-------------------------------------|---------|----------|----------------------------------|
| SEEPREP32                           | Seegene | SG71100  | -                                |
| STARMag 96 ProPrep (typ plato)      | Seegene | EX00009P | Vzorek: 200 µl*<br>Eluát: 100 µl |
| STARMag 96 ProPrep (typ zkumavk)    | Seegene | EX00009T | Vzorek: 200 µl*<br>Eluát: 100 µl |
| STARMag 96 ProPrep C (typ plato)    | Seegene | EX00017P | Vzorek: 200 µl*<br>Eluát: 100 µl |
| STARMag 96 ProPrep C (typ zkumavka) | Seegene | EX00017T | Vzorek: 200 µl*<br>Eluát: 100 µl |

\* V případě vzorku moči resuspendujte peletu s 200 µl fyziologického roztoku a přidejte 10 µl ASTI IC.

**Poznámka:** Vzorky spermatu, orofaryngeálního stěru a anorektálního stěru nebyly validovány pomocí SEEPREP32.

#### D. Soupravy pro manuální izolaci nukleových kyselin

**Poznámka:** Použijte doporučené objemy vzorku a eluátu, jak je uvedeno níže. Ostatní údaje naleznete v protokolu výrobce.

| Extrakční sada                                       | Výrobce | Kat. Č.              | Doporučený objem                    |
|------------------------------------------------------|---------|----------------------|-------------------------------------|
| QIAamp® DSP DNA Mini Kit                             | QIAGEN  | 61304                | Vzorek: 200 µl ****<br>Eluát: 50 µl |
| QIAamp® DNA Mini Kit*                                | QIAGEN  | 51304                | Vzorek: 200 µl ****<br>Eluát: 50 µl |
| Ribo_spin vRD**<br>(sada pro izolaci virové RNA/DNA) | GeneAll | 302-150<br>SG1701*** | Vzorek: 200 µl ****<br>Eluát: 50 µl |

\* V případě médií SurePath™ zpracujte lyzaci s použitím 180 µl ATL pufru namísto AL pufru.

\*\* Sada Ribo\_spin vRD není kompatibilní s médii SurePath™.

\*\*\* Pokud si přejete zakoupit výše uvedené produkty od společnosti Seegene Inc., použijte toto katalogové číslo.

\*\*\*\* V případě vzorku moči resuspendujte peletu se 190 µl fyziologického roztoku a přidejte 10 µl ASTI IC.

\*\*\*\* V případě vzorku anorektálního stěru přidejte 10 µl ASTI IC.

**E. Souhrn**

| VZORKA                   | Automatizační extrakční systém    |                            |                           |                            | Ruční extrakční soupravy |           |                       |                                      |          |
|--------------------------|-----------------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------|-----------|-----------------------|--------------------------------------|----------|
|                          | Microlab NIMBUS IVD / STARlet IVD |                            | Seegene NIMBUS / STARlet* |                            | SEEPREP32                |           | QIAamp® NucliSENS®DSP |                                      |          |
|                          | Univerzální Sada kazet            | Virální Sada DNA/RNA 200 C | Univerzální Sada kazet    | Virální Sada DNA/RNA 200 C | ProPrep                  | ProPrep C | easyMAG®              | QIAamp® Mini Kit / Sada DNA Mini Kit | spin vRD |
| Moč (s přípravou)        | O                                 | O                          | O                         | O                          | O                        | O         | O                     | O                                    | O        |
| Moč (bez přípravy)       | O                                 | O                          | O                         | O                          | X                        | X         | X                     | X                                    | X        |
| Stěr z genitálií(EN AT)  | O                                 | O                          | O                         | O                          | O                        | O         | O                     | O                                    | O        |
| Stěr z genitálií(UT M)   | O                                 | O                          | O                         | O                          | O                        | O         | O                     | O                                    | O        |
| ThinPrep® (s přípravou)  | O                                 | O                          | O                         | O                          | O                        | O         | O                     | O                                    | O        |
| ThinPrep® (bez přípravy) | O                                 | O                          | O                         | O                          | X                        | X         | X                     | X                                    | X        |
| Surepath™ (s přípravou)  | O                                 | X                          | O                         | X                          | X                        | X         | X                     | O                                    | X        |
| Surepath™ (bez přípravy) | O                                 | O                          | O                         | O                          | X                        | X         | X                     | X                                    | X        |
| CellPreserv              | O                                 | O                          | O                         | O                          | O                        | O         | O                     | O                                    | O        |
| Sperma                   | O                                 | O                          | O                         | O                          | X                        | X         | O                     | O                                    | O        |
| Orofaryngeální stěr      | O                                 | O                          | O                         | O                          | X                        | X         | O                     | O                                    | O        |
| Anorektální stěr         | O                                 | O                          | O                         | O                          | X                        | X         | O                     | O                                    | O        |

\* Volitelně: AIOS lze použít se Seegene STARlet.

### 3. Příprava pro Real-time PCR

**Poznámka:** Je třeba použít správné typy zkumavek a víček. (viz POŽADOVANÉ MATERIÁLY. KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY)

**Poznámka:** Při přípravě reakcí PCR je třeba používat filtrační špičky odolné proti aerosolu a přiléhavé rukavice. Dbejte zvýšené opatrnosti, aby nedošlo ke křížové kontaminaci.

**Poznámka:** Všechny reagenty zcela rozmrazte na ledu.

**Poznámka:** Zkumavky s reagenty krátce odstředte, abyste odstranili kapky z vnitřní strany víčka.

**Poznámka:** Kroky A~D se automaticky zpracovávají na Microlab NIMBUS IVD, Microlab STARlet IVD, Seegene NIMBUS a Seegene STARlet. Viz příručka pro použití k jednotlivým zařízením.

#### A. Připravte PCR Mastermix.

|       |                              |
|-------|------------------------------|
| 5 µl  | 4X STI-EA MOM                |
| 5 µl  | EM1                          |
| 5 µl  | RNase free water             |
| 15 µl | Celkový objem PCR Mastermixu |

**Poznámka:** Vypočítejte potřebné množství jednotlivých reagentů podle počtu reakcí (vzorky + kontroly).

**B.** Promíchejte pětinasobným převrácením nebo krátce vortexujte a pak krátce odstředte.

**C.** Přeneste alikvótní části 15 µl PCR Mastermixu do PCR zkumavek.

**D.** Do zkumavek obsahujících PCR Mastermix přidejte 5 µl jednotlivých vzorků nukleové kyseliny.

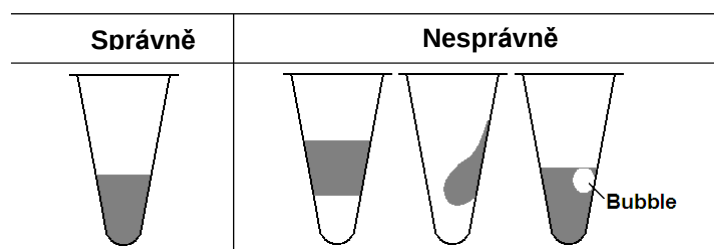
|       |                          |
|-------|--------------------------|
| 15 µl | PCR Mastermix            |
| 5 µl  | Nukleová kyselina vzorku |
| 20 µl | Celkový objem reakce     |

**E.** Uzavřete víčka a zkumavky krátce odstředte.

**F.** Zkontrolujte, zda je kapalina obsahující všechny složky PCR na dně zkumavky PCR.

Pokud tomu tak není, odstředte znovu při vyšších otáčkách za minutu po delší dobu.

**Poznámka:** Před spuštěním PCR reakce je nutné zkumavky odstředit. Je třeba vytlačit kapalinu na dno a vypudit vzduchové bubliny.



**Poznámka:** Pro každý vzorek použijte novou sterilní špičku na pipetu.

**Poznámka:** Pro **negativní kontrolu (NC)** použijte místo nukleové kyseliny vzorku 5 µl RNase free water.

**Poznámka:** Pro **pozitivní kontrolu (PC)** použijte místo nukleové kyseliny vzorku 5 µl STI-EA PC.

**Poznámka:** Dávejte pozor, aby nedošlo ke křížové kontaminaci PCR Mastermixu a vzorků s pozitivní kontrolou.

**Poznámka:** Štítek neumísťujte na víčko zkumavky, fluorescence je detekována skrz víčko.

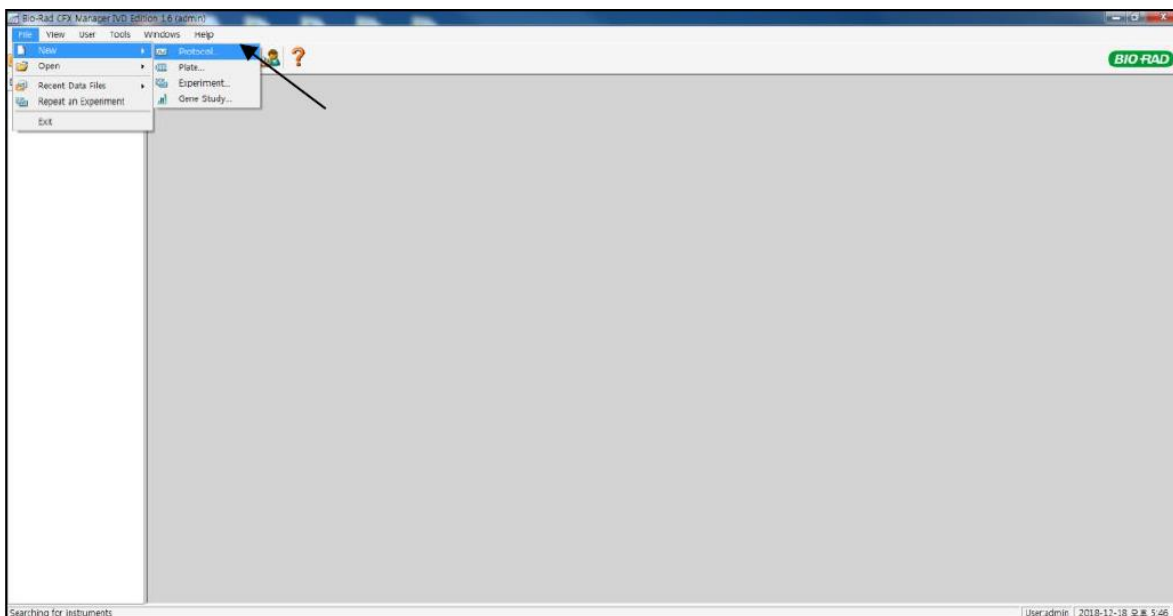
**Poznámka:** Při použití permanentního čírého tepelného těsnění místo víčka použijte těsnění PX1 PCR.

**NASTAVENÍ PŘÍSTROJE PRO REAL-TIME PCR A ANALÝZA VÝSLEDKŮ****1. CFX96™ Real-time PCR Detection System (CFX Manager™ Software-IVD v1.6)****1.1. Nastavení přístroje RT PCR**

**Poznámka:** Nastavení experimentu CFX96™ Real-time PCR Detection System (Bio-Rad) lze rozdělit do tří kroků: Setup Protocol (Nastavení protokolu), Setup Plate (Nastavení plata) a Start Run (Spuštění runu).

**A. Nastavení protokolu**

1) V hlavní nabídce zvolte možnost **File (Soubor) → New (Nový) → Protocol**. Otevře se **Editor protokolu**.

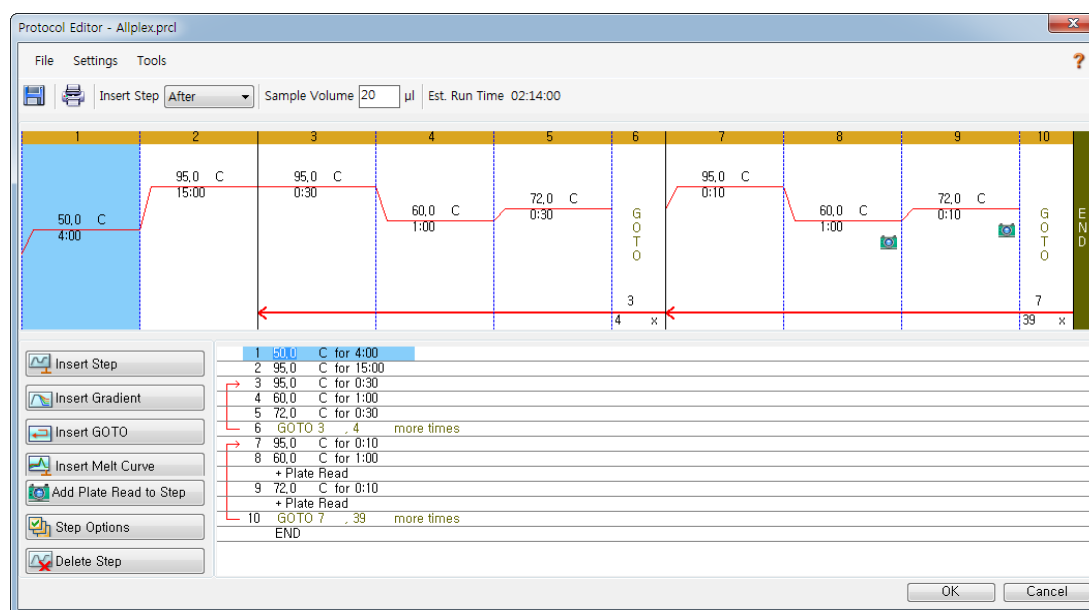


Obr. 1. Nastavení protokolu

2) V **Editoru protokolu** definujte tepelný profil takto:

| Step | No. of cycles              | Temperature | Duration |
|------|----------------------------|-------------|----------|
| 1    | 1                          | 50°C        | 4 min    |
| 2    |                            | 95°C        | 15 min   |
| 3    | 5                          | 95°C        | 30 sec   |
| 4    |                            | 60°C        | 1 min    |
| 5    |                            | 72°C        | 30 sec   |
| 6    | GOTO 3, 4 more times       |             |          |
| 7    | 40                         | 95°C        | 10 sec   |
| 8*   |                            | 60°C        | 1 min    |
| 9*   |                            | 72°C        | 10 sec   |
| 10   | GOTO Step 7, 39 more times |             |          |

**Poznámka\*:** Čtení fluorescence v kroku 8 a 9. Fluorescence se detekuje při 60°C a 72°C.

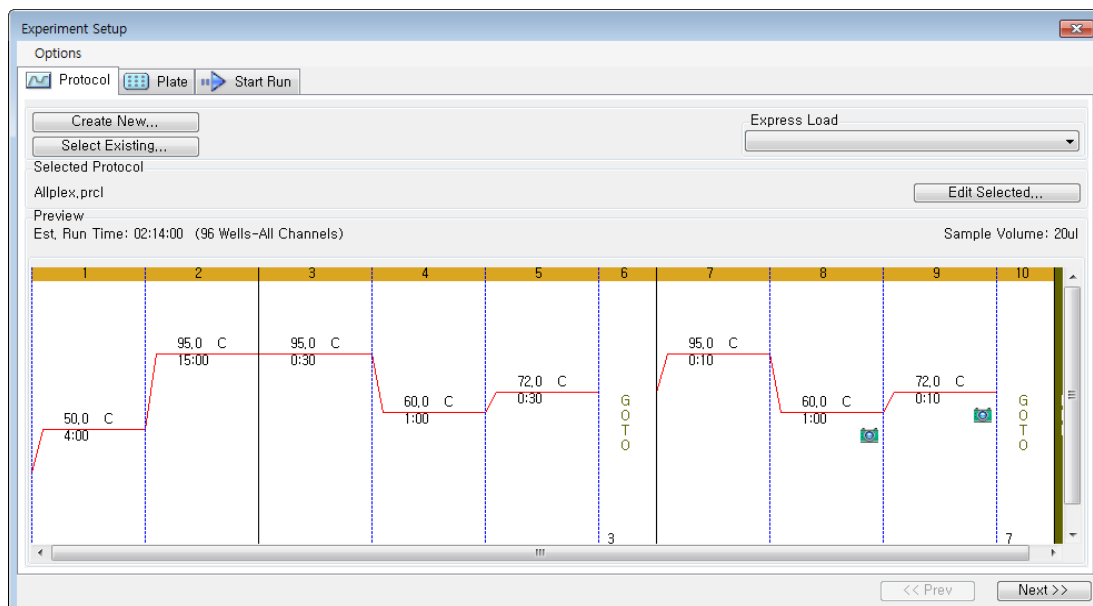


Obr. 2. Editor protokolu

3) Kliknutím na políčko vedle položky **Sample Volume (Objem vzorku)** přímo zadejte 20 µl.



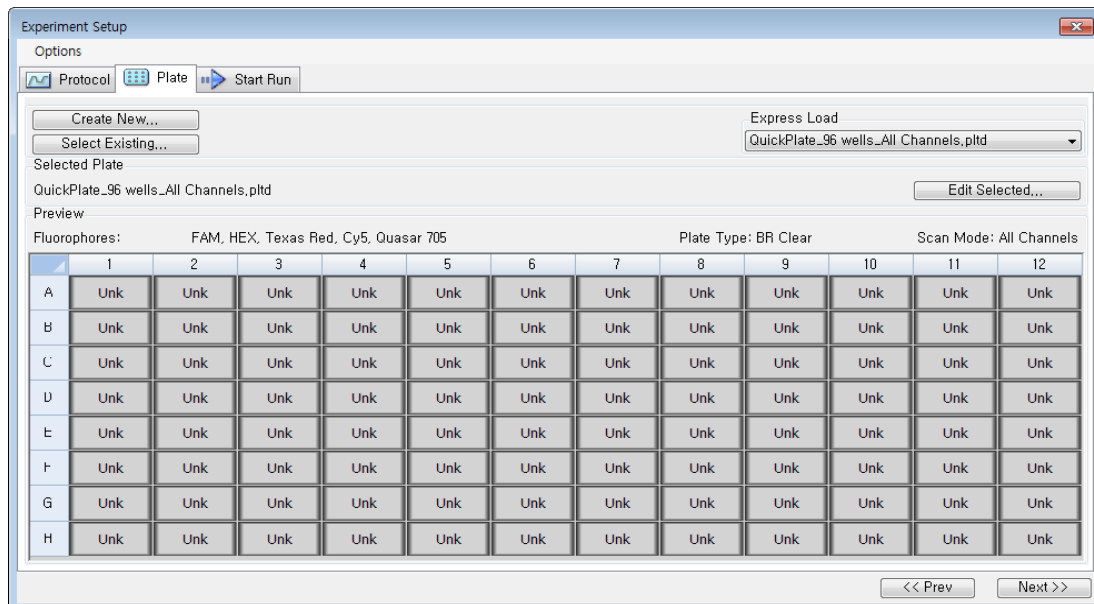
4) Kliknutím na tlačítko **OK** a uložením protokolu otevřete okno **Experiment Setup (Nastavení experimentu)**.



Obr. 3. Nastavení experimentu: Protokol

## B. Nastavení plata

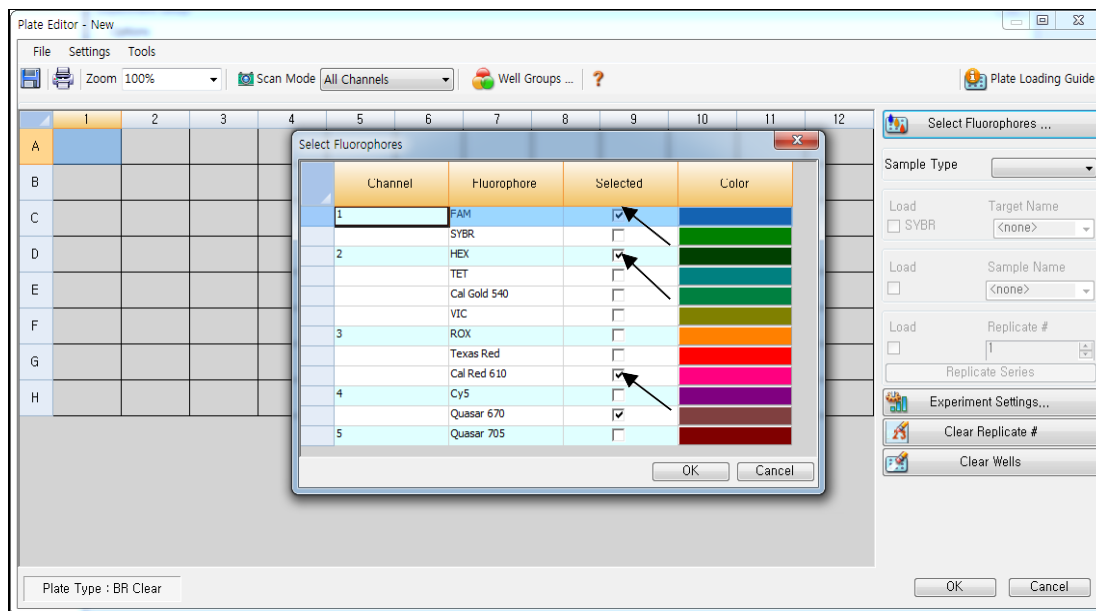
1) Na záložce **Plate (Plato)** v okně **Experiment Setup (Nastavení experimentu)** klikněte na tlačítko **Create New (Vytvořit nový)**. Otevřete tak okno **Plate Editor (Editor plata)**.



|   | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   | 8   | 9   | 10  | 11  | 12  |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| A | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk |
| B | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk |
| C | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk |
| D | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk |
| E | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk |
| F | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk |
| G | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk |
| H | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk | Unk |

Obr. 4. Editor plata

2) Kliknutím na tlačítko **Select Fluorophores (Vybrat fluorofory)** označte fluorofory (**FAM, HEX, Cal Red 610 a Quasar 670**), které budou použity, a klikněte na tlačítko **OK**.



Obr. 5. Vybrat fluorofory (FAM, HEX, Cal Red 610 a Quasar 670)

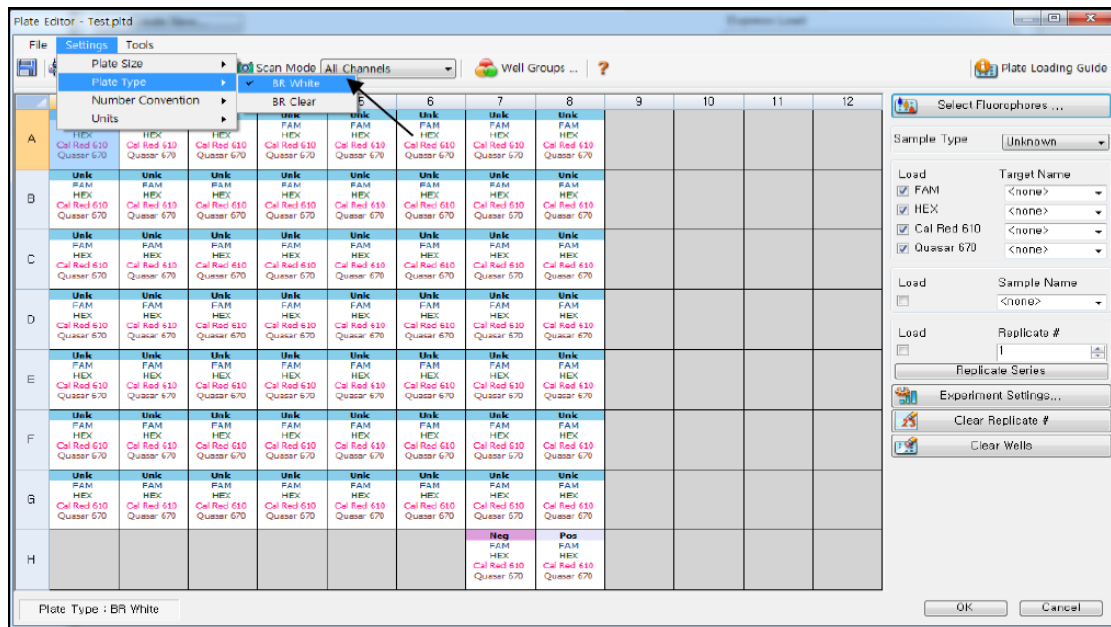
3) Vyberte jamky, do kterých bude umístěna zkumavka PCR, a vyberte typ vzorku z roletového menu.

- **Unknown - Neznámý**: Klinické vzorky
- **Negative Control - Negativní kontrola**
- **Positive Control - Pozitivní kontrola**

4) Kliknutím na příslušná zaškrťovací políčka (**FAM, HEX, Cal Red 610 a Quasar 670**) takpro vybrané jamky provedete výběr měřících kanálů.

5) Zadejte **Sample name (Název vzorku)** a stiskněte klávesu enter.

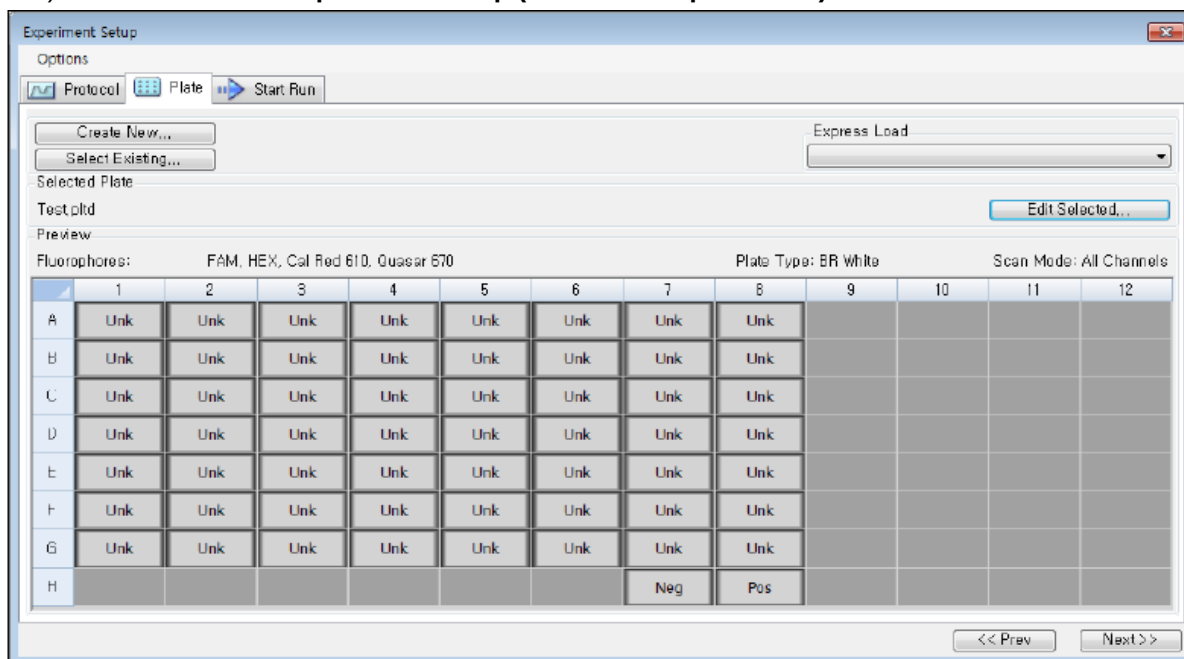
6) Ve volbě **Settings** hlavního menu **Plate Editoru** zvolte **Plate Size (96 wells)** a **Plate Type(BR White)**.



Obr. 6. Plate Setup (Nastavení destičky)

7) Kliknutím na tlačítko **OK** novou desku uložte.

8) Vraťte se do okna **Experiment Setup (Nastavení experimentu)**.

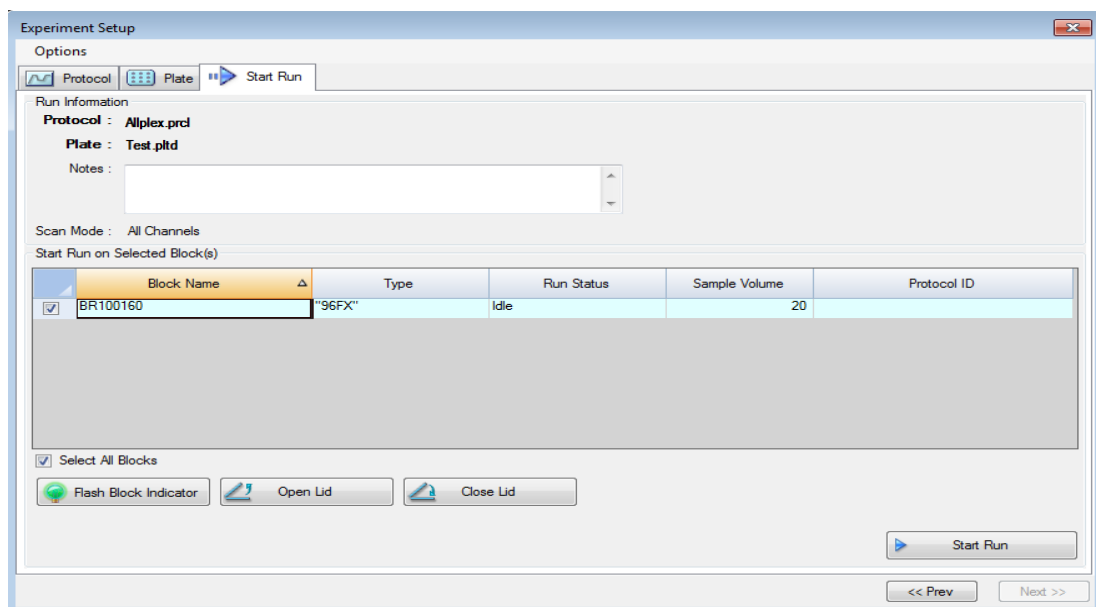


Obr. 7. Nastavení experimentu:

9) Kliknutím na tlačítko **Další** spusťte spuštění.

### C. Start Run (Spustit)

- 1) Na záložce **Start Run (Spustit)** v okně **Experiment Setup (Nastavení experiment)** klikněte na **Close Lid (Zavřít víko)**, tak dojde k zavření víka přístroje.



Obr. 8. **Close Lid (Zavřít víko)**

- 2) Klikněte na tlačítko **Start Run (Spustit)**.
- 3) Spuštěný soubor uložte do složky **Moje dokumenty** nebo do určené složky. Zadejte název souboru, klikněte na tlačítko **SAVE (ULOŽIT)** a tím dojde ke spuštění runu.

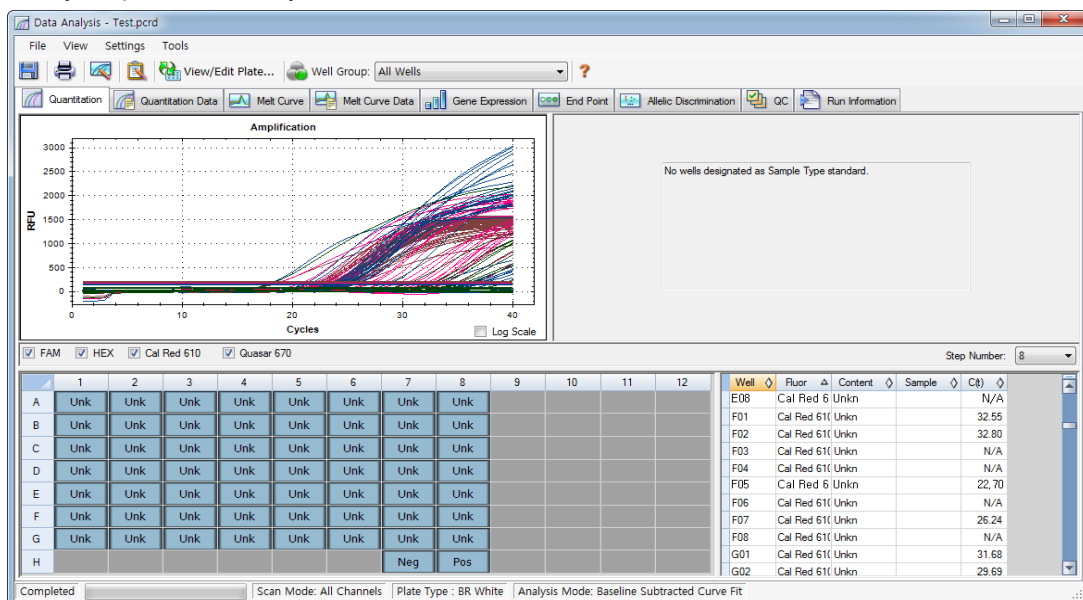
## 1.2. Analýza dat

### A. Vytvoření složek pro uložení exportovaných dat

- 1) Pro uložení dat měření všech amplifikačních křivek ze souboru výsledků vytvořte jednu složku.
- 2) Název složky může uživatel zadat podle své volby (v případě použití funkce „Seegene Export“ jsou ve složce vytvořené uživatelem automaticky vytvořeny podsložky „QuantStep8“ a „QuantStep9“, do kterých jsou uložena data amplifikačních křivek).

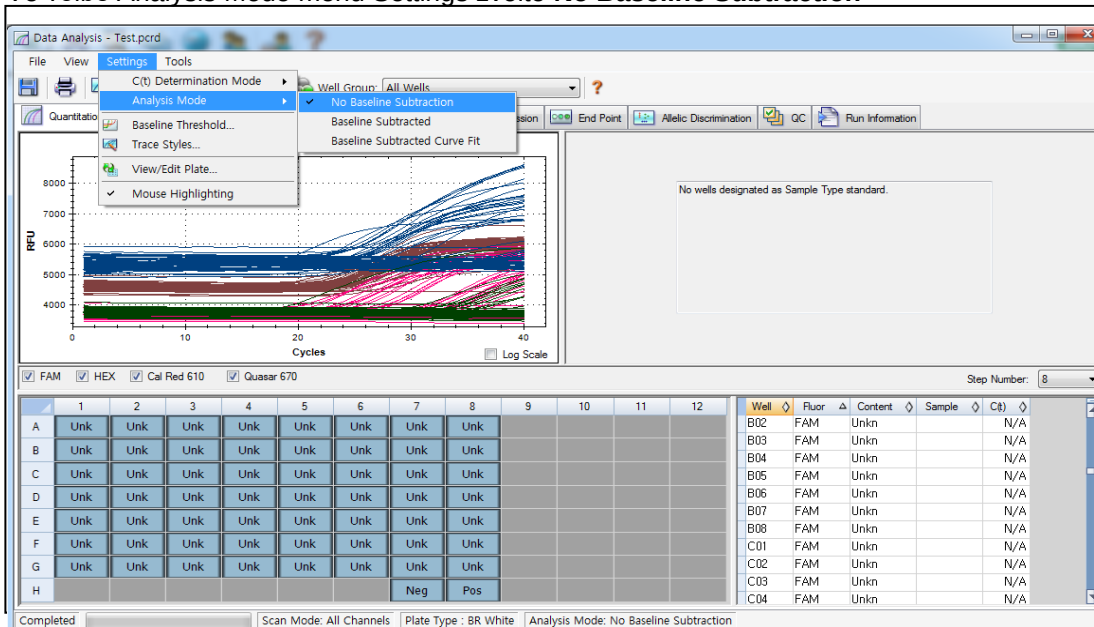
## B. Přednastavení pro analýzu dat v programu CFX Manager™

1) Po dokončení testu klikněte na záložky **Quantification (Kvantifikace)**. Tím potvrdíte výsledky amplifikační křivky.



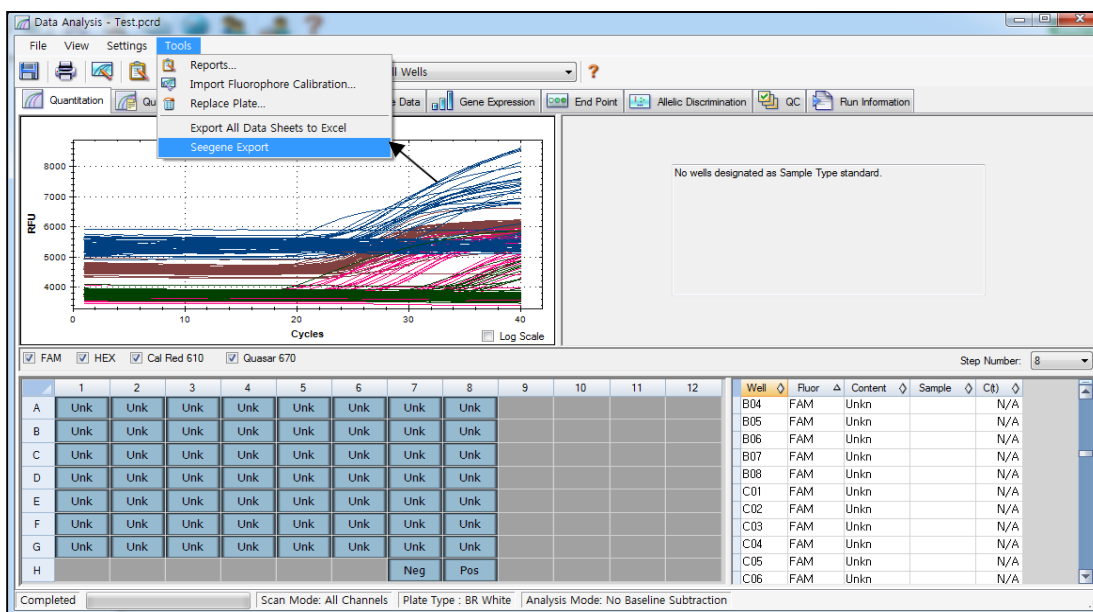
Obr. 9. Výsledky amplifikační křivky

2) Ve volbě Analysis Mode menu Settings zvolte **No Baseline Subtraction**



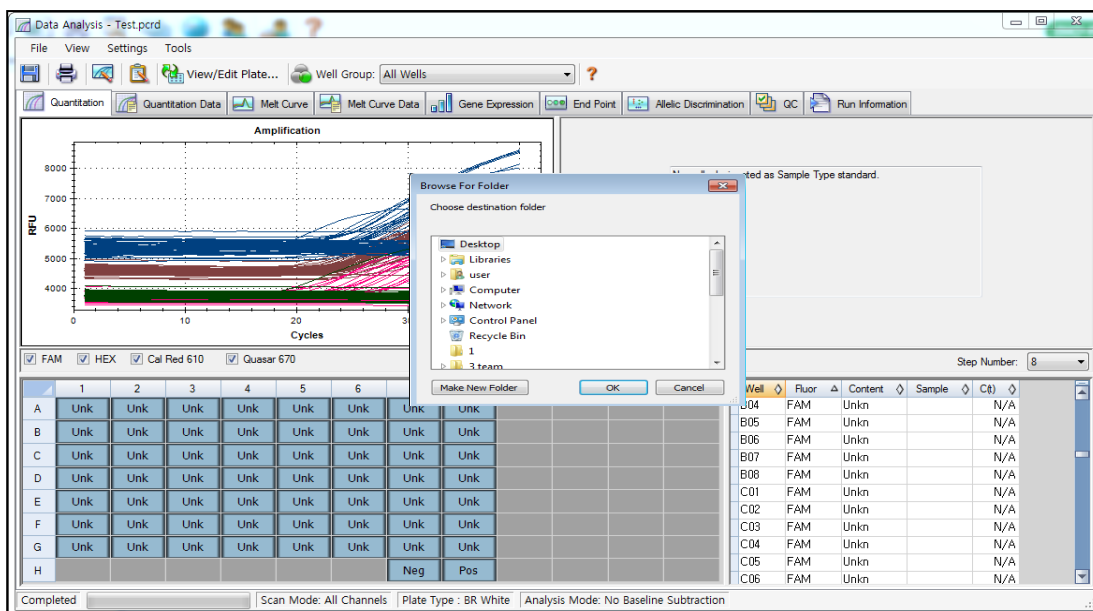
Obr. 10. No Baseline Subtraction

3) V nabídce Tools (Nástroje) zvolte položku **Seegene Export**.



Obr. 11. Seegene Export

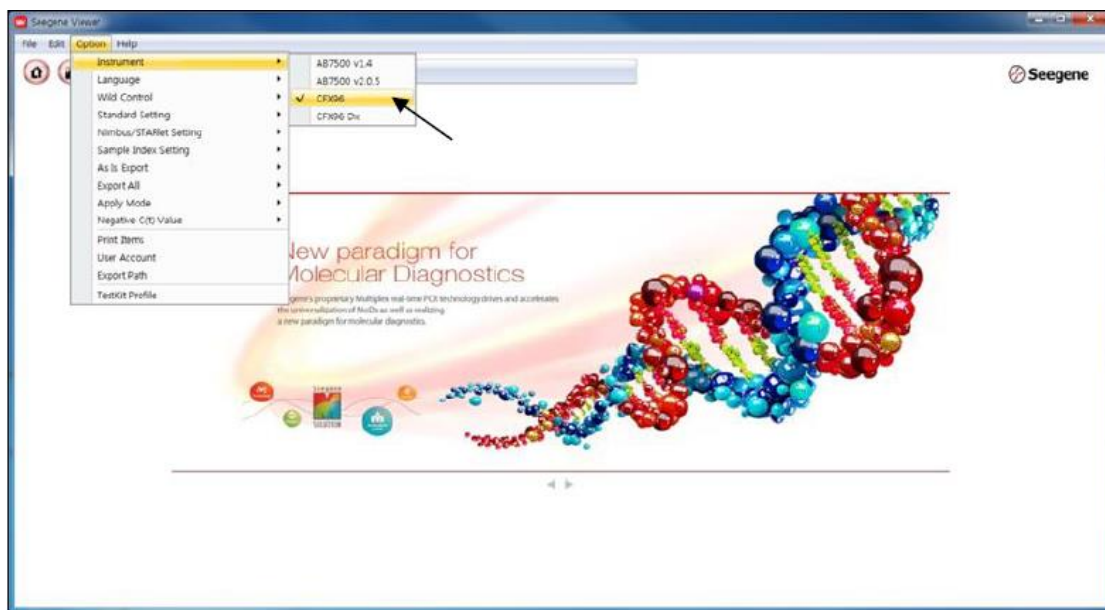
4) Vyberte umístění pro uložení dat a klikněte na tlačítko **OK**.



Obr. 12. Seegene Export - export dat do určené složky

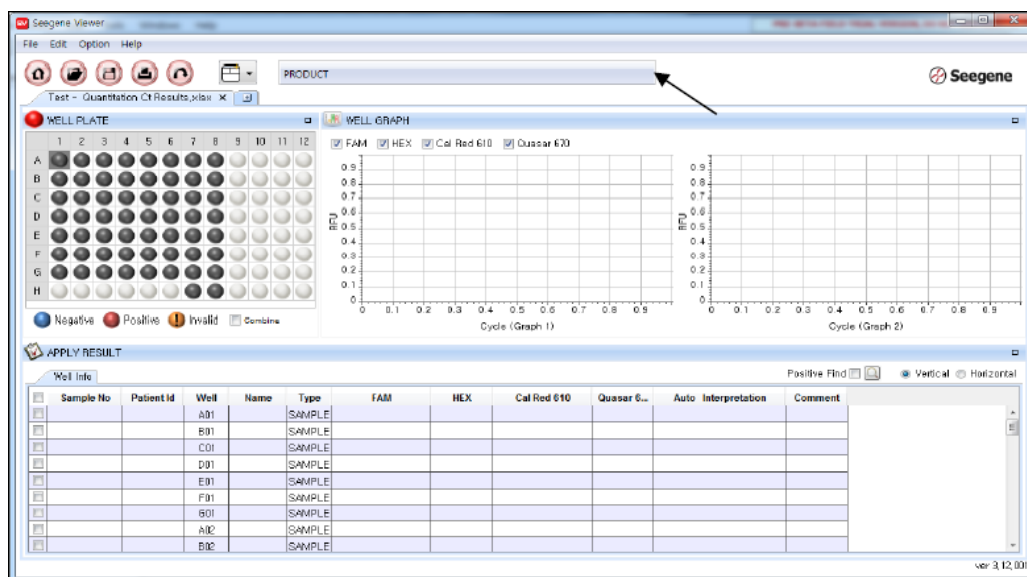
### C. Nastavení pro analýzu dat v prohlížeči Seegene Viewer

1) Spustíte program Seegene Viewer a kliknutím na **Option** vyberte v **Instrument** možnost **CFX96**.



Obr. 13. Seegene Viewer

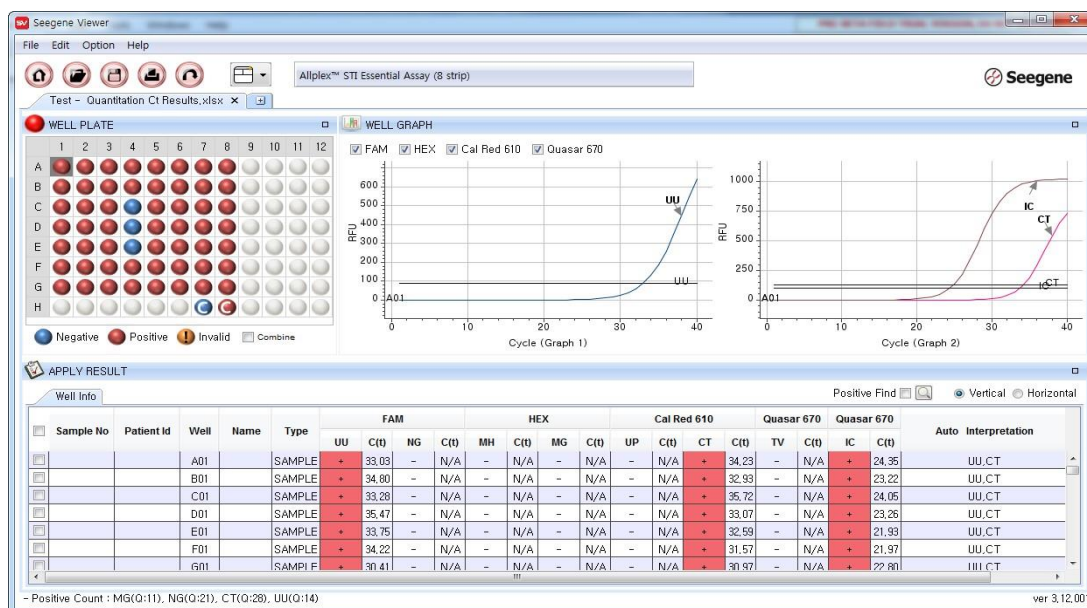
2) Klikněte na tlačítko **Open (Otevřít)** a vyhledejte soubor uložený ve složce "QuantStep8". Otevřete soubor s výsledky a z nabídky **PRODUKT** vyberte testovací sadu.



Obr. 14. Nastavení pro analýzu dat v prohlížeči Seegene Viewer

**Poznámka:** Při výběru testovací sady ověřte typ zkumavky (8 proužků / 96 víček / 96 fólií).

3) Zkontrolujte výsledek všech jamek.



Obr. 15. Výsledek testu v Seegene Viewer

4) Kritéria platnosti výsledků kontrol

a. Platný průběh testu

Pro potvrzení platnosti experimentů musí být PCR testy doplněny o PC (pozitivní kontrolu) a NC (negativní kontrolu). Průběh testu je označen jako platný, pokud jsou splněna všechna následující kritéria:

| Control          | Seegene Viewer Result |      |          |      |                  |      |                |      |                     |
|------------------|-----------------------|------|----------|------|------------------|------|----------------|------|---------------------|
|                  | FAM (Ct)              |      | HEX (Ct) |      | Cal Red 610 (Ct) |      | Quasar670 (Ct) |      | Auto Interpretation |
|                  | UU                    | NG   | MH       | MG   | UP               | CT   | TV             | IC   |                     |
| Positive Control | ≤ 40                  | ≤ 40 | ≤ 40     | ≤ 40 | ≤ 40             | ≤ 40 | ≤ 40           | ≤ 40 | Positive Control(+) |
| Negative Control | N/A                   | N/A  | N/A      | N/A  | N/A              | N/A  | N/A            | N/A  | Negative Control(-) |

b. Neplatný průběh testu

V případě selhání platnosti nesmí být výsledky vzorku interpretovány ani uváděny a test je nutné opakovat.



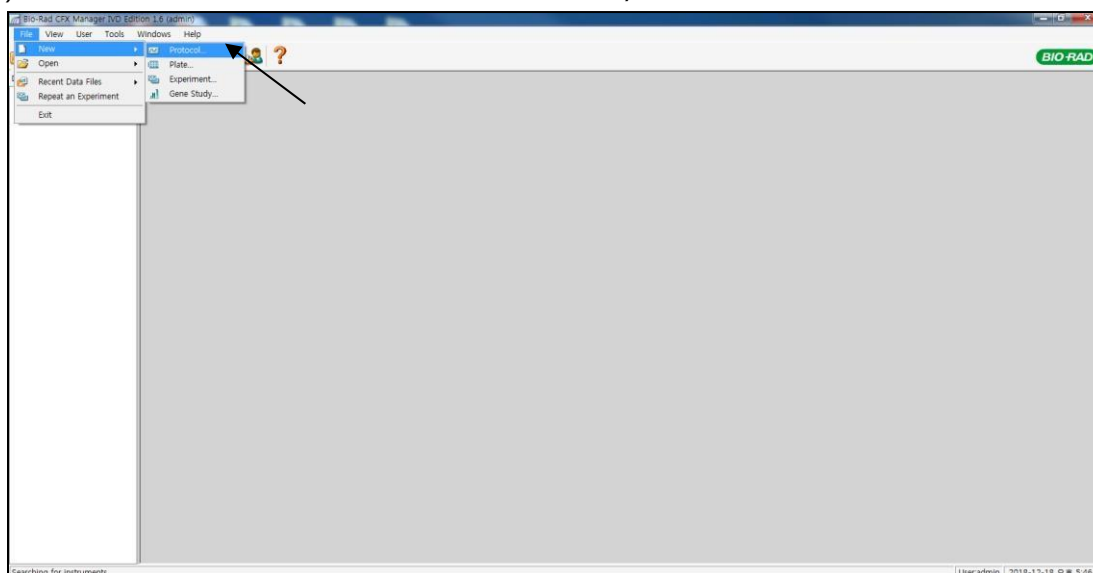
## 2. Systém CFX96™ Dx (software CFX Manager™ Dx v3.1)

### 2.1. Nastavení přístroje pro Real- time PCR

**Poznámka:** Nastavení experimentu v systému CFX96™ Dx (Bio-Rad) lze rozdělit do tří kroků: Nastavení protokolu, Nastavení plata a Spuštění běhu.

#### A. Nastavení protokolu

1) V hlavní nabídce zvolte **File** → **New** → **Protocol**, tak otevřete **Protocol Editor**.

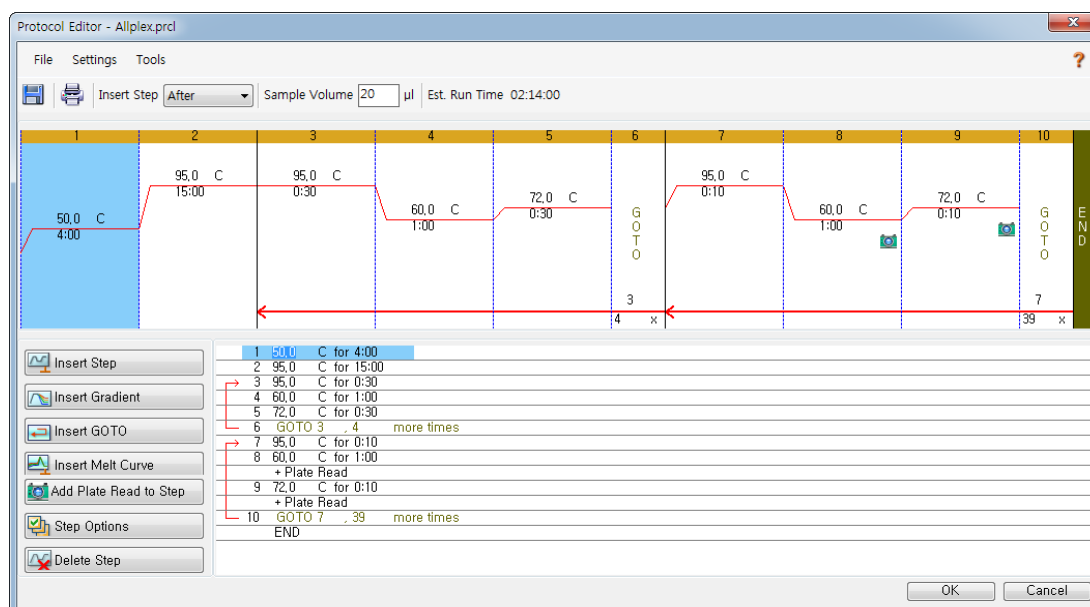


Obr. 1. **Nastavení protokolu.** Pro dané měření vytvořte nový nebo načtěte již existující protokol měření

2) V **Editoru protokolu** definujte tepelný profil takto:

| Step | No. Of Cycles              | Temperature | Duration |
|------|----------------------------|-------------|----------|
| 1    | 1                          | 50°C        | 4 min    |
| 2    |                            | 95°C        | 15 min   |
| 3    | 5                          | 95°C        | 30 s     |
| 4    |                            | 60°C        | 1 min    |
| 5    |                            | 72°C        | 30 s     |
| 6    | G GOTO 3, 4 more times     |             |          |
| 7    | 40                         | 95°C        | 10 s     |
| 8*   |                            | 60°C        | 1 min    |
| 9*   |                            | 72°C        | 10 s     |
| 10   | GOTO Step 7, 39 more times |             |          |

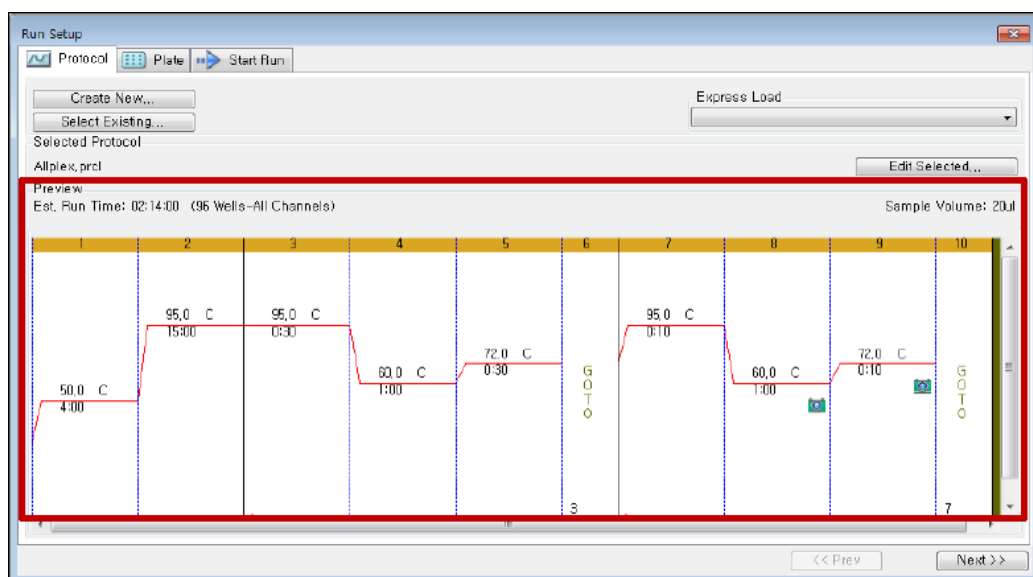
**Poznámka\*:** „Plate Read“ na Step 8 a 9. Fluorescence se detekuje při 60 °C a 72 °C.



Obr. 2. Editor protokolu

3) Kliknutím na políčko vedle položky **Sample Volume (Objem vzorku)** zadejte přímo 20 µl.

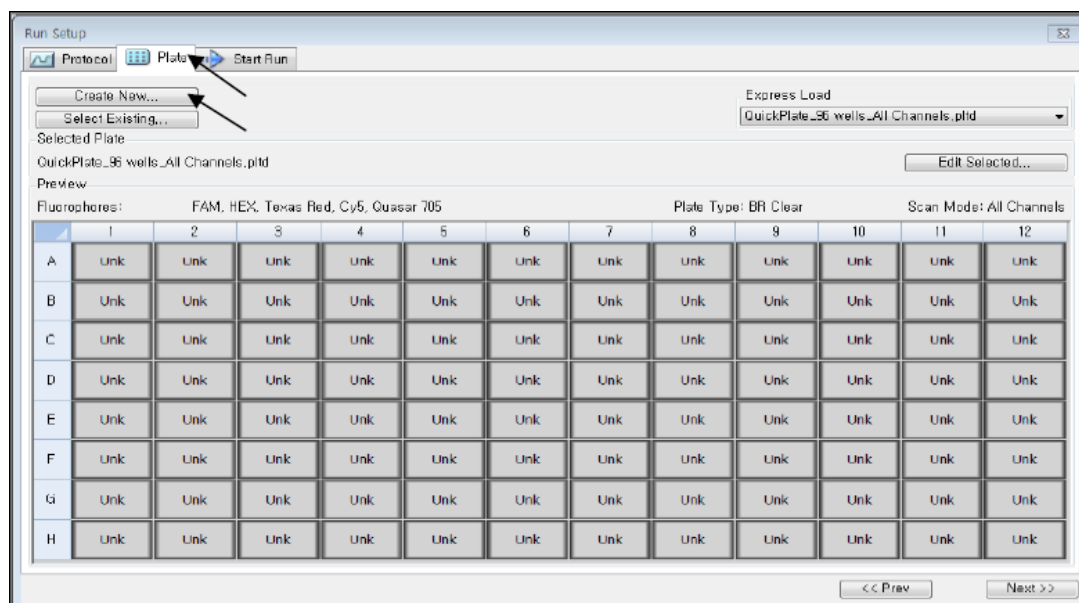
4) Kliknutím na tlačítko **OK** a uložením protokolu otevřete okno **Experiment Setup (Nastavení experimentu)**.



Obr. 3. Nastavení experimentu: Protokol

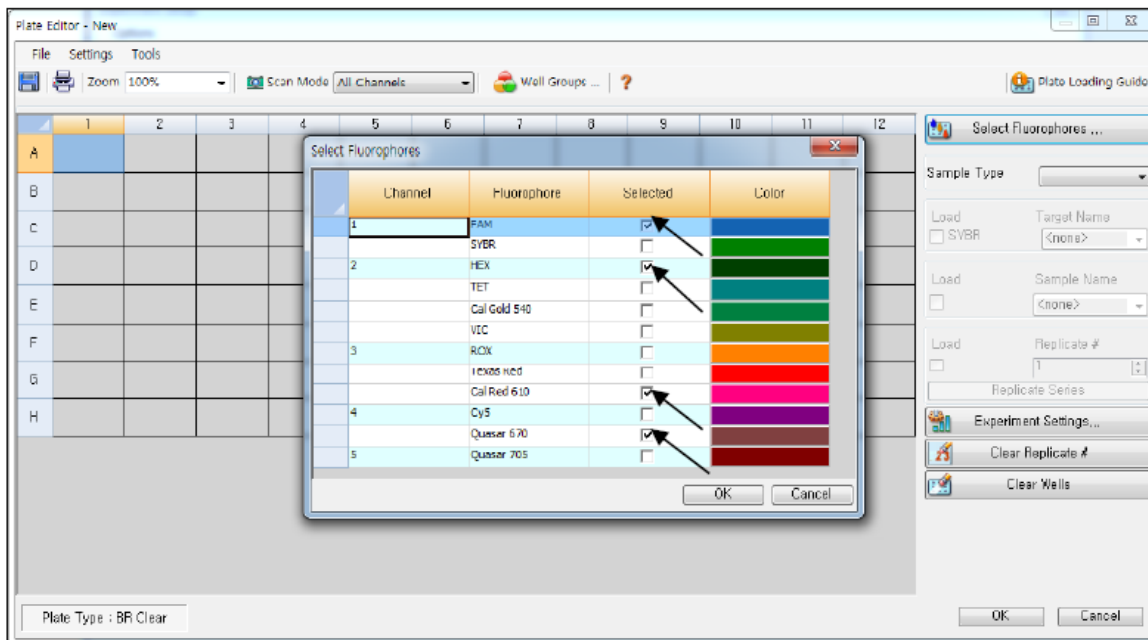
## B. Nastavení plate

1) Na záložce **Plate** v okně **Experiment Setup** klikněte na tlačítko **Create New**, tím otevřete okno **Plate Editor**



Obr. 4. Plate Editor. Zadejte parametry nového plata

2) Kliknutím na tlačítko **Select Fluorophores (Vybrat fluorofory)** označte fluorofory (**FAM, HEX, Cal Red 610 a Quasar 670**), které budou při měření použity, a klikněte na tlačítko **OK**.



**Obr. 5. Vybrané fluorofory (FAM, HEX, Cal Red 610 a Quasar 670)**

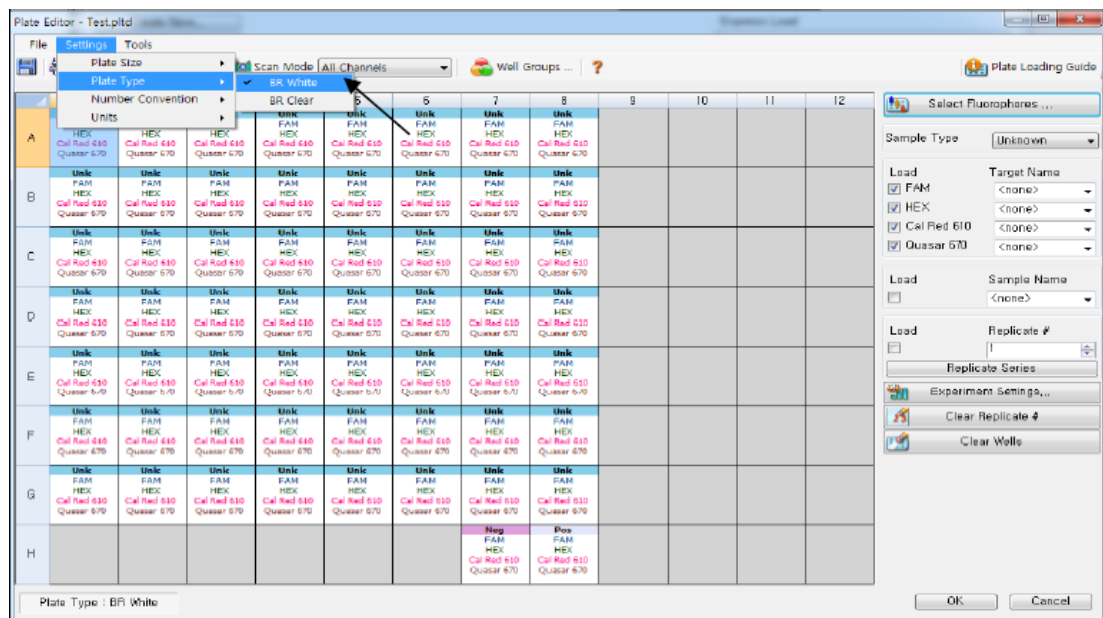
3) Vyberte jamky, které mají být změřeny, v roletovém menu **Sample Type** vyberte typ vzorku v dané jamce.

- **Unknown:** klinické vzorky
- **Negative Control:** negativní kontrola
- **Positive Control:** pozitivní kontrola

4) Kliknutím na příslušná zaškrťovací políčka (**FAM, HEX, Cal Red 610 a Quasar 670**), tak pro vybrané jamky provedete výběr měřících kanálů

5) Zadejte **Sample name (název vzorku)** a stiskněte klávesu enter.

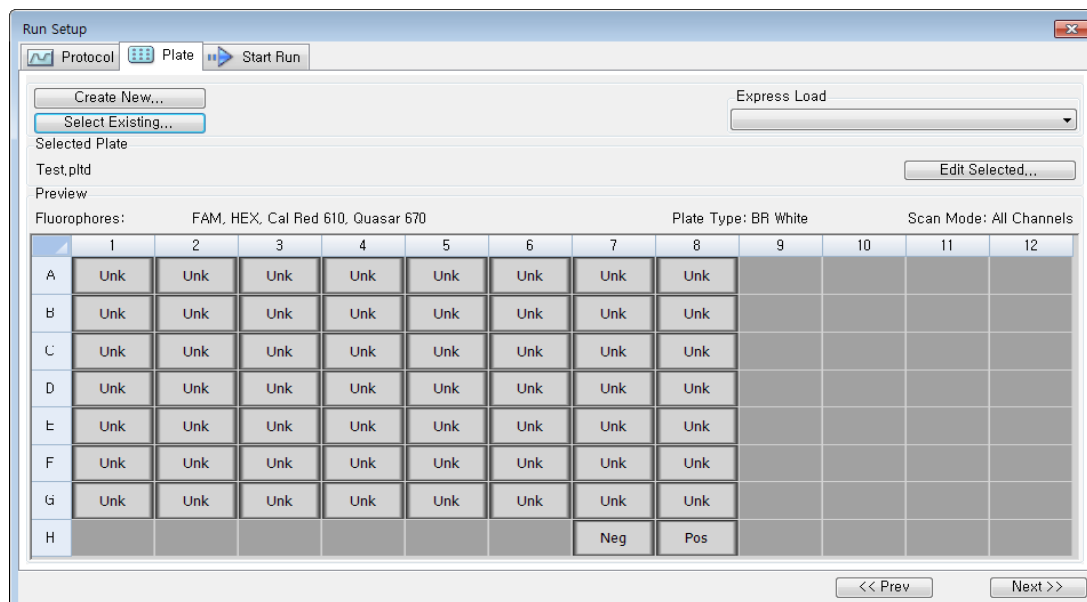
6) Ve volbě **Settings** hlavního menu **Plate Editoru** zvolte **Plate Size (96 wells)** a **Plate Type(BR White)**.



Obr. 6. Nastavení plata

7) Kliknutím na tlačítko **OK** novou desku uložte.

8) Vraťte se do okna **Experiment Setup (Nastavení experimentu)**.

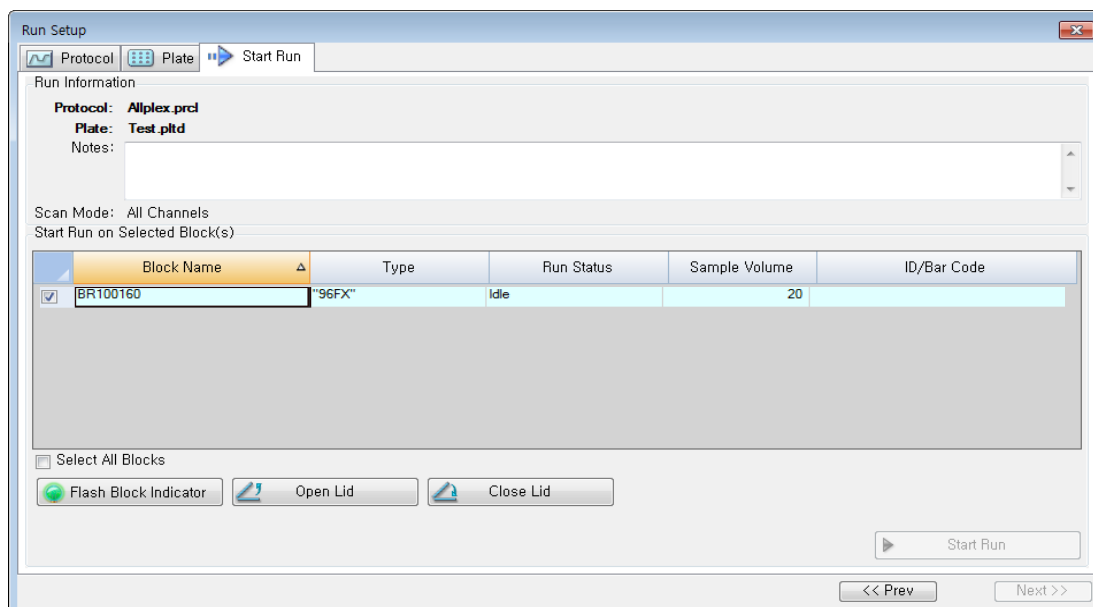


Obr. 7. Run Setup: Plate.

9) Kliknutím na tlačítko **Next (Další)** spusťte run.

## C. Start Run

- 1) Na záložce **Start Run (Spustit run)** v okně **Experiment Setup (Nastavení experiment)** klikněte na **Close Lid (Zavřít víko)**. Tak dojde k zavření víka přístroje.



Obr. 8. Zavření víka.

- 2) Klikněte na tlačítko **Start Run (Spustit)**.
- 3) Soubor měření uložte buď ve složce My Documents (Moje dokumenty), nebo v jiné, k tomu určené složce. Zadejte jméno souboru, klikněte na tlačítko **SAVE (ULOŽIT)**, tím dojde ke spuštění runu.

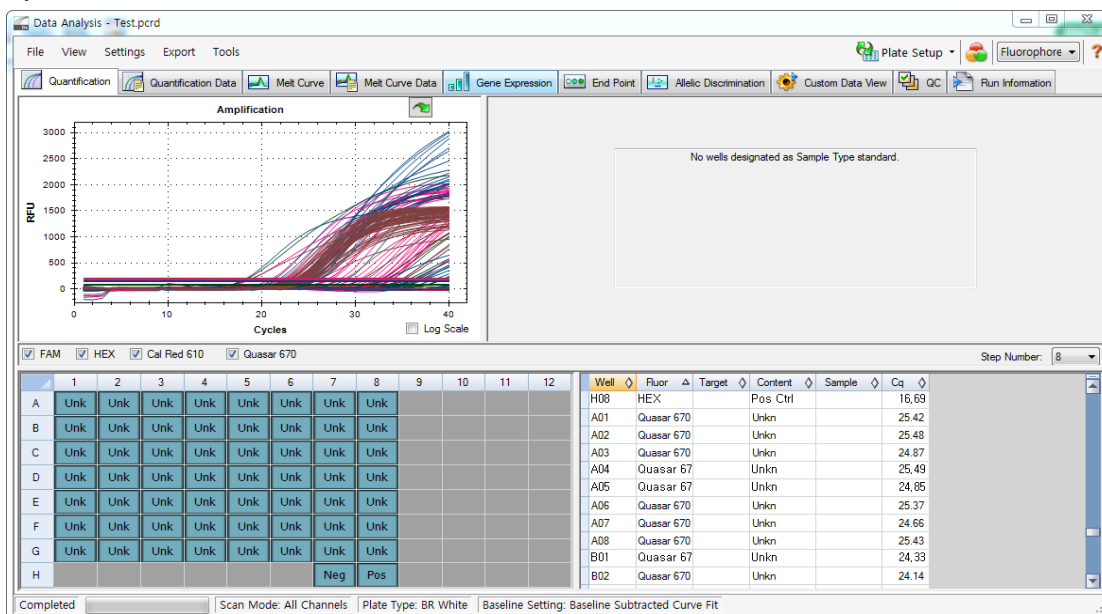
## 2.2. Analýza dat

### A. Vytvoření složek pro export dat

- 1) Chcete-li uložit data pro všechny kroky detekce amplifikační křivky ze souboru s výsledky, vytvořte jednu složku.
- 2) Název složky může být podle přání uživatele (pro funkci "Seegene Export" se automaticky vytvoří složky "QuantStep8" a "QuantStep9", do kterých se uloží data každé amplifikační křivky ve složce vytvořené uživatelem).

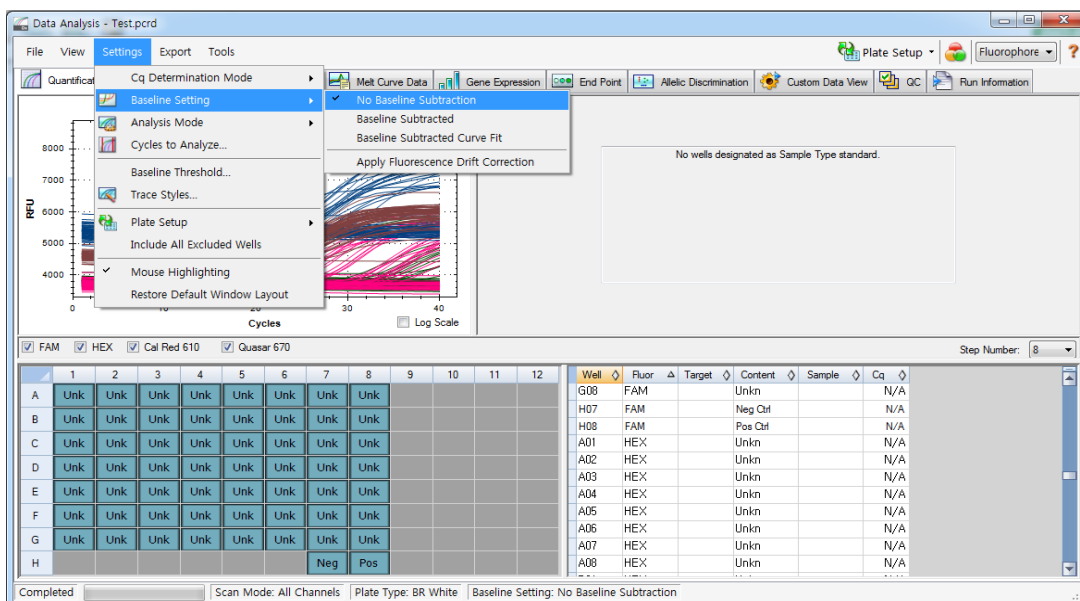
## B. Přednastavení pro analýzu dat v programu CFX Manager™

1) Po testu klikněte na záložku Quantification (Kvantifikace). Tak potvrdíte výsledky amplifikační křivky.



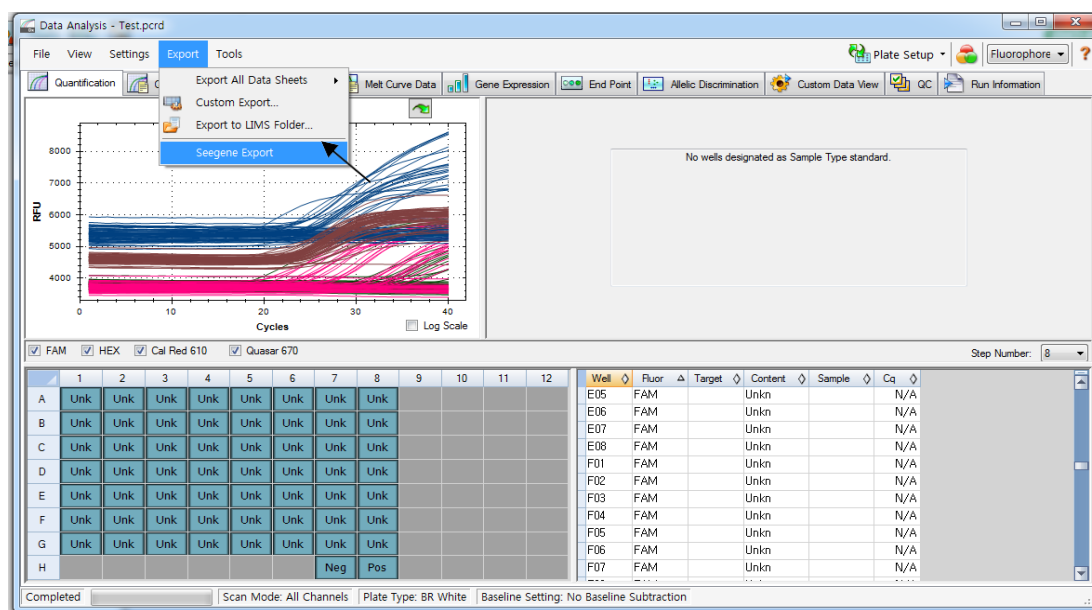
Obr. 9. Výsledky amplifikační křivky

2) V nabídce **Baseline Setting** vyberte možnost **No Baseline Subtraction**.



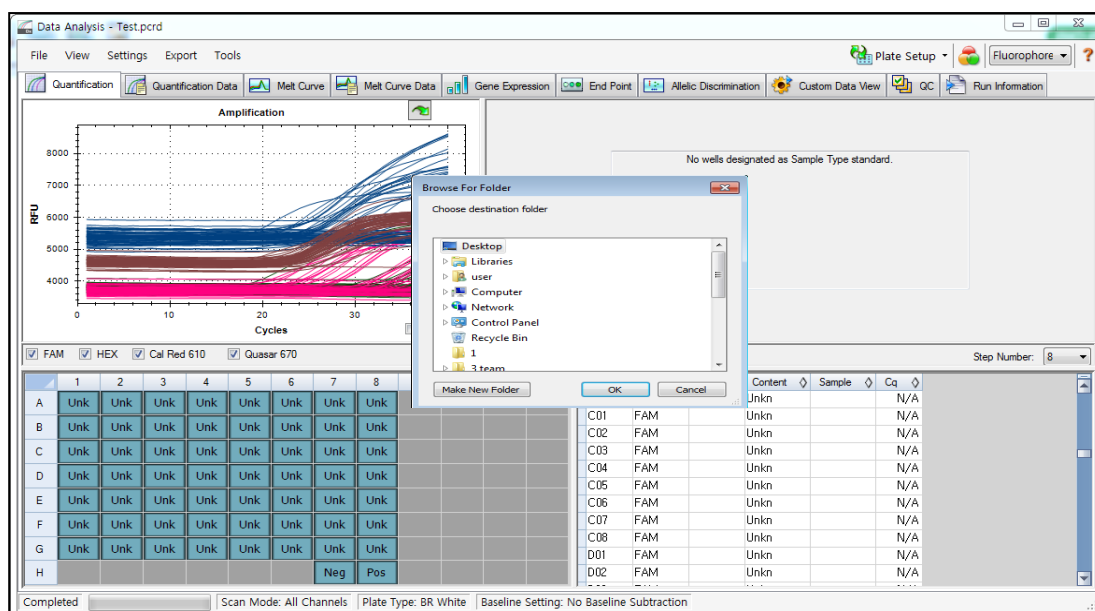
Obr. 10. No Baseline Subtraction

3) V nabídce **Export** vyberte možnost **Seegene Export**.



Obr. 11. Seegene Export

4) Vyberte umístění pro uložení dat a klikněte na tlačítko **OK**.

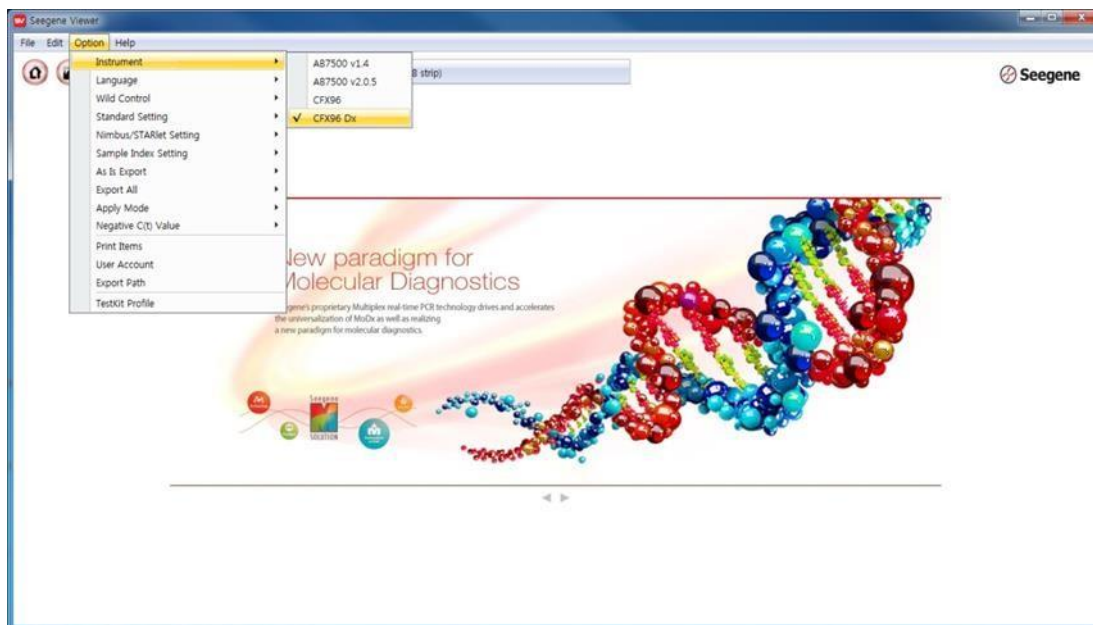


Obr. 12. Seegene Export - export dat do určené složky



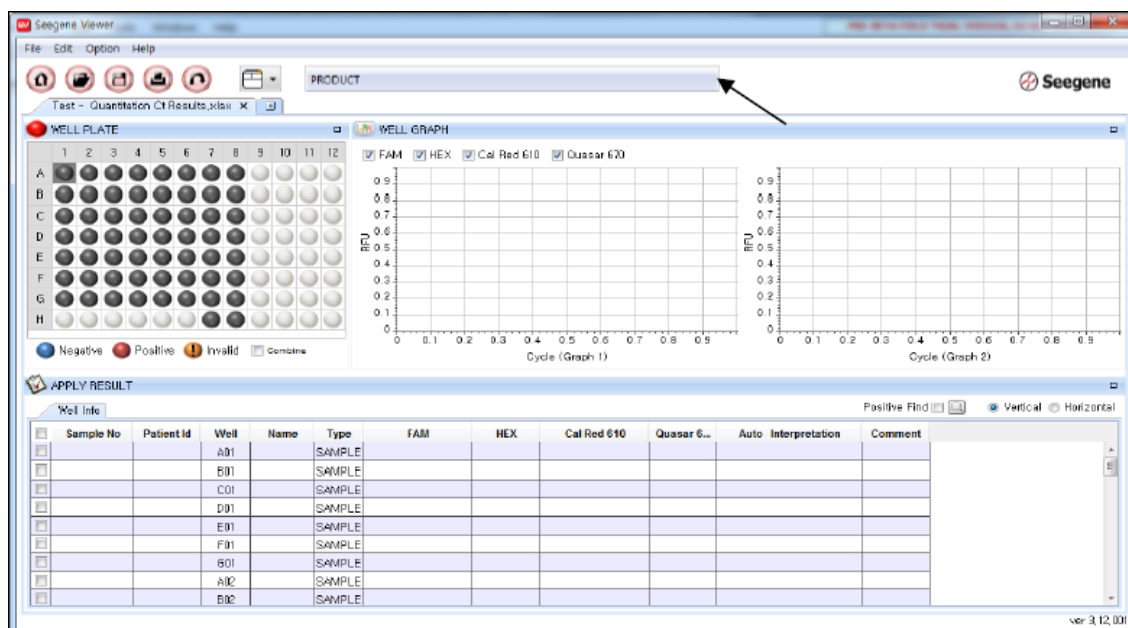
### C. Nastavení pro analýzu dat v Seegene Viewer

1) Otevřete program Seegene Viewer a kliknutím na **Option**. Zde zvolte z nabídky **Instrument** možnost **CFX96 Dx**.



Obr. 13. Seegene Viewer

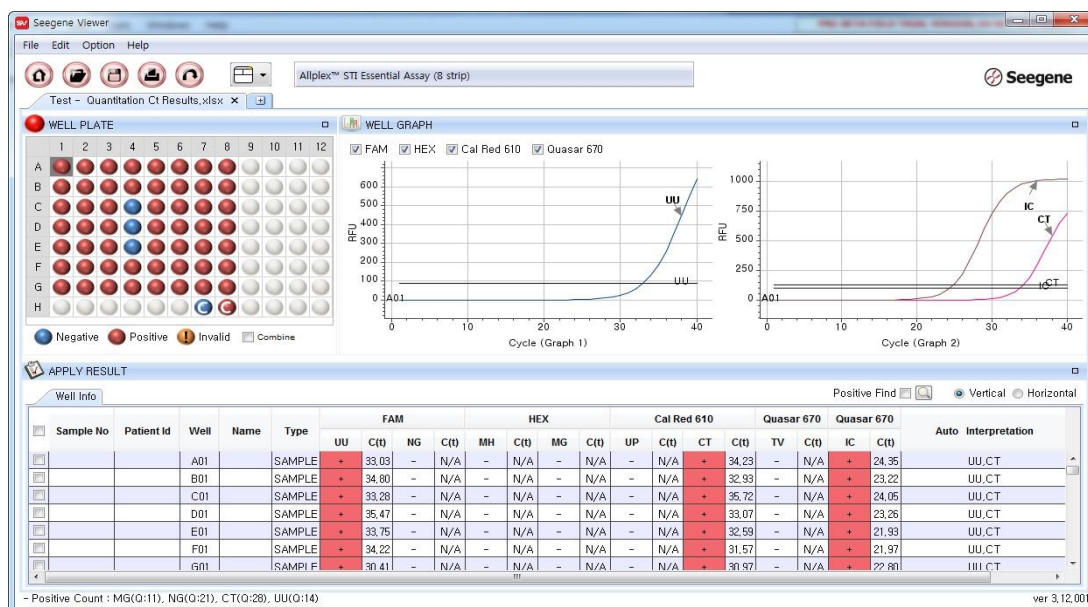
2) Kliknutím na tlačítko **Open (Otevřít)** vyhledejte uložený soubor ve složce "QuantStep8". Otevřete soubor s výsledky a z nabídky **PRODUCT** vyberte testovací sadu.



Obr. 14. Nastavení pro analýzu dat v Seegene Viewer

**Poznámka:** Při výběru testovací sady ověřte typ zkumavky (8 proužků / 96 víček / 96 fólií).

### 3) Zkontrolujte výsledky všech jamek.



Obr. 15. Výsledek testu v Seegene Viewer

### 4) Kritéria platnosti výsledků kontrol

#### a. Platný průběh testu

Pro potvrzení platnosti experimentů musí být PCR testy doplněny o PC (pozitivní kontrolu) a NC (negativní kontrolu). Průběh testu je označen za platný, pokud jsou splněna všechna následující kritéria:

| Control          | Seegene Viewer Result |      |          |      |                  |      |                |      |                     |
|------------------|-----------------------|------|----------|------|------------------|------|----------------|------|---------------------|
|                  | FAM (Ct)              |      | HEX (Ct) |      | Cal Red 610 (Ct) |      | Quasar670 (Ct) |      | Auto Interpretation |
|                  | UU                    | NG   | MH       | MG   | UP               | CT   | TV             | IC   |                     |
| Positive Control | ≤ 40                  | ≤ 40 | ≤ 40     | ≤ 40 | ≤ 40             | ≤ 40 | ≤ 40           | ≤ 40 | Positive Control(+) |
| Negative Control | N/A                   | N/A  | N/A      | N/A  | N/A              | N/A  | N/A            | N/A  | Negative Control(-) |

#### b. Neplatný průběh testu

V případě selhání platnosti nesmí být výsledky vzorku interpretovány ani uváděny a test musí být opakován.

## VÝSLEDKY

### 1. Informace o analytu

| Fluorofor   | Analyt                                |                                      |
|-------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
|             | Graf 1                                | Graf 2                               |
| FAM         | <i>Ureaplasma urealyticum</i><br>(UU) | <i>Neisseria gonorrhoeae</i><br>(NG) |
| HEX         | <i>Mycoplasma hominis</i><br>(MH)     | <i>Mycoplasma genitalium</i><br>(MG) |
| Cal Red 610 | <i>Ureaplasma parvum</i><br>(UP)      | <i>Chlamydia trachomatis</i><br>(CT) |
| Quasar 670  | <i>Trichomonas vaginalis</i><br>(TV)  | Interní kontrola<br>(IC)             |

### 2. Interpretace výsledků

| Analyt | Hodnota Ct | Výsledek            |
|--------|------------|---------------------|
| Cíle   | ≤ 40       | detekováno (+)      |
|        | N/A        | nedetekováno<br>(-) |
| IC     | ≤ 40       | detekováno (+)      |
|        | N/A        | nedetekováno<br>(-) |

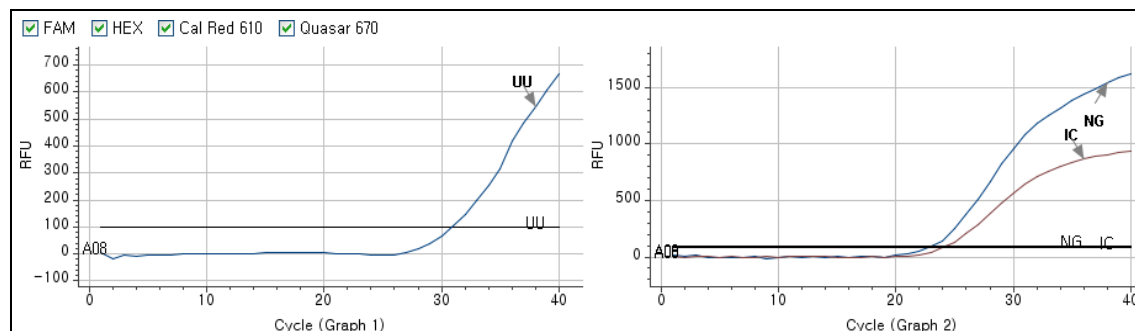
| Výsledek cíle |        | Výsledek IC | Interpretace                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|---------------|--------|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Graf 1        | Graf 2 |             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| +             | -      | +           | Cílová nukleová kyselina detekována                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| -             | +      |             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| +             | +      |             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| +             | -      | -           | Cílová nukleová kyselina detekována *<br>- Mohou být přítomny další cíle STI, které nebyly zjištěny.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| -             | +      |             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| +             | +      |             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| -             | -      | +           | Cíl Cílová nukleová kyselina nedetekována                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| -             | -      | -           | <b>Neplatný výsledek**</b><br>Slabý nebo negativní signál IC ukazuje na nevyhovující odběr či zpracování vzorku, nebo na přítomnost inhibitorů. Použijte jinou alikvótní část původního odebraného vzorku a test opakujte od kroku izolace nukleové kyseliny.<br>Pokud je po opakované izolaci nukleové kyseliny dosaženo stejného výsledku, naředěte vzorek ve fyziologickém roztoku (1/3~1/10) a test opakujte od kroku izolace nukleové kyseliny. |

\* U pozitivních výsledků cílových patogenů není požadována detekce interní kontroly na kanálu Quasar 670. Vysoké titry jiných analytů mohou zapříčinit snížení nebo absenci signálu interní kontroly.

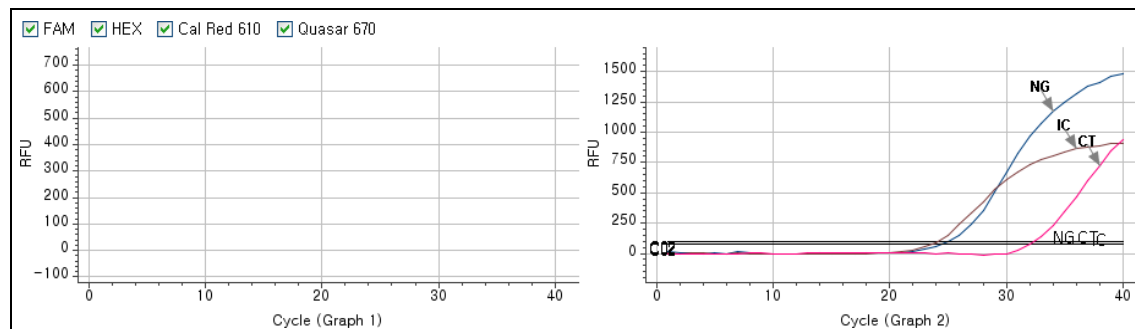
\*\*Pokud není pozorován žádný signál, včetně signálu interní kontroly, vyhledejte informace v části ŘEŠENÍ PROBLÉMŮ.

### 3. Testování klinických vzorků

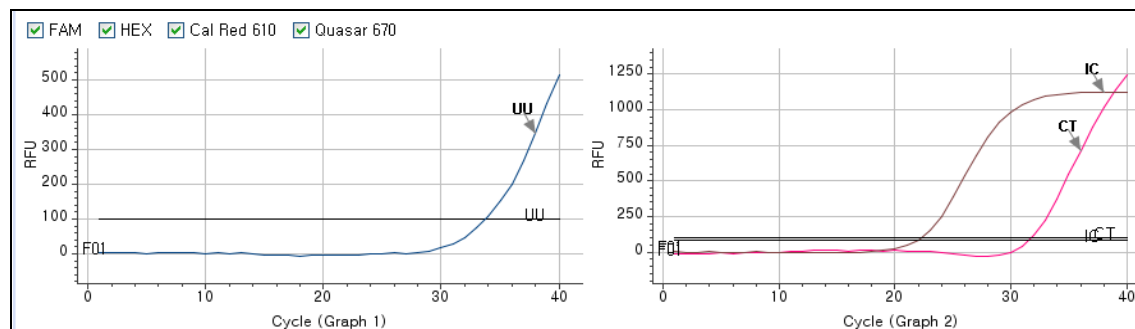
#### Vzorek 1



#### Vzorek 2



#### Vzorek 3



| Vzorek | FAM |       |    |       | HEX |        |    |     | Cal Red 610 |     |    |       | Quasar 670 |     | Quasar 670 |       | Auto Výklad |
|--------|-----|-------|----|-------|-----|--------|----|-----|-------------|-----|----|-------|------------|-----|------------|-------|-------------|
|        | UU  | Ct    | NG | Ct    | MH  | Ct     | MG | Ct  | UP          | Ct  | CT | Ct    | TV         | Ct  | IC         | Ct    |             |
| 1      | +   | 30.96 | +  | 23.19 | -   | N/A    | -  | N/A | -           | N/A | -  | N/A   | -          | N/A | +          | 23.97 | UU,NG       |
| 2      | -   | N/A   | +  | 25.09 | -   | N/A SE | -  | N/A | -           | N/A | +  | 32.42 | -          | N/A | +          | 23.76 | NG,CT       |
| 3      | +   | 33.76 | -  | N/A   | -   | N/A    | -  | N/A | -           | N/A | +  | 31.80 | -          | N/A | +          | 21.82 | UU,CT       |

**ŘEŠENÍ PROBLÉMŮ**

| <b>Allplex™ STI Essential Assay</b>         |                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|---------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>POZOROVÁNÍ</b>                           | <b>PRAVDĚPODOBNÉ PŘÍČINY</b>                                             | <b>ŘEŠENÍ</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Není pozorován žádný signál</b>          | Fluorofory pro analýzu dat nejsou ve shodě s protokolem                  | Vyberte správné fluorofory pro analýzu dat.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|                                             | Nesprávné nastavení real-time cykleru                                    | Zkontrolujte podmínky tepelného cyklování a zopakujte test při správném nastavení.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|                                             | Nevhodné skladování soupravy nebo použití soupravy po uplynutí její doby | Zkontrolujte podmínky skladování (viz str. 11) a datum expirace (viz štítek soupravy). V případě potřeby použijte novou soupravu                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|                                             | Chyba při izolaci nukleové kyseliny                                      | Byla-li ke vzorku přidána IC před izolací, může nepřítomnost signálu IC ukazovat na ztrátu nukleové kyseliny v průběhu izolace. Ujistěte se, že byla použita doporučená metoda izolace.<br>V případě přítomnosti inhibitorů znovu proveďte izolaci z původního vzorku nebo vzorek naředěte fyziologickým roztokem (1/3 ~ 1/10x) a k naředěnému vzorku přidejte ASTI IC. ASTI IC by měla být použita pouze u vzorků moči.. |
| <b>Žádný interní kontrolní signál</b>       | Vysoká koncentrace nukleové kyseliny patogenu                            | Je-li pozorován signál odpovídající cílovému patogenu a současně není pozorován signál interní kontroly, mohla být amplifikace interní kontroly inhibována vysokými titry cílového patogenu.                                                                                                                                                                                                                              |
|                                             | Přítomnost inhibitoru PCR reakce                                         | Naředěte templát nukleové kyseliny (1/10~1/100) v RNase-free Water a test opakujte s naředěnou nukleovou kyselinou. Je-li stále k dispozici původní vzorek, naředěte vzorek (1/10~1/100) ve fyziologickém roztoku a test opakujte s naředěným vzorkem.                                                                                                                                                                    |
| <b>Výkyvy v cyklech amplifikační křivky</b> | Bublina ve zkumavce PCR                                                  | Zkumavku s PCR před spuštěním odstředte.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |

| Allplex™ STI Essential Assay                                          |                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| POZOROVÁNÍ                                                            | MOŽNÉ PŘÍČINY                                         | ŘEŠENÍ                                                                                                                                                                                                                                                |
| Možný falešně pozitivní signál nebo signály cíle u negativní kontroly | Kontaminace                                           | Dekontaminujte všechny povrchy a nástroje chlornanem sodným a etanolem. Po celou dobu postupu používejte pouze filtrační špičky a mezi jednotlivými zkumavkami je vyměňujte. Opakujte celý postup od nukleové kyseliny izolace s novou sadou činidel. |
|                                                                       |                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Možný falešně negativní signál nebo žádný signál u pozitivní kontroly | Chyba při odběru vzorku                               | Zkontrolujte prosím způsob odběru vzorku a znovu odeberte vzorek.                                                                                                                                                                                     |
|                                                                       | Nesprávné skladování vzorku                           | Znovu odeberte vzorek a celý postup zopakujte. Zajistěte, aby byl vzorek skladován podle doporučení.                                                                                                                                                  |
|                                                                       | Chyba při izolaci nukleové kyseliny                   | Zkontrolujte postup izolace nukleové kyseliny, koncentraci nukleové kyseliny, znovu proveďte izolaci nukleové kyseliny.                                                                                                                               |
|                                                                       | Chyba při přidávání nukleové kyseliny do PCR zkumavek | Zkontrolujte čísla vzorků ve zkumavkách obsahujících nukleovou kyselinu a ujistěte se, že jste přidali nukleovou kyselinu do správných zkumavek PCR, a v případě potřeby test opatrně zopakujte.                                                      |
|                                                                       | Přítomnost inhibitoru                                 | Naředte templát nukleové kyseliny (1/10 ~ 1/100) v RNase-free Water a test opakujte s naředěnou nukleovou kyselinou. Pokud je vzorek stále k dispozici, naředte vzorek (1/10~1/100) ve fyziologickém roztoku a test opakujte s naředěným vzorkem.     |
|                                                                       | Nesprávná směs PCR                                    | Přesvědčte se, že do směsi pro PCR reakce jsou přidány všechny potřebné komponenty (v případě použití předpřipravených směsí může být citlivost nižší). Všechny reagenty musí být před použitím homogenizovány a stočeny..                            |

## ÚČINNOST

### 1. Specifická

Vysoká specifická soupravy Allplex™ STI Essential Assay je zajištěna oligy navrženými speciálně pro cílové objekty a nastavenými reakčními podmínkami. Test Allplex™ STI Essential Assay byl testován na zkříženou reaktivitu vůči 143 různým patogenům a amplifikace a detekce PCR byla zjištěna pouze u specifikovaných cílů.

| Č. | Organismus                                 | Zdroj: | Izolát č. | Výsledek      |
|----|--------------------------------------------|--------|-----------|---------------|
| 1  | <i>Chlamydia trachomatis</i>               | ZMC    | 0804390   | CT detekováno |
| 2  | <i>Chlamydia trachomatis</i> (LGV I)       | ATCC   | VR-901BD  | CT detekováno |
| 3  | <i>Chlamydia trachomatis</i> (LGV II)      | ATCC   | VR-902BD  | CT detekováno |
| 4  | <i>Chlamydia trachomatis</i> (LGV III)     | ATCC   | VR-903D   | CT detekováno |
| 5  | <i>Chlamydia trachomatis</i> (sérovary A)  | ATCC   | VR-571B   | CT detekováno |
| 6  | <i>Chlamydia trachomatis</i> (sérovary B)  | ATCC   | VR-573    | CT detekováno |
| 7  | <i>Chlamydia trachomatis</i> (sérovary Ba) | ATCC   | VR-347    | CT detekováno |
| 8  | <i>Chlamydia trachomatis</i> (sérovary C)  | ATCC   | VR-1477   | CT detekováno |
| 9  | <i>Chlamydia trachomatis</i> (sérovary D)  | ATCC   | VR-885    | CT detekováno |
| 10 | <i>Chlamydia trachomatis</i> (sérovary E)  | ATCC   | VR-348B   | CT detekováno |
| 11 | <i>Chlamydia trachomatis</i> (sérovary F)  | ATCC   | VR-346    | CT detekováno |
| 12 | <i>Chlamydia trachomatis</i> (sérovary G)  | ATCC   | VR-878    | CT detekováno |
| 13 | <i>Chlamydia trachomatis</i> (sérovary H)  | ATCC   | VR-879    | CT detekováno |
| 14 | <i>Chlamydia trachomatis</i> (sérovary I)  | ATCC   | VR-880    | CT detekováno |
| 15 | <i>Chlamydia trachomatis</i> (sérovary J)  | ATCC   | VR-886    | CT detekováno |
| 16 | <i>Chlamydia trachomatis</i> (sérovary K)  | ATCC   | VR-887    | CT detekováno |
| 17 | <i>Mycoplasma genitalium</i>               | ATCC   | 49895     | MG detekováno |
| 18 | <i>Mycoplasma hominis</i>                  | ZMC    | 0804011   | MH detekováno |
| 19 | <i>Neisseria gonorrhoeae</i>               | ZMC    | 0801482   | NG detekováno |



|    |                              |      |         |                  |
|----|------------------------------|------|---------|------------------|
| 20 | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | ATCC | 700825  | NG<br>detekováno |
| 21 | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | NCTC | 13798   | NG<br>detekováno |
| 22 | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | NCTC | 13800   | NG<br>detekováno |
| 23 | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | NCTC | 13817   | NG<br>detekováno |
| 24 | <i>Trichomonas vaginalis</i> | ZMC  | 0801805 | TV<br>detekováno |

05/2022 V3.02

|    |                                              |         |         |                  |
|----|----------------------------------------------|---------|---------|------------------|
| 51 | <i>Candida tropicalis</i>                    | ATCC    | 750     | Nedetekován<br>o |
| 52 | <i>Chlamydophila pneumoniae</i>              | ATCC    | VR-1310 | Nedetekován<br>o |
| 53 | <i>Chlamydophila psittaci</i>                | Vircell | MBC013  | Nedetekován<br>o |
| 54 | <i>Clostridium difficile</i> (Toxin A+ / B+) | NCTC    | 11209   | Nedetekován<br>o |
| 55 | <i>Clostridium perfringens</i>               | KCTC    | 3269    | Nedetekován<br>o |
| 56 | <i>Corynebacterium diphtheriae</i>           | KCTC    | 3075    | Nedetekován<br>o |
| 57 | <i>Cytomegalovirus</i> (CMV)                 | NIBSC   | 09/162  | Nedetekován<br>o |
| 58 | <i>Enterococcus avium</i>                    | ATCC    | 14025   | Nedetekován<br>o |

|    |                                                            |      |           |                  |
|----|------------------------------------------------------------|------|-----------|------------------|
| 59 | Enterovirus 70                                             | ATCC | VR-836    | Nedetekován<br>o |
| 60 | Virus Epsteina Barra                                       | ATCC | VR-1492   | Nedetekován<br>o |
| 61 | <i>Escherichia coli</i>                                    | ATCC | 25922     | Nedetekován<br>o |
| 62 | <i>Fusobacterium necrophorum</i>                           | KCOM | 1657      | Nedetekován<br>o |
| 63 | <i>Gardnerella vaginalis</i>                               | KCTC | 5097      | Nedetekován<br>o |
| 64 | <i>Haemophilus ducreyi</i>                                 | ATCC | 700724D-5 | Nedetekován<br>o |
| 65 | <i>Haemophilus influenzae</i>                              | KCCM | 42099     | Nedetekován<br>o |
| 66 | <i>Helicobacter pylori</i>                                 | ZMC  | 0804383   | Nedetekován<br>o |
| 67 | Virus hepatitidy A (HAV)                                   | ATCC | VR-1541   | Nedetekován<br>o |
| 68 | Virus hepatitidy B (HBV)                                   | ATCC | VR-3232SD | Nedetekován<br>o |
| 69 | Virus hepatitidy C (HCV)                                   | ATCC | VR-3233SD | Nedetekován<br>o |
| 70 | Lidský herpesvirus 1                                       | ATCC | VR-260    | Nedetekován<br>o |
| 71 | Lidský herpesvirus 2                                       | ATCC | VR-734    | Nedetekován<br>o |
| 72 | Lidský herpesvirus 3                                       | ATCC | VR-1367   | Nedetekován<br>o |
| 73 | Lidský papiloma virus 16                                   | KCLB | 30035     | Nedetekován<br>o |
| 74 | Lidský papiloma virus 16                                   | KCLB | 21550     | Nedetekován<br>o |
| 75 | Lidský papiloma virus 18                                   | KCLB | 10002     | Nedetekován<br>o |
| 76 | <i>Lactobacillus acidophilus</i>                           | KCTC | 3140      | Nedetekován<br>o |
| 77 | <i>Lactobacillus amylovorus</i>                            | KCTC | 3179      | Nedetekován<br>o |
| 78 | <i>Lactobacillus brevis</i>                                | KCTC | 3498      | Nedetekován<br>o |
| 79 | <i>Lactobacillus casei</i>                                 | KCTC | 3260      | Nedetekován<br>o |
| 80 | <i>Lactobacillus crispatus</i>                             | KCTC | 5054      | Nedetekován<br>o |
| 81 | <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Delbrueckii</i> | KCTC | 13730     | Nedetekován<br>o |
| 82 | <i>Lactobacillus fermentum</i>                             | KCTC | 3112      | Nedetekován<br>o |
| 83 | <i>Lactobacillus gallinarum</i>                            | KCTC | 5048      | Nedetekován<br>o |
| 84 | <i>Lactobacillus gasseri</i>                               | KCTC | 3163      | Nedetekován<br>o |

|    |                                      |       |       |                  |
|----|--------------------------------------|-------|-------|------------------|
| 85 | <i>Lactobacillus helveticus</i>      | KCTC  | 15060 | Nedetekován<br>o |
| 86 | <i>Lactobacillus iners</i>           | CCARM | 123   | Nedetekován<br>o |
| 87 | <i>Lactobacillus intestinalis</i>    | KCTC  | 5052  | Nedetekován<br>o |
| 88 | <i>Lactobacillus jensenii</i>        | KCTC  | 5194  | Nedetekován<br>o |
| 89 | <i>Lactobacillus johnsonii</i>       | KCTC  | 3801  | Nedetekován<br>o |
| 90 | <i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> | KCTC  | 5075  | Nedetekován<br>o |
| 91 | <i>Lactobacillus oris</i>            | KCCM  | 40993 | Nedetekován<br>o |
| 92 | <i>Lactobacillus parabuchneri</i>    | KCTC  | 3503  | Nedetekován<br>o |

|     |                                                          |       |         |                  |
|-----|----------------------------------------------------------|-------|---------|------------------|
| 93  | <i>Lactobacillus pentosus</i>                            | KCTC  | 3120    | Nedetekován<br>o |
| 94  | <i>Lactobacillus plantarum</i>                           | ATCC  | 700934  | Nedetekován<br>o |
| 95  | <i>Lactobacillus reuteri</i>                             | KCTC  | 3679    | Nedetekován<br>o |
| 96  | <i>Lactobacillus rhamnosus</i>                           | KCCM  | 32405   | Nedetekován<br>o |
| 97  | <i>Lactobacillus salivarius</i> subsp. <i>salicinius</i> | KCTC  | 3600    | Nedetekován<br>o |
| 98  | <i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>                    | KACC  | 12431   | Nedetekován<br>o |
| 99  | <i>Lactobacillus ultunensis</i>                          | KCTC  | 5857    | Nedetekován<br>o |
| 100 | <i>Lactobacillus vaginalis</i>                           | KCTC  | 3515    | Nedetekován<br>o |
| 101 | <i>Mobiluncus curtisii</i>                               | ATCC  | 35241   | Nedetekován<br>o |
| 102 | <i>Mobiluncus mulieris</i>                               | ATCC  | 35243   | Nedetekován<br>o |
| 103 | <i>Moraxella catarrhalis</i>                             | KCCM  | 42706   | Nedetekován<br>o |
| 104 | <i>Mycoplasma arginini</i>                               | ATCC  | 23838   | Nedetekován<br>o |
| 105 | <i>Mycoplasma felis</i> Cole et al.                      | ATCC  | 23391   | Nedetekován<br>o |
| 106 | <i>Mycoplasma iowae</i> Jordan et al.                    | ATCC  | 33552   | Nedetekován<br>o |
| 107 | <i>Mycoplasma leonicaptivi</i> Hill                      | ATCC  | 49890   | Nedetekován<br>o |
| 108 | <i>Mycoplasma pneumoniae</i>                             | ATCC  | 15531   | Nedetekován<br>o |
| 109 | <i>Mycoplasma pulmonis</i>                               | ATCC  | 19612   | Nedetekován<br>o |
| 110 | <i>Mycoplasma spumans</i>                                | ATCC  | 19526   | Nedetekován<br>o |
| 111 | <i>Neisseria cinerea</i>                                 | ATCC  | 14685   | Nedetekován<br>o |
| 112 | <i>Neisseria elongata</i>                                | ZMC   | 801510  | Nedetekován<br>o |
| 113 | <i>Neisseria flavescens</i>                              | CCARM | 9264    | Nedetekován<br>o |
| 114 | <i>Neisseria flavescens</i>                              | ATCC  | 13120   | Nedetekován<br>o |
| 115 | <i>Neisseria lactamica</i>                               | ATCC  | 23970   | Nedetekován<br>o |
| 116 | <i>Neisseria lactamica</i>                               | ZMC   | 801752  | Nedetekován<br>o |
| 117 | <i>Neisseria meningitidis</i>                            | ATCC  | 700532D | Nedetekován<br>o |
| 118 | <i>Neisseria meningitidis</i>                            | KCCM  | 41562   | Nedetekován<br>o |

|     |                                |      |          |                  |
|-----|--------------------------------|------|----------|------------------|
| 119 | <i>Neisseria mucosa</i>        | ATCC | 19696    | Nedetekován<br>o |
| 120 | <i>Neisseria mucosa</i>        | KCCM | 11703    | Nedetekován<br>o |
| 121 | <i>Neisseria perflava</i>      | ATCC | 14799D-5 | Nedetekován<br>o |
| 122 | <i>Neisseria polysaccharea</i> | ZMC  | 804030   | Nedetekován<br>o |
| 123 | <i>Neisseria sicca</i>         | ATCC | 29256    | Nedetekován<br>o |
| 124 | <i>Neisseria sicca</i>         | ZMC  | 801754   | Nedetekován<br>o |
| 125 | <i>Neisseria subflava</i>      | ATCC | 49275    | Nedetekován<br>o |
| 126 | <i>Neisseria subflava</i>      | ZMC  | 804298   | Nedetekován<br>o |

|     |                                  |       |            |                  |
|-----|----------------------------------|-------|------------|------------------|
| 127 | Norovirus GII 17                 | ATCC  | VR-3200SD  | Nedetekován<br>o |
| 128 | <i>Peptostreptococcus micros</i> | KCTC  | 15021      | Nedetekován<br>o |
| 129 | <i>Prevotella bivia</i>          | KCTC  | 5454       | Nedetekován<br>o |
| 130 | <i>Prevotella buccalis</i>       | KCTC  | 5496       | Nedetekován<br>o |
| 131 | <i>Prevotella disiens</i>        | KCTC  | 5499       | Nedetekován<br>o |
| 132 | <i>Prevotella intermedia</i>     | KCTC  | 5692       | Nedetekován<br>o |
| 133 | <i>Prevotella melaninogenica</i> | KCTC  | 5457       | Nedetekován<br>o |
| 134 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>    | KCOM  | 1182       | Nedetekován<br>o |
| 135 | <i>Saccharomyces cerevisiae</i>  | KCCM  | 50511      | Nedetekován<br>o |
| 136 | <i>Salmonella enteritidis</i>    | CCARM | 8570       | Nedetekován<br>o |
| 137 | <i>Salmonella typhimurium</i>    | CCARM | 270        | Nedetekován<br>o |
| 138 | <i>Staphylococcus aureus</i>     | KCOM  | 1335       | Nedetekován<br>o |
| 139 | <i>Streptococcus agalactiae</i>  | ATCC  | BAA-611D-5 | Nedetekován<br>o |
| 140 | <i>Streptococcus pneumoniae</i>  | ATCC  | BAA-255D   | Nedetekován<br>o |
| 141 | <i>Treponema pallidum</i>        | ATCC  | BAA-2642SD | Nedetekován<br>o |
| 142 | <i>Trichomonas tenax</i>         | ATCC  | 30207      | Nedetekován<br>o |
| 143 | <i>Vibrio parahaemolyticus</i>   | KCTC  | 2471       | Nedetekován<br>o |

† Platnost výsledku byla potvrzena třikrát opakovaným provedením testu..

※ ATCC: American Type Culture Collection

CCARM: Culture Collection of Antimicrobial Resistant Microbes

KACC: Korean Agricultural Culture Collection

KCCM: Korean Culture Center of Microorganisms

KCLB: Korean Cell Line Bank

KCOM: Korea Collection for Oral Microbiology

KCTC: Korean Collection for Type Culture

NCTC: National Collection of Type Cultures

NIBSC: National Institute for Biological Standards and Control

Vircell: Vircell microbiologists

ZMC: ZeptoMetrix Corporation

ZMC: ZeptoMetrix Corporation



## 2. Citlivost

Citlivost je definována jako nejnižší koncentrace organismu, kterou lze trvale detekovat ( $\geq 95$  % pozitivních výsledků mezi všemi testovanými vzorky).

Ke stanovení citlivosti testu Allplex™ STI Essential Assay byla použita metoda probitové analýzy s pořadovými čísly ředění kvantifikovaných standardních organismů. Dále byla stanovena citlivost testu Allplex™ STI Essential Assay pomocí extrahovaných nukleových kyselin, které byly kvantifikovány jako genomové kopie/reakce. Deklarovaný detekční limit cílů testu Allplex™ STI Essential Assay je uveden v následující tabulce.

| Organismus             | Standardní organismus |                             | Genomová DNA                           |
|------------------------|-----------------------|-----------------------------|----------------------------------------|
|                        | Zdroj:                | Mez detekce                 | Mez detekce<br>(genomové kopie/reakce) |
| Ureaplasma urealyticum | ATCC 33699            | $3,00 \times 10^1$ CCU/ml   | 103                                    |
| Neisseria gonorrhoeae  | ZeptoMetrix 0801482   | $6,36 \times 10^0$ CFU/ml   | 101                                    |
| Mycoplasma hominis     | ZeptoMetrix 0804011   | $2,69 \times 10^3$ CCU/ml   | 102                                    |
| Mycoplasma genitalium  | ATCC 49895            | $2,70 \times 10^2$ CFU/ml   | $5 \times 10^1$                        |
| Ureaplasma parvum      | ATCC 700970           | $2,69 \times 10^2$ CCU/ml   | 105                                    |
| Chlamydia trachomatis  | ZeptoMetrix 0804390   | $6,73 \times 10^0$ IFU/ml   | 101                                    |
| Trichomonas vaginalis  | ZeptoMetrix 0801805   | $4,91 \times 10^1$ buněk/ml | 101                                    |

## 3. Reprodukovatelnost

Byl připraven panel reprodukovatelnosti 21 simulovaných analytů, který zahrnoval vysoce negativní (0,1x LoD), nízké pozitivní (1x LoD) a středně pozitivní (3x LoD) vzorky. Na každém testovacím místě byl panel testován po dobu pěti dnů, dva cykly denně, provedené dvěma různými operátory a trojnásobek každého panelu z jedné izolace. Testovalo se s jednou šarží testu Allplex™ STI Essential Assay na třech různých pracovištích a se třemi šaržemi na jednom interním pracovišti. Pozitivita byla detekována ve všech testech analytů pro studii reprodukovatelnosti, 100,00 % u středně pozitivních vzorků,  $\geq 100,00$  % u nízké pozitivních vzorků a  $\geq 0,00$  % u vysoce negativních vzorků.

Reprodukovatelnost testu Allplex™ STI Essential Assay byla hodnocena mezi jednotlivými pracovišti, šaržemi produktů a experimentátory. Výsledky splňovaly kritéria, čímž se potvrdila reprodukovatelnost testu Allplex™ STI Essential Assay.

## 4. Opakovatelnost

Byl připraven panel opakovatelnosti 21 simulovaných analytů, který zahrnoval vysoce negativní (0,1x LoD), nízké pozitivní (1x LoD) a středně pozitivní (3x LoD) vzorky. Byl testován ve vlastních

laboratořích (Seegene) třikrát po dobu 20 dnů, dva cykly denně (celkem N = 120 testů). Pro každý analyt byla sledována míra pozitivity pro studii opakovatelnosti: 100,00 % u mírně pozitivních vzorků, 100,00 % u nízké pozitivních vzorků a  $\geq 2,50$  % u vysoce negativních vzorků. Výsledky splňovaly kritéria, čímž se potvrdila opakovatelná účinnost systému Allplex™ STI Essential.

Analýza.

## 5. Inhibitory

Tento test byl proveden s použitím interferujících látek složených z 20 látek, aby se potvrdila účinnost testu Allplex™ STI Essential Assay v přítomnosti potenciálních interferujících látek. Přidání těchto látek nemělo na výsledek žádný vliv: nespecifická detekce nebo inhibice amplifikace cíle. Na základě výsledků nemělo 20 interferujících látek žádný vliv na výsledky testu Allplex™ STI Essential Assay.

| Č. | Inhibitory                          | Koncentrace            |
|----|-------------------------------------|------------------------|
| 1  | Metronidazol                        | 701 $\mu\text{mol/l}$  |
| 2  | Amoxicilin                          | 206 $\mu\text{mol/l}$  |
| 3  | Bilirubin                           | 257 $\mu\text{mol/l}$  |
| 4  | Hemoglobin lidský                   | 200 g/l                |
| 5  | Progesteron                         | 20 ng/ml               |
| 6  | Beta estradiol                      | 4,41 nmol/l            |
| 7  | Kyselina acetylsalicylová (aspirin) | 3,62 mmol/l            |
| 8  | Glukóza                             | 12,2 mmol/l            |
| 9  | Albumin z lidského séra             | 52 g/l                 |
| 10 | Mucin                               | 3 mg/ml                |
| 11 | Testosteron                         | 41,6 nmol/l            |
| 12 | Luteinizační hormon (LH)            | 70 IU/L                |
| 13 | Hormon stimulující folikuly (FSH)   | 100 IU/L               |
| 14 | Kortizol                            | 828 nmol/l             |
| 15 | Fruktóza                            | 1000 $\mu\text{mol/l}$ |
| 16 | Čípky/hemeroidní léčba              | 5 % w/v                |
| 17 | Výkaly                              | 1 % w/v                |
| 18 | Přípravek na potlačení kašle        | 5 % v/v                |
| 19 | Zubní pasta                         | 5 % v/v                |
| 20 | Ústní voda                          | 5 % v/v                |

## 6. Klinická studie

Celkem bylo testováno 2020 klinických vzorků pomocí testu Allplex™ STI Essential Assay a referenčního testu.

Shoda mezi testem Allplex™ STI Essential Assay (V3.0) a referenčním testem s odrazem potvrzení sekvenování byla 99,60 %, 99,75 %, 99,55 %, 99,60 %, 99,55 %, 99,85 % a 99,95 % pro detekci UU, NG, MH, MG, UP, CT a TV.

Klinická validita testu Allplex™ STI Essential Assay (V3.0) byla prokázána při diagnostice sedmi analytů STI, protože výsledky splňují kritéria úspěšnosti.

| Analyt                             | PPA<br>(v porovnání s<br>referenčním testem) |        |                | NPA<br>(v porovnání s<br>referenčním testem) |        |                | Dohoda             |       |                |
|------------------------------------|----------------------------------------------|--------|----------------|----------------------------------------------|--------|----------------|--------------------|-------|----------------|
|                                    | TP/<br>(TP+FN)                               | %a)    | 95% CIc)       | TN/<br>(TN+FP)                               | %b)    | 95% CIc)       | (TP+TN)/<br>Celkem | %d)   | 95% CIc)       |
| <i>Ureaplasma urealyticum</i> (UU) | 434/436                                      | 99.54  | 98.35 ~ 99.94  | 1578<br>/1584                                | 99.62  | 99.18 ~ 99.86  | 2012<br>/2020      | 99.60 | 99.22 ~ 99.83  |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (NG)  | 188/189                                      | 99.47  | 97.09 ~ 99.99  | 1827<br>/1831                                | 99.78  | 99.44 ~ 99.94  | 2015<br>/2020      | 99.75 | 99.42 ~ 99.92  |
| <i>Mycoplasma hominis</i> (MH)     | 344/346                                      | 99.42  | 97.93 ~ 99.93  | 1667<br>/1674                                | 99.58  | 99.14 ~ 99.83  | 2011<br>/2020      | 99.55 | 99.16 ~ 99.80  |
| <i>Mycoplasma genitalium</i> (MG)  | 263/263                                      | 100.00 | 98.61 ~ 100.00 | 1749<br>/1757                                | 99.54  | 99.11 ~ 99.80  | 2012<br>/2020      | 99.60 | 99.22 ~ 99.83  |
| <i>Ureaplasma parvum</i> (UP)      | 519/528                                      | 98.30  | 96.79 ~ 99.22  | 1492<br>/1492                                | 100.00 | 99.75 ~ 100.00 | 2011<br>/2020      | 99.55 | 99.16 ~ 99.80  |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> (CT)  | 261/262                                      | 99.62  | 97.89 ~ 99.99  | 1756<br>/1758                                | 99.89  | 99.59 ~ 99.99  | 2017<br>/2020      | 99.85 | 99.57 ~ 99.97  |
| <i>Trichomonas vaginalis</i> (TV)  | 168/169                                      | 99.41  | 96.75 ~ 99.99  | 1851<br>/1851                                | 100.00 | 99.80 ~ 100.00 | 2019<br>/2020      | 99.95 | 99.72 ~ 100.00 |

a) PPA (pozitivní procentuální shoda) (%):  $100 \times TP/(TP+FN)$

b) NPA (záporné procento shody) (%):  $100 \times TN/(FP+TN)$

c) Byly vypočteny oboustranné 95% intervaly spolehlivosti.

d) Shoda (%):  $100 \times (TP+TN)/(TP+TN+FP+FN)$

**LITERATURA**

1. Agata Baczynska. [Development of real-time PCR for detection of *Mycoplasma hominis*.] *BMC Microbiology*. (2004). 4(35): 1471-2180
2. Aguilera-Areola MG, González-Cardel AM, Tenorio AM, Curiel-Quesada E, Castro-Escarpulli G. [Highly specific and efficient primers for in-house multiplex PCR detection of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum*.] *BMC Res Notes*. (2014). Jul 6;7:433
3. Fanrong Kong. [Postgenomic taxonomy of human ureaplasmas – a case study based on multiple gene sequences.] *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. (2004). 54: 1815–1821
4. Helle Friis Svenstrup. [Development of a Quantitative Real-Time PCR Assay for Detection of *Mycoplasma genitalium*.] *JCM*. (2005). 43(7): 3121–3128
5. Jackson CR, Fedorka-Cray PJ, and Barrett JB. [Use of a genus- and species-specific multiplex PCR for identification of enterococci.] *JCM*. (2004) 42(8): 3558–3565
6. Jonathon Keck, James P. Chambers, Thomas Forsthuber, Rishin Gupta, Bernard P. Arulanandam [A modified method for rapid quantification of *Chlamydia muridarum* using Fluorospot] *MethodsX* 6 (2019) 1925-1932
7. J. Y. Chun. [High Multiplex Molecular Diagnostics.] *Seegene Bulletin*. (2012) 1: 1-4.
8. KARINA A. and ORLE. [Simultaneous PCR Detection of *Haemophilus ducreyi*, *Treponema pallidum*, and Herpes Simplex Virus Types 1 and 2 from Genital Ulcers.] *JCM*. (1996). 34(1): 49–54
9. Kathleen A. and Stellrecht. [Comparison of Multiplex PCR Assay with Culture for Detection of Genital Mycoplasmas.] *JCM*. (2004). 42(4): 1528–1533
10. Kim SJ, Lee DS, Lee SJ. [The prevalence and clinical significance of urethritis and cervicitis in asymptomatic people by use of multiplex polymerase chain reaction.] *Korean J Urol*. (2011) 52(10):703-708
11. Lee DH. [TOCE: Innovative Technology for High Multiplex Real-time PCR.] *Seegene Bulletin* (2012) 1: 5-10
12. Lee SJ, Park DC, Lee DS, Choe HS, Cho YH. [Evaluation of Seeplex® STD6 ACE Detection kit for the diagnosis of six bacterial sexually transmitted infection.] *J Infect Chemother*. (2012) 18(4):494-500
13. Madico G, Quinn TC, Rompalo A, McKee KT Jr, and Gaydos CA. [Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* Infection by PCR Using Vaginal Swab Samples.] *JCM*. (1998) 36(11): 3205-3210
14. Magnus Unemo, Ronald Ballard, Catherine Ison, David Lewis, Francis Ndowa, Rosanna Peeling. [Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus] *World Health Organization* 2013.
15. Mata A. I, Gibello A, Casamayor A, Blanco M. M, Domínguez L, and Fernández-Garayzábal J. F. [Multiplex PCR Assay for Detection of Bacterial Pathogens Associated with Warm-Water Streptococcosis in Fish.] *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*. (2004). 70(5): 3183–318
16. Samra Z, Rosenberg S, Madar-Shapiro L. [Direct simultaneous detection of 6 sexually transmitted pathogens from clinical specimens by multiplex polymerase chain reaction and auto-capillary electrophoresis.] *Diagn*

Microbiol Infect Dis.( 2011) 70(1):17-21

17. Wood H., Reischl U., Peeling R.W. [Rapid Detection and Quantification of Chlamydia trachomatis in Clinical Specimens by LightCycler PCR] Rapid Cycle Real-Time PCR — Methods and Applications. Springer, Berlin, Heidelberg (2002) 115-132

**VÝZNAM SYMBOLŮ**

Význam symbolů použitých v Návodu k použití a na štítcích produktu.

| Symbol                                                                              | Význam                                            |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
|    | Prostředek pro zdravotnickou diagnostiku In vitro |
|    | Číslo šarže                                       |
|    | Katalogové číslo                                  |
|    | Datum expirace                                    |
|    | Horní teplotní limit                              |
|    | Směs oligonukleotidů pro amplifikaci a detekci    |
|  | PCR Master Mix nebo Detection Mix                 |
|  | RNase free water                                  |
|  | Pozitivní kontrola (PC)                           |
|  | Interní kontrola (IC)                             |
|  | Viz návod k použití                               |
|  | Výrobce                                           |
|  | Datum výroby                                      |
|  | Autorizovaný zástupce v Evropském společenství    |
|  | Upozornění                                        |
|  | Obsahuje dostatečné množství pro <počet> testů    |
|  | Jedinečný identifikátor zařízení                  |

| Symbol          | Vysvětlení                                             |
|-----------------|--------------------------------------------------------|
| <div>rxns</div> | Reakční čárový kód pro automatizovaný extrakční systém |

**INFORMACE PRO OBJEDNÁNÍ**

| Kat. č.                | Produkt                                        | Velikost   |
|------------------------|------------------------------------------------|------------|
| <b>Allplex™ series</b> |                                                |            |
| SD10245Z               | Allplex™ STI Essential Assay                   | 25 reakcí  |
| SD9801Y                | Allplex™ STI Essential Assay                   | 50 reakcí  |
| SD9801X                | Allplex™ STI Essential Assay                   | 100 reakcí |
| SD10318Z               | Allplex™ STI Essential Assay Q(MH,UU)          | 25 reakcí  |
| SD10201Y               | Allplex™ STI Essential Assay Q(MH,UU)          | 50 reakcí  |
| SD10202X               | Allplex™ STI Essential Assay Q(MH,UU)          | 100 reakcí |
| SD10177Z               | Allplex™ Test na genitální vředy               | 25 reakcí  |
| SD9802Y                | Allplex™ Test na genitální vředy               | 50 reakcí  |
| SD9802X                | Allplex™ Test na genitální vředy               | 100 reakcí |
| SD10178Z               | Test Allplex™ na kandidózu                     | 25 reakcí  |
| SD9803Y                | Test Allplex™ na kandidózu                     | 50 reakcí  |
| SD9803X                | Test Allplex™ na kandidózu                     | 100 reakcí |
| SD9804X                | Test na bakteriální vaginózu Allplex™          | 100 reakcí |
| SD10320Z               | Allplex™ Bakteriální vaginóza plus test        | 25 reakcí  |
| SD10159X               | Allplex™ Bakteriální vaginóza <i>plus</i> test | 100 reakcí |
| SD10317Z               | Test Allplex™ CT/NG/MG/TV                      | 25 reakcí  |
| SD9400Y                | Test Allplex™ CT/NG/MG/TV                      | 50 reakcí  |
| SD9400X                | Test Allplex™ CT/NG/MG/TV                      | 100 reakcí |
| SD10319Z               | Allplex™ MG & AziR Assay                       | 25 reakcí  |
| SD10169Y               | Allplex™ MG & AziR Assay                       | 50 reakcí  |
| SD10170X               | Allplex™ MG & AziR Assay                       | 100 reakcí |
| SD10232Z               | Allplex™ MG & MoxiR Assay                      | 25 reakcí  |
| SD10233Y               | Allplex™ MG & MoxiR Assay                      | 50 reakcí  |
| SD10234X               | Allplex™ MG & MoxiR Assay                      | 100 reakcí |
| SD10368Z               | Test Allplex™ NG & DR                          | 25 reakcí  |
| SD10367X               | Test Allplex™ NG & DR                          | 100 reakcí |



**Anyplex™ series**

|          |                                         |             |
|----------|-----------------------------------------|-------------|
| SD7700Y  | Detekce Anyplex™ II STI-7 (V1.1)        | 50 reakcí   |
| SD7700X  | Detekce Anyplex™ II STI-7 (V1.1)        | 100 reakcí  |
| SD7500Y  | Detekce Anyplex™ II STI-5               | 50 reakcí   |
| SD7500X  | Detekce Anyplex™ II STI-5               | 100 reakcí  |
| SD10323Z | Detekce Anyplex™ II STI-7e              | 25 reakcí   |
| SD7701Y  | Detekce Anyplex™ II STI-7e              | 50 reakcí   |
| SD7701X  | Detekce Anyplex™ II STI-7e              | 100 reakcí  |
| SD7200Y  | Anyplex™ CT/NG Real- time Detekce(V3.1) | 50 reakcí * |

\*

V případě systému SmartCycler® II se celkový počet rxn sníží z 50 na 40 rxn. (50 rxn40 rxn)

**Série Seeplex®**

|         |                                     |           |
|---------|-------------------------------------|-----------|
| HS6200Y | Detekce Seeplex® HSV2 ACE           | 50 reakcí |
| SD6401Y | Seeplex® STD4D ACE Detection (V2.0) | 50 reakcí |
| SD6600Y | Seeplex® STD6 ACE Detection (V2.0)  | 50 reakcí |
| SD6511Y | Seeplex® STI Master Panel 1 (V2.0)  | 50 reakcí |

**Příslušenství**

|        |                                                 |            |
|--------|-------------------------------------------------|------------|
| SG1701 | Ribo_spin vRD (sada pro izolaci virové RNA/DNA) | 50 příprav |
|--------|-------------------------------------------------|------------|

**Automatizované extrakční systémy**

|                |                                              |             |
|----------------|----------------------------------------------|-------------|
| 65415-02       | Microlab NIMBUS IVD                          | EA          |
| 173000-075     | Microlab STARlet IVD                         | EA          |
| 65415-03       | Seegene NIMBUS                               | EA          |
| 67930-03       | Seegene STARlet                              | EA          |
| 744300.4.UC384 | Univerzální sada kazet STARMag 96 X 4        | 384T / 1box |
| EX00013C       | Souprava STARMag 96 X 4 Virová DNA/RNA 200 C | 384T / 1box |
| SG71100        | SEEPREP32                                    | EA          |
| EX00009P       | STARMag 96 ProPrep (typ plato)               | 96T / 1box  |
| EX00009T       | STARMag 96 ProPrep (typ zkumavky)            | 96T / 1box  |
| EX00017P       | STARMag 96 ProPrep C (typ plato)             | 96T / 1box  |
| EX00017T       | STARMag 96 ProPrep C (typ zkumavky)          | 96T / 1box  |
| SG72100        | AIOS                                         | EA          |