

## **SARS-COV-2, INFLUENZA A RSV**

(8 JAMEK) REF 20081

Panel testů

SESTÁVÁ Z IVD KOMPONENT:

ZKUMAVKY KROKU 1 PRO SARS-COV-2, CHŘÍPKU A RSV 8-JAMEK REF 20081S

DESTIČKY KROKU 2 PRO SARS-COV-2, CHŘÍPKU A RSV 8-JAMEK REF 20081P

Pro systém HIGH-PLEX 24

NÁVOD K POUŽITÍ



**Pro USA platí:**

K POUŽITÍ V RÁMCI NOUZOVÉ AUTORIZACE (EUA) NEBO PO STÁTNÍ AUTORIZACI PRO CLIA-CERTIFIKOVANÉ LABORATOŘE

**DŮLEŽITÉ OZNÁMENÍ:**

Testy SARS-CoV-2 a a SARS-CoV-2 b jsou nyní validovány a **jsou vhodné pro IVD použití.**

Pokud je některý z testů pro SARS-CoV-2 pozitivní, lze vzorek považovat za pozitivní.



Tento uživatelský manuál čtěte společně s manuálem pro systém High-Plex 24.

## Obsah

1.	VAROVÁNÍ A LIMITACE.....	4
2.	DALŠÍ NUTNÉ INSTRUKCE .....	4
3.	NÁZEV A ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ .....	4
4.	CÍLOVÉ PATOGENY KITU .....	5
	POPIS CÍLOVÝCH PATOGENŮ .....	5
5.	SLOŽKY KITU: MATERIÁL A SKLADOVÁNÍ .....	7
	STRIPY KROKU 1 .....	7
	DETIČKY KROKU 2 .....	7
	DEMI RNA REAGENČNÍ KAZETA.....	8
	POŽADOVANÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ DODÁVKY .....	9
6.	POŽADAVKY NA VZORKY .....	9
	DRUH VZORKŮ A JEJICH OBJEM.....	9
	VHODNÉ METODY EXTRAKCE NUKLEOVÝCH KYSELIN.....	9
7.	DALŠÍ MOŽNOSTI NASTAVENÍ MT TESTU.....	10
8.	VÝSLEDKY .....	11
9.	KONTROLY .....	11
	POZITIVNÍ KONTROLA.....	11
	NEGATIVNÍ KONTROLA .....	11
	KONTROLA LIDSKÉ DNA A SPRÁVNOSTI ODBĚRU VZORKU .....	12
	KONTROLA EXTRAKCE NUKLEOVÉ KYSELINY .....	12
	KONTROLA INHIBICE VZORKU A FUNKCE PŘÍSTROJE .....	12
10.	KLINICKÉ PARAMETRY TESTU .....	12
	REPRODUCIBILITA A OPAKOVATELNOST.....	12
	INTERFERUJÍCÍ ČINIDLA .....	13
	ANALYTICKÁ SPECIFICITA .....	13
	ANALYTICKÁ SENSITIVITA.....	13
	KLINICKÁ ÚČINNOST.....	14
11.	LIMITACE.....	15
12.	TECHNICKÁ PODPORA .....	15
13.	EDITOR .....	16
14.	SLOVNÍK .....	16
	SYMBOLY.....	16
	DEFINICE POJMŮ .....	18
15.	VYLOUČENÍ ZODPOVĚDNOSTI.....	18

16. REFERENCE .....	18
17. HISTORIE DOKUMENTU .....	19

## 1. VAROVÁNÍ A LIMITACE

- **DŮLEŽITÉ:** Správná IVD je zaručena pouze v případě, že bude dodržen přesný postup práce, uvedený v této příručce.
- **DŮLEŽITÉ:** Nepoužívejte kit, pokud je některá jeho součást poškozena nebo je porušený jeho obal.
- **DŮLEŽITÉ:** Nepoužívejte součásti kitu z kroku 1 nebo z kroku 2 s různými katalogovými čísly, ani různých verzí.
- **DŮLEŽITÉ:** Nepoužívejte produkt po datu spotřeby.
- Se vzorky, které potenciálně obsahují lidské patogeny, zacházejte podle platných bezpečnostních předpisů, a podle těchto předpisů vzorky také likvidujte.
- Tento kit je navržen a optimalizován pouze pro systém High-Plex 24.
- Pro určené použití tohoto kitu je nezbytná správná laboratorní praxe. Pro další bezpečnostní informace, nahlédněte do našich příslušných bezpečnostních listů, které jsou dostupné online na stránce <http://www.ausdiagnostics.com/regulatory.html>
- Poznámka: Žádná činidla AusDiagnostics neobsahují nebezpečné látky uvedené v nařízení CLP (ES) č. 1272/2008 <sup>1</sup> ani podle klasifikace GHS.
- Tento kit je navržen pro měření specifických sekvencí nukleových kyselin. Proto negativní výsledek nevylučuje možnost přítomnosti nezvyklých sekvenčních variant. Výsledek získaný pomocí tohoto kitu musí být hodnocen společně s klinickým hodnocením a dalšími diagnostickými postupy. Na negativní výsledek nelze pro účely definitivní diagnózy spoléhat. Zanedbání nebo zpoždění léčby infikovaných pacientů může vest až k jejich smrti, zvláště u imunokompromitovaných pacientů.

## 2. DALŠÍ NUTNÉ INSTRUKCE



Tento manuál obsahuje specifické informace o produktu SARS-COV-2, INFLUENZA a RSV (8 JAMEK), které nejsou uvedeny v jiných manuálech.

Tento manuál musí být přečten společně s:

- manuálem pro systém High-Plex 24 (dokument 91501-r13),
  - manuálem pro reagenční kazetu (dokument 40001-r02)
- a pokud budou použity, pak také s:
- manuálem pro syntetické pozitivní kontroly (dokument 91001r08)
  - manuálem pro zkumavky pro výtěrové tampóny (dokument 90200r05)

## 3. NÁZEV A ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

Kit SARS-CoV-2, Influenza a RSV (8-jamek) je navržen pro *in vitro* diagnostiku (IVD), provedenou dostatečně proškoleným a zkušeným personálem v kvalifikovaných laboratořích, ve kterých se používá systém HighPlex 24 (REF 91501).



Tyto testy využívají multiplexovou tandemovou polymerázovou řetězovou reakci<sup>2</sup> pro amplifikaci cílové DNA nebo RNA. Podrobnější popis principu této metody (MT-PCR) naleznete v manuálu pro systém High-Plex 24.

Kit SARS-CoV-2, Influenza a RSV (8-jamek) je navržen jako poloautomatický IVD test pro identifikaci patogenů v extraktech nukleových kyselin z příslušných typů vzorků. Typy vzorků, které je možno použít, naleznete v kapitole 6.

Seznam patogenů, které lze detekovat pomocí tohoto kitu, naleznete v kapitole 4.

## 4. CÍLOVÉ PATOGENY KITU

SARS-COV-2, INFLUENZA A RSV (8 jamek) REF 20081 VER 08

ARTG ID: 235809



Test	Cílový patogen
Influenza A	virus chřipky A (zahrnuje H1, H3, H5 a H7)
Flu typing	diferenciace sérotypů viru chřipky A pdH1N1 a H3 (včetně H3N2)
Influenza B	virus chřipky B (rody Yamagata a Victoria)
RSV	respirační syncytiální virus (zahrnuje a odlišuje typ A a typ B)
SARS-CoV-2 a	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (gen ORF1)
SARS-CoV-2 b	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (gen ORF8)
Sample Adequacy	lidský referenční gen pro kontrolu správnosti odběru vzorku
SPIKE	umělá sekvence pro kontrolu testu

Tento produkt splňuje regulační požadavky na zdravotnické prostředky IVD příslušných orgánů v Austrálii (identifikátor ARTG 235809) a Evropské unie (označení CE).

Tyto testy využívají multiplexní tandemovou polymerázovou řetězovou reakci (MT-PCR)<sup>2</sup> pro amplifikaci cílové DNA a / nebo RNA. Úplný popis principu metody viz manuál High-Plex 24 Systém, oddíl 5. Princip metody.

Panel SARS-CoV-2, influenza a RSV (8-jamek) je určen k detekci následujících virů, které jsou spojeny s respiračními infekcemi:

## POPIS CÍLOVÝCH PATOGENŮ

### Influenza A

Chřipkový virus A je nejvíce virulentní chřipkový virus u lidí a jeho podtyp závisí na povrchovém hemaglutininu (HA) a neuraminidáze (NA). Nejvýznamnější podtyp H1 byl H1N1, který v roce 1918<sup>3</sup> způsobil španělskou chřipku. V roce 2009 se objevil nový kmen H1N1 (pdH1N1 nebo také "prasečí chřipka"), který obsahuje virové segmenty z chřipkových virů lidí, prasat a ptáků<sup>4</sup>. Nejběžnější variantou H3 je H3N2, která měla své první známé ohnisko v roce 1968 v Hongkongu<sup>5</sup>. Hostitelem H5 a H7 jsou ptáci, přičemž určité kmeny jsou přenosné na člověka (způsobují "ptačí chřipku") a tyto sporadické infekce jsou pečlivě sledovány. H5N1 má míru úmrtnosti přibližně 60 % všech známých případů, kdy zdrojem infekce byli většinou nakažení ptáci nebo kontaminované prostředí<sup>6</sup>. V

posledních letech bylo hlášeno několik infekcí podtypu H7 s vysokou patogenitou, avšak byly zaznamenány pouze omezené zprávy o přenosu mezi lidmi<sup>6</sup>.

Test Flu typing je určen k detekci pdH1N1 a H3.

**DŮLEŽITÉ:** Pokud je test na typizaci chřipky pozitivní a test na chřipku A negativní, je v pořádku vzít výsledek testu Flu typing jako správný.

### Influenza B

Chřipkový virus B je méně častý než chřipkový virus A, ale i on způsobuje propuknutí chřipkových epidemií, protože lidská imunita je překonávána mutacemi viru. Test viru chřipky B je navržen tak, aby detekoval obě varianty chřipky B, Victoria a Yamagata<sup>7</sup>.

### Respiratory syncytial virus (RSV)

Respirační syncytiální virus (RSV) je hlavní příčinou infekcí dolních cest dýchacích u malých dětí a představuje 50-90 % příčin hospitalizací při bronchiolitidě<sup>3</sup>. Z obou kmenů v oběhu, A a B, je převládající kmen RSV A. Test RSV je navržen tak, aby detekoval RSV A i B a software MT Analysis mezi těmito dvěma kmeny rozlišuje.

**DŮLEŽITÉ:** Rozlišení mezi kmeny A a B má pouze informativní charakter.

### SARS-CoV-2

Koronaviry jsou velká rodina RNA virů, které mohou způsobit onemocnění u zvířat nebo lidí. Je známo, že několik koronavirů způsobuje u lidí respirační infekce od běžného nachlazení po závažnější onemocnění, jako je *Middle East Respiratory Syndrome* (MERS) a *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS). Nedávno objevený koronavirus SARS-CoV-2 způsobuje onemocnění COVID-19 a poprvé byl pozorován ve Wuhanu v Číně.

**DŮLEŽITÉ:** Pokud je některý z testů SARS-CoV-2 pozitivní, lze vzorek považovat za pozitivní.

## 5. SLOŽKY KITU: MATERIÁL A SKLADOVÁNÍ

Poznámka: Žádné reagenty AusDiagnostics neobsahují nebezpečné látky uvedené v nařízení (ES) č. 1272/2008<sup>1</sup> ani podle klasifikace GHS.

Název kitu	Složky	REF	GTIN
<b>SARS-CoV-2, Influenza a RSV</b>	Stripy kroku 1: SARS-CoV-2, Influenza + RSV	20081S	9343044001598
	Destičky kroku 2: SARS-CoV-2, Influenza + RSV	20081P	9343044001581
	K použití s Demi RNA reagenční kazetou	40341RNA	9343044003110

### STRIPY KROKU 1

Stripy kitu SARS-CoV-2, Influenza a RSV (8-jamek) postačí pro 96 vzorků.

Materiál	Štítek	Popis	Funkce	Množství
Zkumavky pro krok 1	STEP 1 TUBES	1 x jednotlivý uzavřený sáček obsahující 12 x 8jamekových zkumavek s lyofilizovanými oligonukleotidy	Nádobka pro multiplexovou PCR kroku 1	96






#### INSTRUKCE PRO SKLADOVÁNÍ A MANIPULACI

Tyto zkumavky mohou být skladovány při teplotě 14 – 29 °C. Exspirace produktu je 6 měsíců od výroby a datum expirace je uvedeno na etiketě.

### DESTIČKY KROKU 2

Destičky kitu SARS-CoV-2, Influenza a RSV (8-jamek) postačí pro 288 vzorků.

Materiál	Štítek	Popis	Funkce	Množství
Krabička na destičky kroku 2	STEP 2 PLATES	Vnější obal	Ochrana	1

Destička kroku 2	STEP 2 PLATE	Sáček s 384 jamkovou destičkou s lyofilizovanými oligonukleotidy pro krok 2	Nádobka pro PCR kroku 2	12
Destička na ředění		Prázdná, 96-jamková destička	Ředění pro krok 2	12
Zkumavka na odpad		5 ml prázdná zkumavka s bílým víčkem	Pro deaktivaci DNA/RNA bělidlem	6
Sáčky na použité špičky		Sáčky se zipovým uzávěrem	Bezpečný sběr použitých špiček	6



#### INSTRUKCE PRO SKLADOVÁNÍ A MANIPULACI

**DŮLEŽITÉ:** Před vybalením produktu z obalu se ujistěte, že je sáček s desikantem (silikagelem) neporušený. Nepoužívejte sadu, pokud je desikant znehodnocen nebo chybí. Tyto destičky mohou být skladovány při teplotě 14 – 29 °C. Exspirace produktu je 6 měsíců od výroby a datum expirace je uvedeno na etiketě.

### DEMI RNA REAGENČNÍ KAZETA

Štítek krabičky	Materiál	Popis
DEMI RNA REAGENČNÍ KAZETA REF 40341RNA	Enzymy kroku 1	Enzymy pro krok 1 reakce včetně reverzní transkriptázy
	Pufr kroku 1	pufr pro reakci v kroku 1
	Činidla kroku 2	enzymy v pufru pro reakci v kroku 2
	Voda	k ředění produktů reakce z kroku 1 pro krok 2
	Olej	k zabránění odpařování reakce z kroku 1
Nepoužívat opakovaně!!!		

#### INSTRUKCE PRO SKLADOVÁNÍ A MANIPULACI



Po dodání skladujte kazety s reagenciemi při teplotě pod -20 °C.



**VAROVÁNÍ:** Reagenční kazety mohou dorazit rozmrazené. To neovlivní výkon kazet s reagenциemi.

**VAROVÁNÍ:** Běh musí být spuštěn do 30 minut po rozmrazení kazety s činidlem. Reagenční kazety jsou určeny pouze pro jedno použití. S výjimkou počátečního zmrazení po doručení (pokud je to nutné) znovu kazety s reagenциemi nezmrazujte.

Poznámka: Před **jemným** převrácením a stočením dbejte na úplné rozmrazení kazet s reagenциemi, protože zmrazené reagenциe mohou proniknout těsněním fólie.

Poznámka: Nepoužívejte reagenční kazety opakovaně. Zlikvidujte je podle příslušných bezpečnostních postupů.

Exspirace produktu je 6 měsíců od výroby a datum expirace je uvedeno na etiketě.

## POŽADOVANÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ DODÁVKY

Požadovaný materiál, který není automatickou součástí dodávky, je tento:

- Prostředky osobní ochrany
- Bělidlo s 0,4 % aktivního chlóru (4 ml na každý run)
- Nastavitelné pipety bez nukleáz
- Sterilní špičky s filtrem bez nukleáz

## 6. POŽADAVKY NA VZORKY

### DRUH VZORKŮ A JEJICH OBJEM

S tímto kitem lze použít takový extrakt nukleových kyselin, který je vhodný pro PCR.

Přijatelné typy vzorků zahrnují výtěr z nosu a krku, nasofaryngeální výtěr, nasofaryngeální aspirát, tracheální aspirát, bronchiální výplach, bronchoalveolární laváž (BAL).

Objem vzorků musí být 10 µl.

Poznámka: Extrakt nukleové kyseliny uložte do zkumavek bez inhibitorů PCR a nukleáz.

Při práci se vzorky RNA by měla být použita standardní opatření k minimalizaci degradace RNA.

**DŮLEŽITÉ:** Se vzorky, které potenciálně obsahují lidské patogeny, vždy manipulujte pečlivě a opatrně v souladu se správnou laboratorní praxí a zlikvidujte je v souladu s příslušnými bezpečnostními postupy.

### VHODNÉ METODY EXTRAKCE NUKLEOVÝCH KYSELIN

Manuální extrakce a pipetování extraktů nukleových kyselin do zkumavek kroku 1 provádějte v biohazardním boxu.

Následující manuální a automatizované metody extrakce nukleových kyselin byly ověřeny zákazníky společnosti AusDiagnostics a jsou považovány za vhodné pro produkci extraktů nukleových kyselin kompatibilních s kitem SARS-CoV-2, Influenza a RSV (8 jamek).

Extrakční systém	Typ
AusDiagnostics MT-Prep Extractor	Automatický
bioMerieux, NucliSENS easyMAG	Automatický
bioMerieux, NucliSENS easyMAG	Automatický
Perkin-Elmer Chemagic Prepito-D	Automatický
Qiagen QIAamp	Manuální
Qiagen QIASymphony	Automatický
Roche High Pure	Manuální
Roche MagNA Pure	Automatický

## 7. DALŠÍ MOŽNOSTI NASTAVENÍ MT TESTU

Tuto kapitolu je třeba číst společně s návodem k použití k systému High-Plex 24, konkrétně kapitolou 7.3. Dodatečné možnosti nastavení software jsou tyto:

Pipetování: Tabulka níže vysvětluje možnosti dostupné u robotického pipetování.

Možnosti pipetování	Popis
Manuál pipetting into tube strip	Extrakt nukleových kyselin byly pipetovány manuálně do zkumavek kroku 1 (Step 1) před spuštěním runu. Není tedy vyžadováno robotické pipetování.
Robot sampling from 2 ml tubes	Extrakt nukleových kyselin umístěné v 2ml zkumavkách jsou nanášeny do bloku pro robotické pipetování. Minimální objem 40 µl.
Robot sampling from 1.5 ml flip-cap tubes	Extrakt nukleových kyselin umístěné v 1,5 ml zkumavkách jsou nanášeny do bloku pro robotické pipetování. Minimální objem 40 µl.
Robot sampling from non-sequential 96 well plate locations	Extrakt nukleových kyselin jsou uloženy v 96-jamkové destičce jsou nanášeny do bloku pro robotické pipetování. nesequenčních jamek na destičce.. Minimální objem 40 µl.
Robot sampling from 96 well plate samples 1-24	Extrakt nukleových kyselin, umístěné v 96 jamkové destičce, jsou umístěny do oblasti bloku pro robotické pipetování z jamek 1 - 24. Minimální objem 40 µl.

Robot sampling from 96 well plate samples 25-48	Extrakty nukleových kyselin, umístěné v 96 jamkové destičce, jsou umístěny do oblasti bloku pro robotické pipetování z jamek 25 - 48. Minimální objem 40 µl.
Robot sampling from 96 well plate samples 49-72	Extrakty nukleových kyselin, umístěné v 96 jamkové destičce, jsou umístěny do oblasti bloku pro robotické pipetování z jamek 49 - 72.
Robot sampling from 96 well plate samples 73-96	Extrakty nukleových kyselin, umístěné v 96 jamkové destičce, jsou umístěny do oblasti bloku pro robotické pipetování z jamek 73 - 96. Minimální objem 40 µl.

## 8. VÝSLEDKY

Amplifikační křivky a křivky teploty tání runu jsou zobrazeny v softwaru MT Analysis. Na základě zadaných parametrů označí software cílovou sekvenci jako ‘Present’ (přítomna), ‘Check’ (je nutná kontrola uživatelem) nebo nezobrazí nic (nedetekováno, políčko zůstane prázdné). Nezapomeňte, že jsou možné násobné infekce. Molekulární koncentrace cílové sekvence, vyjádřené jako libovolné jednotky, se počítají relativně k vnitřní kontrole SPIKE, ve které se amplifikuje známé množství cílových molekul. Protože koncentrace SPIKE není měřena, jsou tyto hodnoty v libovolných jednotkách. V některých panelech může být relativní koncentrace každého cíle odvozena z normalizovaného procenta (v závorkách se zobrazí po „Present“).

Další podrobnosti o analýze výsledků najdete v manuálu systému High-Plex 24 (oddíl 11. Interpretace výsledků softwaru).

**DŮLEŽITÉ:** Výsledky oznamte státnímu nebo místnímu odboru veřejného zdraví, je-li to relevantní.1).

## 9. KONTROLY

### POZITIVNÍ KONTROLA



Doporučujeme zahrnout pozitivní kontroly do každého runu. Postupujte podle jednotlivých laboratorních postupů. Selhání pozitivní kontroly by mělo vést k přehodnocení všech negativních výsledků získaných od posledního runu s kontrolou.



Syntetické pozitivní kontroly pro respirační patogeny (REF 91011 ver 06) obsahují všechny cílové sekvence tento kit, KROMĚ SARS-CoV-2. Tato chybějící pozitivní kontrola je ve vývoji. Před použitím kontrol si přečtěte příložený uživatelský manuál.

### NEGATIVNÍ KONTROLA

Doporučujeme, aby negativní kontrola byla provedena podle příslušných laboratorních postupů. Amplifikace negativní kontroly znamená kontaminaci pracovního prostředí (ke kterému může

dojít např. při manipulaci během instalace nebo při rozlití vzorku na desku MT procesoru). V takovém případě otřete povrch desky MT procesoru (včetně víka termocyklieru) nekorozivním činidlem denaturujícím nukleové kyseliny (např. DNA-OFF™) a potom jej ošetřete UV zářením. Příslušné vzorky by měly být znovu testovány.

NEPOUŽÍVEJTE PRO ČIŠTĚNÍ NÁSTROJE BĚLIDLO.

## KONTROLA LIDSKÉ DNA A SPRÁVNOSTI ODBĚRU VZORKU

Test Sample Adequacy Control cílí na lidský referenční gen jako indikátor vhodnosti extraktu nukleové kyseliny nebo přímo druhu vzorku.

Test Human DNA Control se zaměřuje na referenční gen lidské DNA, který indikuje přítomnost lidské DNA v extraktu nukleové kyseliny nebo přímo ve vzorku.

Důležité: Není-li detekován žádný cíl a v testu kontroly vhodnosti vzorků, nebo v testu kontroly lidské DNA nedojde k amplifikaci, nelze na výsledky spoléhat. Za těchto okolností AusDiagnostics doporučuje opakované testování nového extraktu nebo vzorku. Pokud vyjde test vzorku pozitivní a tato kontrola negativní, je vzorek pozitivní.

## KONTROLA EXTRAKCE NUKLEOVÉ KYSELINY

Je odpovědností uživatele zajistit, aby byl zaveden vhodný postup extrakce nukleových kyselin. Doporučujeme, aby byla do každého extrakčního běhu zařazena známá pozitivní kontrola. Jako kontrola DNA může být použita vhodná syntetická pozitivní kontrola a pro kontrolu extrakce RNA se musí použít známý pozitivní RNA vzorek. Není-li kontrola extrakce nukleové kyseliny detekována, nemůžeme se spoléhat na negativní výsledky. Doporučujeme, aby byl jakýkoli vzorek s negativní kontrolou extrakce nukleových kyselin znovu odebrán a případně znovu extrahován a analýza byla opakována.

## KONTROLA INHIBICE VZORKU A FUNKCE PŘÍSTROJE

SPIKE je zcela umělá sekvence, která je přítomna ve zkumavkách kroku 1 pro sledování inhibice vzorků a výkonu přístroje. SPIKE byl navržen tak, aby neměl křížovou reaktivitu s diagnostickými cíli nebo testy. Pokud dochází k inhibici SPIKE, pak to naznačuje, že vzorek obsahuje inhibiční látky nebo že reakční podmínky nejsou optimální. V tomto případě doporučujeme, aby byl vzorek znovu extrahován a analýza byla opakována.



Další podrobnosti o analýze SPIKE naleznete v manuálu k systému High-Plex 24 (kapitola 9.2).

## 10. KLINICKÉ PARAMETRY TESTU

### REPRODUCIBILITA A OPAKOVATELNOST

Reproducibilita testů na systému High-Plex 24 byla hodnocena testováním pěti vzorků na třech šaržích během tří dnů (s každou šarží testovanou jednou denně) a třemi systémy se třemi operátory. Byl vypočítán variační koeficient ( $c_v$ ) pro výsledné střední hodnoty cyklu (hodnoty Ct) pro každý ze vzorků. Bylo zjištěno, že hodnoty Ct pro všechny vzorky ve všech koncentracích byly vysoce reprodukovatelné s hodnotami  $c_v$  v rozmezí od 2,08% do 4,86%, v průměru 3,40%.

Opakovatelnost testů na systému High-Plex 24 byla hodnocena testováním pěti vzorků na třech šaržích s jednou šarží testovanou třikrát denně v jednom systému. Bylo zjištěno, že hodnoty Ct pro všechny vzorky ve všech koncentracích byly vysoce opakovatelné s hodnotami  $c_v$  v rozmezí od 2,26% do 5,11%, průměrně 3,84%.

Nízký  $c_v$  z těchto studií poskytuje důkaz, že systém High-Plex 24 je vhodný pro použití v IVD.

## INTERFERUJÍCÍ ČINIDLA

Testovali jsme řadu exogenních a endogenních látek na potenciální rušení PCR. V důsledku přítomnosti kterékoli testované látky nebyla pozorována žádná nebo jen minimální interference. Přítomnost interní kontroly SPIKE ve všech produktech AusDiagnostics kontroluje v každém vzorku možné rušení PCR.



Další podrobnosti o interferujících látkách naleznete v manuálu k systému High-Plex 24 Systém (viz kapitola 13.1).

## ANALYTICKÁ SPECIFICITA

Technologie MT-PCR dosahuje vysoce specifické detekce patogenů a nesmí být zaměňována se standardní PCR nebo multiplexní PCR. Amplifikace v kroku 1 je omezena na 18 cyklů, ve kterých je velmi malé množství výchozího materiálu (primery a dNTP) v master mixu přeměněno na produkty amplikonu.

Každá reakce proto probíhá nezávisle na ostatních v multiplexu, čímž brání kompetici mezi různými testy. Druhý krok PCR využívá sadu jednotlivých reakcí PCR s primery vnořenými uvnitř primerů prvního kroku, takže žádný produkt s nesprávným primováním v prvním kroku nemůže vést k amplifikaci ve druhém kroku. Kromě toho pre-amplifikace prvního kroku znamená, že ve druhém kroku PCR postupuje snadno a produkuje v každém případě čistý produkt. Pro dva kroky PCR se používají různé podmínky, které upřednostňují amplifikaci nízkých koncentračních cílů v prvním kroku, ale čistou PCR ve druhém kroku. Použitím dvoustupňové reakce s ředěním mezi kroky se také sníží účinek všech inhibičních látek.

Řada publikovaných studií poskytla důkaz, že pozitivní výsledek je dosažen pouze pro gen cílený specifickými vnitřními primery v multiplexních panelech. Například nebyla zjištěna žádná zkřížená reaktivita u multiplexu 17 patogenů za použití 200 vzorků krevních kultur, které obsahovaly bakterie včetně *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, koaguláza negativní *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi*, *Bacteroides fragilis*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus salivarius*, *Sphingobacterium spiritivorum*, *Corynebacterium jeikeium*, *Propionibacterium acnes* nebo v 30 krevních kulturách bez mikroorganismů.<sup>8,9</sup>

## ANALYTICKÁ SENSITIVITA

Mez detekce (LoD) byl stanovena pomocí sériového zředění plazmidů s multiplexovou amplifikací kroku 1 a s 16 replikáty na testované ředění. Hodnota LoD byla stanovena jako nejnižší koncentrace, která vykazovala 100% amplifikaci cílové sekvence. Rozsahy se používají tehdy, když vzorky s vyššími koncentracemi nebyly detekovány, zatímco u vzorků s nižšími koncentracemi došlo ke 100% amplifikaci. Výpočet LoD je uveden jako počet kopií na 10  $\mu$ l vzorku i jako počet kopií na ml původního vzorku. Výpočet kopií/ml ve vzorku je založen na 100% účinné extrakci nukleové kyseliny, která koncentruje 200  $\mu$ l vzorku do 50  $\mu$ l eluátu.

Test	LoD (kopie/ $\mu$ l)	LoD (kopie/ml)
Influenza A	76-95	1,900-2,375
H1 (2009)	18	450
HA-H3	52	1300
Influenza B	21	525
RSV-B	85	2125
RSV-A	4-27	100-675
SARS-CoV-2 a	86-173	2150-4325
SARS-CoV-2 b	probíhá	probíhá

## KLINICKÁ ÚČINNOST

Klinická účinnost pro cílové sekvence používané v tomto kitu byla hodnocena v mnoha klinických laboratořích v Austrálii, na Novém Zélandu a ve Spojeném království. Alternativní metoda každé instituce byla považována za referenční metodu pro toto hodnocení.

Test	SENZITIVITA % (95% interval spolehlivosti)	SPECIFICITA % (95% interval spolehlivosti)
Influenza A	100.0 (88.6-100.0)	100 (96.7-100.0)
H1 (2009)	100.0 (80.8-100.0)	100.0 (97.0-100.0)
HA-H3	100.0 (82.8-100.0)	100.0 (97.1-100.0)
Influenza B	100.0 (87.4-100.0)	100.0 (99.2-100.0)
RSV A a B	100.0 (93.9-100.0)	100.0 (99.1-100.0)
SARS-CoV-2 a	100 (90.8-100.0)	100 (97.4-100.0)
SARS-CoV-2 b	97.7 (86.5-99.9)	99.4 (96.2-100.0)

## 11. LIMITACE

- Tento produkt smí používat pouze kvalifikovaný personál v kvalifikovaných laboratořích.
- Výkon panelů SARS-CoV-2, Influenza a RSV 8-jamek byl stanoven pouze na systémech AusDiagnostics High-Plex 24.
- Testy v tomto produktu neposkytují kvantitativní hodnotu pro patogen(y) ve vzorku.
- Výkon testu byl hodnocen pro použití pouze s materiálem pro lidské vzorky.
- Provedení tohoto testu bylo potvrzeno pouze pomocí extraktů nukleových kyselin z následujících typů vzorků: nosní výtěr, výtěr z krku, výtěr z nosohltanu, aspirát z nosohltanu (NPA), tracheální aspirát, bronchiální výplach a bronchoalveolární laváž (BAL). Nebyl ověřen pro použití s jinými typy vzorků.
- Provedení tohoto testu nebylo stanoveno u pacientů bez příznaků respiračního onemocnění.
- Provedení tohoto testu nebylo stanoveno u imunokompromitovaných jedinců.
- Panel SARS-CoV-2, influenza a RSV (8-jamek) je určen k měření specifických sekvencí nukleových kyselin. Negativní výsledek tedy nevylučuje možnost, že je přítomna neobvyklá varianta sekvence. Výsledky získané s tímto přípravkem by měly být použity ve spojení s informacemi dostupnými z klinických hodnocení a jiných diagnostických postupů. Na negativní výsledek se nelze spoléhat jako na definitivní diagnózu. Neúspěch nebo zpoždění léčby infikovaného pacienta může vést k úmrtí, přičemž imunokompromitovaní pacienti jsou vystaveni nejvyššímu riziku.
- Detekce nukleových kyselin závisí na správném odběru vzorků, manipulaci s nimi, na jejich správné přepravě, skladování a přípravě (podle pokynů výrobce zařízení pro odběr vzorků). Nedodržení správných postupů může vést k nesprávným výsledkům.
- Rozlišení mezi kmeny RSV A a RSV B slouží pouze pro informativní účely.

## 12. TECHNICKÁ PODPORA

Další pokyny a řešení potíží najdete v manuálu k systému High-Plex 24 Systém (část 14).

Pokud potřebujete pomoc nebo se objeví nějaké problémy, kontaktujte naše servisní středisko:

Mgr. Jiří Smutný

Tel.: +420 601 394 077

Email: [smutny@biovendor.cz](mailto:smutny@biovendor.cz), [www.biovendor.cz](http://www.biovendor.cz)

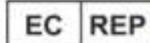
BioVendor - Laboratorní medicína a.s.

Karásek 1767/1, 621 00 Brno, Česká republika



**AusDiagnostics Pty Ltd**  
290-292 Coward Street  
MASCOT  
NSW 2020 Australia  
Phone: +612 9698 8030  
Email: [info@ausdiagnostics.com](mailto:info@ausdiagnostics.com)

**AusDiagnostics NZ Ltd**  
7C Douglas Alexander Parade  
Rosedale, Auckland 0632  
New Zealand  
Phone: +64 9 886 9717  
Email: [info@ausdiagnostics.com](mailto:info@ausdiagnostics.com)



**AusDiagnostics UK Ltd**  
Unit 3  
Anglo Business Park, Asheridge Rd,  
Chesham, Bucks, HP5 2QA UK  
Phone: +44 (0) 1494 300121  
Toll-Free: 0800 160 1703  
Email: [info@ausdiagnostics.com](mailto:info@ausdiagnostics.com)

**AusDiagnostics USA**  
Building 2, 1367 Brumlow Ave  
Southlake TX 76092,  
USA  
Phone: +1 512.827.6945  
Email: [info@ausdiagnostics.com](mailto:info@ausdiagnostics.com)

### 13. EDITOR

Editoval: E. Upfold

Schválil: A. Johannsson











### 14. SLOVNÍK

Na kitu AusDiagnostics SARS-CoV-2, chřipky a RSV (8-jamek) a v této příručce jsou uvedeny následující symboly. K interpretaci symbolů použijte níže uvedené definice.

#### SYMBOLY

Symboly jsou převzaty z ISO 15223-1: 2016 Medical devices - *Symbols to be used with medical devices labels, labelling and information to be supplied.*



	Katalogové číslo
	Zplnomocněný zástupce v Evropské unii
	Číslo verze
LOT	Šarže
GTIN	Tento produkt má přiřazeno jedinečné číslo Global Trade Item Number.
 	IVD ARTG Označuje, že příslušný výrobek je určen pro diagnostické použití in vitro v Austrálii a je zařazen do australského registru terapeutických výrobků (ARTG).
	IVD CE Označuje, že příslušný výrobek je určen pro diagnostické použití in vitro v Evropském hospodářském prostoru a je v souladu s evropskou směrnicí IVD 98/79 / EC.
	VAROVÁNÍ Přečtěte si pozorně příslušnou část.
	Před použitím si přečtěte příslušné pokyny pro použití
	Teplotní rozsah pro skladování
	Teplotní rozsah pro skladování (pouze horní limit)
	Pozitivní kontrola
VAROVÁNÍ	Upozorňuje uživatele na situace, které by v případě, že se jim nepodaří předejít, mohly vést k nebezpečí nebo jiným závažným nepříznivým důsledkům používání zařízení
DŮLEŽITÉ	Upozorňuje uživatele na zvláštní péči nebo zvláštní činnosti, nezbytné pro bezpečné a efektivní používání zařízení.

Poznámka	Další informace
----------	-----------------

## DEFINICE POJMŮ

**Panel testů:** Sada komponent panelu, které jsou určeny k použití společně k detekci určité skupiny („panelu“) cílů. Součástí panelu zahrnují zkumavky 1. kroku a destičky 2. kroku.

**Manuál pro konkrétní panel:** Návod k použití (manuál), který obsahuje informace specifické pro panel.

**Operátor:** Jednotlivec, který pracuje se systémem High-Plex 24.

**Primery:** Krátké syntetické oligonukleotidy speciálně určené k vazbě na specifickou sekvenci (genu) a její amplifikaci za podmínek konkrétní PCR.

**Běh, run:** Všechny kroky od spuštění MT Assay Setup Software (viz část 7.3) do generování souboru MT Analysis.

**RUO:** Research use only - POUZE PRO VÝZKUM. Takto označený test není určen pro použití IVD a nebyl pro IVD validován.

**Cíl:** Gen nebo sekvence, kterou vymezují primery určené k hybridizaci.

## 15. VYLOUČENÍ ZODPOVĚDNOSTI

Společnost AusDiagnostics nezaručuje, že její výrobky jsou obchodovatelné nebo uspokojivé pro jakýkoli konkrétní účel, a za tímto účelem neexistují žádné výslovné ani implicitní záruky. Společnost AusDiagnostics neodpovídá za žádné náhodné, následné nebo podmíněné škody spojené s používáním jejích produktů.

Odpovědnost AusDiagnostics je omezena pouze na výměnu objednaných položek.

Společnost AusDiagnostics si vyhrazuje právo kdykoli ukončit nebo změnit specifikace, produkty, služby nebo modely, aniž by tím vznikly závazky.

Společnost AusDiagnostics v žádném případě nenese odpovědnost za selhání, chyby nebo jiné závazky vyplývající z nedodržení postupů a preventivních opatření uvedených v tomto dokumentu zákazníky nebo v důsledku variant patogenů, které nebyly v době návrhu testu sekvenovány.

## 16. REFERENCE

- 1) Parliament, E., Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006 (Text with EEA relevance), in 1272. 2008.
- 2) Stanley, K.K. and E. Szewczuk, Multiplexed tandem PCR: gene profiling from small amounts of RNA using SYBR Green detection. *Nucleic Acids Res*, 2005. 33(20): p. e180.
- 3) England, P.H. *Respiratory Viruses (SMI G 8)*. 2014 [cited 2015 October]; Available from: <https://www.gov.uk/government/publications/smi-g-8-respiratory-viruses>.
- 4) Bishop, J.F., M.P. Murnane, and R. Owen, Australia's winter with the 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus. *N Engl J Med*, 2009. 361(27): p. 2591-4.
- 5) Bean, W.J., et al., Evolution of the H3 influenza virus hemagglutinin from human and nonhuman hosts. *J Virol*, 1992. 66(2): p. 1129-38.
- 6) Organisation, W.H. Avian influenza in humans. 2015 [cited 2015 October]; Available from: [www.who.int/influenza/human\\_animal\\_interface/avian\\_influenza/h5n1\\_research/faqs/en/](http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/avian_influenza/h5n1_research/faqs/en/).

- 7) Rota, P.A., et al., Cocirculation of two distinct evolutionary lineages of influenza type B virus since 1983. *Virology*, 1990. 175(1): p. 59-68.
- 8) Lau, A., et al., Multiplex tandem PCR: a novel platform for rapid detection and identification of fungal pathogens from blood culture specimens. *J Clin Microbiol*, 2008. 46(9): p. 3021-7.
- 9) Lau, A., et al., Colony multiplex-tandem PCR for rapid, accurate identification of fungal cultures. *J Clin Microbiol*, 2008. 46(12): p. 4058-60.

## 17. HISTORIE DOKUMENTU

Dokument ID: 20081-r01

Datum vytvoření: 20/03/2020

Změny: Původní dokument.