

# STANDARD *M10* Flu/RSV/SARS-CoV-2

STANDARD™ M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2

REF M10-CVFR-01

## NÁVOD K POUŽITÍ

Pro použití se systémem STANDARD™ M10



## **Obsah**

- 1. Určené použití**
- 2. Shrnutí a vysvětlení**
- 3. Princip měření**
- 4. Dodané materiály**
- 5. Skladování a manipulace**
- 6. Požadované, ale nedodávané materiály**
- 7. Upozornění a bezpečnostní opatření**
- 8. Odběr, přeprava a skladování vzorků**
- 9. Postup**
- 10. Interpretace výsledků**
- 11. Kontrola kvality**
- 12. Charakteristika měření**
- 13. Omezení**
- 14. Literatura**
- 15. Symboly**

## 1. Určené použití

Test STANDARD M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2 je multiplexní RT-PCR test v reálném čase určený pro použití se systémem STANDARD M10 pro kvalitativní detekci nukleových kyselin chřipky A, chřipky B, RSV a SARS-CoV-2 v lidském nosohltanovém stěru. Pozitivní výsledky svědčí o přítomnosti RNA chřipky A, chřipky B, RSV a/nebo SARS-CoV-2; k určení stavu infekce pacienta je nutná klinická korelace s anamnézou a dalšími diagnostickými informacemi. Negativní výsledky by neměly sloužit jako jediný základ pro rozhodování o léčbě pacienta. Negativní výsledky je třeba kombinovat s klinickými pozorováními, anamnézou pacienta a epidemiologickými informacemi. Test STANDARD M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2 je určen k provádění vyškolenými uživateli v laboratoři i v blízkosti pacienta.

## 2. Shrnutí a vysvětlení

Akutní respirační infekce mohou být způsobeny různými viry a bakteriemi, včetně nedávno představeného viru SARS-CoV-2. Akutní respirační infekce SARS-CoV-2 propukla v čínském Wuhanu a od roku 2019 se rozšířila do celého světa. Mezi běžné příznaky osoby nakažené virem SARS-CoV-2 patří respirační příznaky, horečka, kašel a dušnost. Ve vážnějších případech může infekce způsobit zánět plic, akutní respirační syndrom, selhání ledvin či dokonce smrt.

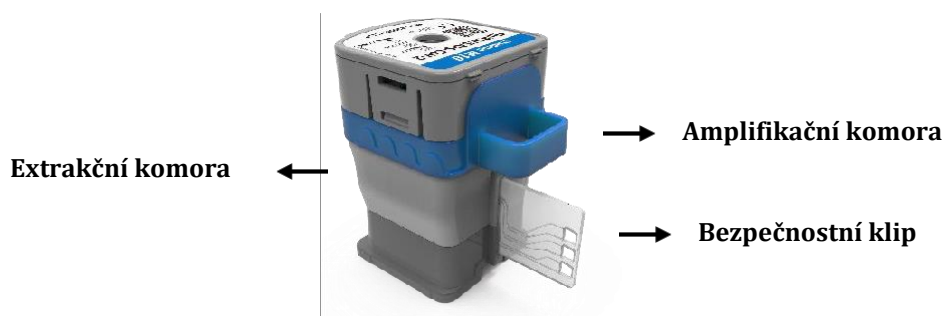
Chřipka je vysoce nakažlivá a akutní virová infekce dýchacích cest způsobená chřipkovým virem. Na lidi útočí tři typy chřipkových virů, které se nazývají typ A, typ B a typ C. Viry typu A jsou nejrozšířenější a jsou spojeny s většinou závažných epidemií. Klinické příznaky při infekci viru typu A jsou závažnější než příznaky způsobené virem typu B. Viry typu A i B mohou cirkulovat současně, ale obvykle je v dané sezóně jeden typ dominantní. Chřipka může mít různé projevy, od ojedinělých respiračních nálezu, které připomínají běžné nachlazení, až po těžký zápal plic vyžadující hospitalizaci, který může končit smrtí.

RSV (respirační syncytiální virus) je obalený -RNA virus patřící do čeledi *Paramyxoviridae*. Vyskytuje se po celém světě a v každé lokalitě má tendenci se vyskytovat v každoročních zimních epidemiích. Virus žije uvnitř buněk vystylajících dýchací systém a způsobuje otok této výstelky spojený s produkcí velkého množství nadměrného hlenu. U dospělých se to projevuje jako silná, vleklá rýma s ucpaným nosem a hluboký, produktivní kašel. U dětí však může nadbytek hlenu ucpat jejich malé dýchací cesty nebo průdušky, což vede k závažnému onemocnění zvanému bronchiolitida, které vyžaduje hospitalizaci. Největší riziko závažného onemocnění hrozí dětem, které ji poprvé dostanou do 6 měsíců věku nebo které mají závažné základní onemocnění. Závažná infekce RSV je pro rodiče a jejich dítě děsivým zážitkem a jedním z nejzávažnějších problémů veřejného zdraví na celém světě. Proto je pro účinnou prevenci a rychlou léčbu RSV důležitá rychlá a dostupná detekce.

Respirační infekce způsobené virem SARS-CoV-2, chřipkou a RSV mají podobné cesty přenosu a příznaky. Použití testů schopných současné detekce a rozlišení proto umožňuje účinnou kontrolu virů, vhodnou léčbu a prevenci rozsáhlých epidemií.

### Popis kazety

STANDARD M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2 je molekulární diagnostický test *in vitro*, který pomáhá při současné detekci a rozlišení RNA virů chřipky A, chřipky B, RSV a SARS-CoV-2 na základě technologie amplifikace nukleových kyselin, RT-PCR. Kazeta STANDARD M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2 obsahuje pufr pro extrakci virové RNA a reagentie pro RT-PCR pro kvalitativní detekci RNA virů chřipky A, chřipky B, RSV a SARS-CoV-2 *in vitro* ve vzorcích nosohltanového výtěru.



Obrázek 1. Uspořádání kazety STANDARD M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2

### 3. Princip postupu

Test STANDARD M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2 je automatizovaný in vitro diagnostický test pro kvalitativní detekci nukleové kyseliny chřipky A, chřipky B, RSV a SARS-CoV-2. Test STANDARD M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2 se provádí na systému STANDARD M10.

Systém STANDARD M10 automatizuje a integruje přípravu vzorku, extrakci nukleové kyseliny, polymerázovou řetězovou reakci s reverzní transkripcí (RT-PCR) a detekci cílových sekvencí v různých vzorcích pomocí molekulárně diagnostických testů. Systém se skládá z modulu STANDARD M10 a konzoly STANDARD M10 s předinstalovaným softwarem pro provádění testů a zobrazování výsledků. Systém vyžaduje použití jednorázových kazet na jedno použití, v nichž jsou uložena činidla pro RT-PCR a probíhá RT-PCR. Protože jsou kazety samostatné, křížová kontaminace mezi vzorky je minimalizována. Úplný popis systémů naleznete v uživatelské příručce systému STANDARD M10.

Test STANDARD M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2 obsahuje reagenty pro detekci RNA chřipky A, chřipky B, RSV a SARS-CoV-2 ve vzorcích nosohltanového výtěru. Přítomná kazeta slouží ke kontrole adekvátního zpracování vzorku, extrakce nukleové kyseliny a RT-PCR. Vzorek se nejprve lyzuje za vysoce denaturačních podmínek, aby se inaktivovaly RNázy a zajistila izolace neporušené virové RNA. Poté se upraví podmínky pufování, aby se zajistila optimální vazba RNA na skleněná vlákna. RNA se naváže na skleněná vlákna a kontaminanty se několikrát účinně odplaví pomocí promývacího pufru. Vysoce kvalitní RNA je eluována elučním pufrům a připravena k amplifikaci. Vyčištěné nukleové kyseliny se smíchají s lyofilizovanými hlavními kuličkami PCR. A je denaturována za přizpůsobených teplotních podmínek pro provedení účinné multiplexní RT-PCR v reálném čase a amplifikována podle podmínek PCR.

Součástí kazety je také vnitřní kontrola (IC). IC slouží ke kontrole adekvátního zpracování vzorku a k monitorování přítomnosti potenciálních inhibitorů v reakci RT-PCR. IC také zajišťuje, že podmínky reakce RT-PCR jsou vhodné pro amplifikační reakci a že činidla RT-PCR jsou funkční.

Níže uvedená tabulka uvádí, který cíl je určen k detekci třemi kanály: FAM, HEX, Cy5.

**Tabulka 1. Fluorescenční kanál každého cílového genu**

Patogen	Cílový gen	Kanál
Chřipka	Chřipka A (gen M)	FAM
	Chřipka B (gen NS1)	HEX
	Vnitřní kontrola (IC)	Cy5
RSV	RSV (gen M)	HEX
	Vnitřní kontrola (IC)	Cy5
SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 (gen ORF1ab)	FAM
	SARS-CoV-2 (gen N)	HEX
	Vnitřní kontrola (IC)	Cy5

### 4. Dodané materiály

Souprava STANDARD M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2 obsahuje dostatečné množství reagentů pro zpracování 10 vzorků nebo vzorků kontroly kvality.

**Tabulka 2. Obsah soupravy STANDARD M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2**

	Obsah	Množství	Použití v každé reakci
1	Kazeta	10	1
2	Stručný návod k použití	1	-

### 5. Skladování a manipulace

Soupravu STANDARD M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2 skladujte při teplotě 2 - 28 °C (36-86°F). Pokud byla kazeta uložena v chladničce, proveďte test po 30 minutách stabilizace při pokojové teplotě (20 - 28 °C, 68-82°F). Neodstraňujte bezpečnostní klip kazety a netlačte na kazetu až do skutečného použití. Nepoužívejte kazetu, která vytekla nebo je mokrá. Za těchto podmínek lze kazety skladovat až do data expirace vytištěného na obalu.

### 6. Požadované materiály, které nejsou součástí balení

- Systém STANDARD™ M10 s uživatelskou příručkou  
Minimálně jedna konzola STANDARD™ M10 (11M1011) a jeden modul STANDARD™ M10 (11M1012)
- Nástroje pro odběr vzorků  
- Noble Bio CTM (Noble Biosciences : UTMFS-3B-2)  
- COPAN eNAT (Copan : 606CS01P)  
- Univerzální transportní médium COPAN (doporučené 3 ml média UTM-RT)
- Pipety pro přenos vzorků  
- Kapátko STANDARD™ s pevným objemem (300 µl), (kat.č. 90DR20)  
- Mikropipeta s filtračními špičkami
- Osobní ochranné prostředky (OOP)

## 7. Upozornění a bezpečnostní opatření

- 1) Tato souprava je určena pouze pro diagnostiku *in vitro*.
- 2) Před testováním si pozorně přečtěte návod k použití.
- 3) Nesprávný odběr vzorku, přeprava, skladování a zpracování vzorku mohou vést k chybnému výsledku testu.
- 4) Před použitím neodstraňujte bezpečnostní klip kazety.
- 5) Kazetu stlačujte až při skutečném použití.
- 6) Nepoužívejte kazetu, která vytekla nebo je mokrá.
- 7) Soupravu nepoužívejte po datu její expirace.
- 8) S kazetou netřepejte, nenaklánějte ji ani nepřevracejte, zejména po stisknutí kazety, abyste prorazili těsnění. Mohlo by to vést k neurčitým výsledkům.
- 9) Nepoužívejte kazetu s poškozeným štítkem s čárovým kódem.
- 10) Zpracované kazety nepoužívejte opakovaně.
- 11) Biologické vzorky, přenosová zařízení a použité kazety by měly být považovány za schopné přenášet infekční agens vyžadující standardní bezpečnostní opatření.
- 12) Aby se zabránilo kontaminaci pracovních prostor po náhodném rozlití/expozici, měl by se použít roztok bělidla nebo 70% alkoholu, pokud je to pro cílové organismy účinné. Při použití žíravého dezinfekčního prostředku, jako je bělidlo, je třeba provést druhé setření sterilní vodou. (viz LABORATORNÍ BIOSAFETY MANUAL\_WHO).
- 13) Klinické laboratoře by měly být vybaveny zařízením a personálem v souladu s „Kodexem klinických laboratoří pro amplifikaci genů“.
- 14) Při používání této kazety je třeba postupovat přesně podle návodu..
- 15) Při správné likvidaci použitých kazet dodržujte postupy pro ekologický odpad vaší instituce..

## 8. Odběr, přeprava a skladování vzorků

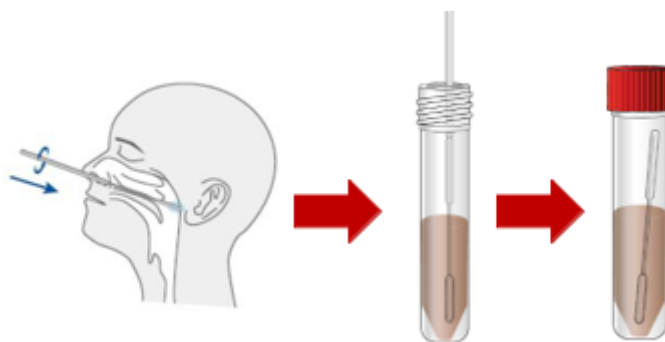
Správný odběr, přeprava a skladování vzorků jsou pro provedení testu zásadní. Nesprávný odběr vzorku, nevhodná manipulace se vzorkem a/nebo jeho přeprava mohou vést k falešným výsledkům.

Viz Pokyny WHO k biologické bezpečnosti laboratoří související s koronavirovou nemocí 2019 (COVID-19).

[https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-(covid-19))

### Postup nosohltanového výtěru


- 1) Přidržte nosohltanovou výtěrovou tyčinku (tampon) v blízkosti nosní přepážky a pomalu ji zasuňte hluboko do nosohltanu.
- 2) Několikrát ji otočte, abyste získali sekret.
- 3) Vytáhněte tyčinku z nosohltanu a rychle ji ponořte do zkumavky pro odběr vzorku a zlikvidujte konec.
- 4) Zkumavku pevně uzavřete.
- 5) Vzorky stěrů v odběrové zkumavce lze skladovat 1 den při pokojové teplotě (19 ~ 25 °C, 66 ~ 77°F), 4 dny při teplotě 2-8 °C, (36 ~ 46°F), 6 měsíců t při teplotě nižší než -70 °C (-94°F).



Obrázek 2. Nosohltanový výtěr

## 9. Postup

### 9.1 Spuštění systému STANDARD M10

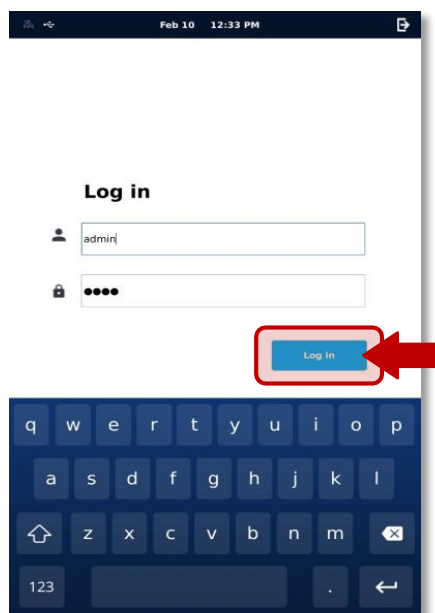
 <b>Poznámka</b>	Podrobné pokyny naleznete v uživatelské příručce systému STANDARD M10. Pokud jste naskenovali čárový kód kazety v systému STANDARD M10 a verze softwaru není kompatibilní, zobrazí se chybové hlášení "Not Supported Device" (Nepodporované zařízení). Před pokračováním testu aktualizujte software.
--	---

- 1) Zapněte systém STANDARD M10.
- 2) Zkontrolujte, zda jsou konzole STANDARD M10 a modul STANDARD M10 připojeny a funkční.



Obrázek 3. Připojení zdroje napájení

- 3) Zadejte ID uživatele a heslo na přihlašovací obrazovce konzoly STANDARD M10 a klikněte na tlačítko Přihlásit (Log In).
- 4) Na domovské (Home) obrazovce se dotkněte modulu STANDARD M10, který chcete spustit. (Dvířka vybraného modulu STANDARD M10 se automaticky otevřou pro vložení kazety.)



Obrázek 4. Obrazovka Log In



Obrázek 5. Obrazovka Home, Stav modulu M10

- 5) Zadejte ID pacienta (Patient ID) naskenováním čárového kódu nebo pomocí virtuální klávesnice na obrazovce konzoly M10. (ID pacienta je volitelné. Možnost zadávání ID pacienta můžete vypnout v nastavení (Settings).
- 6) Zadejte ID vzorku (Sample ID) naskenováním čárového kódu nebo pomocí virtuální klávesnice na obrazovce konzoly M10. Při skenování identifikačního čárového kódu vytištěného na zkumavce se vzorkem se ujistěte, že je uzávěr zkumavky pevně uzavřen. (Pro test kontroly kvality zaškrtněte políčko QC.)




Obrázek 6. Zadání ID vzorku





Obrázek 7. Skenování kazety

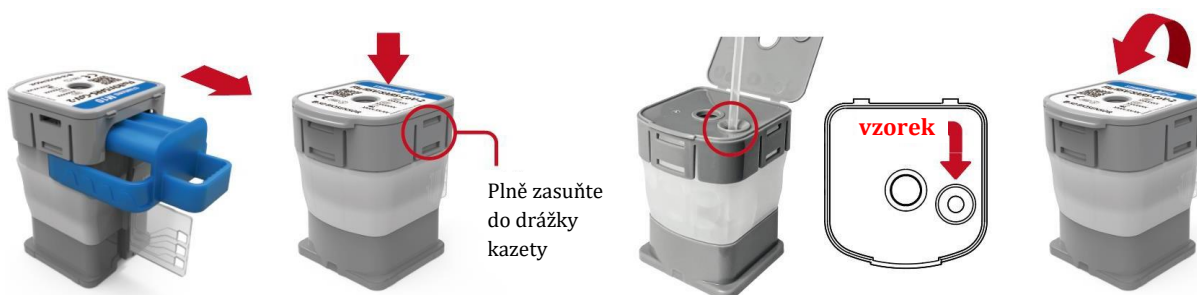
- 7) Naskenujte kazetu STANDARD M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2, která se má použít. Konzola STANDARD M10 automaticky rozpozná test, který se má provést, na základě čárového kódu kazety.

 <b>Poznámka</b>	<p>Pokud jste naskenovali čárový kód kazety v systému STANDARD M10 a datum expirace vypršelo, zobrazí se chybové hlášení "Expired Device". Zkontrolujte dobu platnosti a otestujte s neprošlými kazetami.</p>
--	---

## 9.2 Vložení vzorku do kazety STANDARD M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2

 <b>Upozornění</b>	<p>Pokud byla kazeta uložena v chladničce, proveďte test po 30 minutách stabilizace při pokojové teplotě (20 - 28 °C, 68-82°F). Po vložení vzorku do kazety zahajte test co nejdříve (během 30 minut).</p>
 <b>Poznámka</b>	<p>Pokud je do kazety přidáno nedostatečné množství vzorku, může dojít k falešně negativním výsledkům.</p>

- 1) Odstraňte bezpečnostní klip umístěný pod víčkem kazety.
- 2) Kazetu propíchněte zatlačením víčka, dokud zcela nezapadne do drážky kazety.
- 3) Před vložení vzorku otevřete víčko a zkontrolujte, zda je těsnění zcela propíchnuté.
- 4) Vzorek promíchejte rychlým pětinasobným převrácením zkumavky se vzorkem nebo vnější kontrolou. Opatrně otevřete uzávěr zkumavky se vzorkem nebo vnější kontrolou.
- 5) Dávkujte 300 µl vzorku do otvoru v pravém dolním rohu kazety pomocí kapátka s pevným objemem 300 µl nebo mikropipety.
- 6) Po několika sekundách se obrazovka Průvodce vzorkem automaticky změní na obrazovku Vložit kazetu. Pokud chcete průvodce přeskočit, dotkněte se obrazovky Sample Guide (Průvodce vzorkem).
- 7) Zavřete víko.



Obrázek 8. Napipetování vzorku



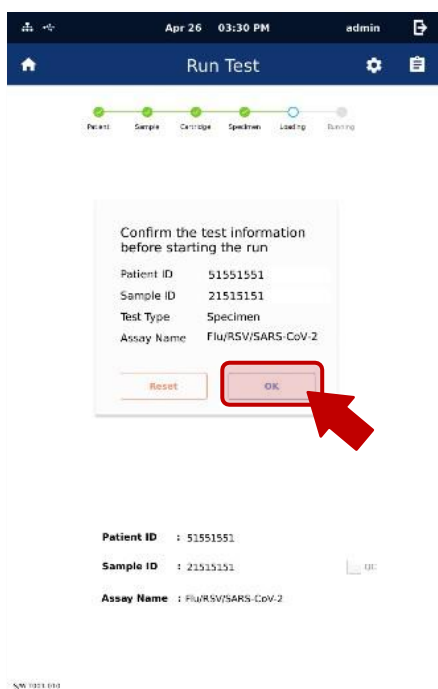
Obrázek 9. Obrazovka Aplikace vzorku



Obrázek 10. Obrazovka Vložit kazetu

### 9.3 Provedení testu

- 1) Vložte kazetu do vybraného modulu STANDARD M10 tak, aby amplifikační komora směřovala dovnitř modulu. (Indikátor stavu vybraného modulu bude blikat zeleně.)
- 2) Zcela zavřete dvířka.
- 3) Po potvrzení informací o vzorku a kazetě se dotkněte tlačítka OK na obrazovce. (Chcete-li informace zadat znovu, dotkněte se tlačítka Reset.)
- 4) Test se spustí automaticky a na obrazovce se zobrazí zbývající čas.



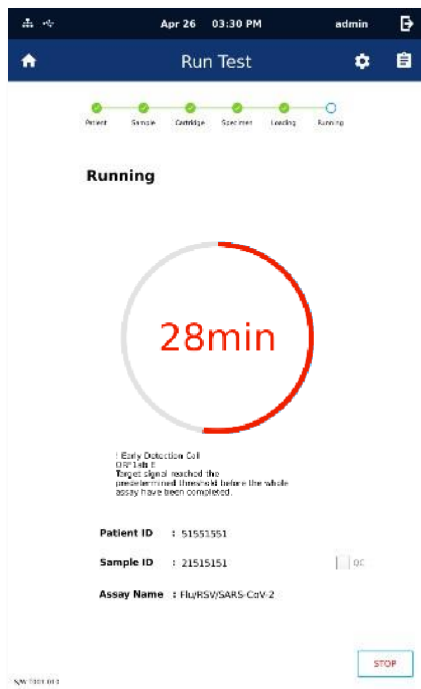
Obrázek 11. Obrazovka potvrzení testu




Obrázek 12. Obrazovka průběhu testu



- 5) Pokud signál z cíle dosáhne určité prahové hodnoty před dokončením celého procesu, spustí se funkce Early Detection Call, která poskytne dřívější informace o výsledcích.







Obrázek 13. Včasná detekce

- 6) Po dokončení testu se přepne na obrazovku Přehled (Review) a zobrazí se výsledek.  
 7) Použité kazety zlikvidujte v příslušné nádobě na biologický odpad v souladu se standardními postupy vaší organizace.  
 8) Chcete-li spustit další test, dotkněte se ikony Home (Domů)  a proces opakujte. (Pokud je k dispozici další modul STANDARD M10 připojený ke konzole STANDARD M10, můžete spustit nový test, zatímco probíhá jiný test.)




## 10. Interpretace výsledků

Výsledky jsou automaticky interpretovány konzolou STANDARD M10 a jsou přehledně zobrazeny na obrazovce Review. Test STANDARD M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2 poskytuje výsledky testu založené na detekci příslušných cílových genů podle algoritmů uvedených v tabulce 3.

Tabulka 3. Interpretace výsledků


Výsledek (Domovská obrazovka)	Výsledek (Obrazovka přehledu)	Popis
<b>Pozitivní</b>		Alespoň jeden patogen je pozitivní.
<b>Negativní</b>		Nebyl detekován žádný patogen.
<b>Neplatný</b>		IC signál nemá hodnotu Ct v platném rozsahu.
<b>Chyba</b>		Test se nezdařil, protože buď došlo k chybě, nebo test byl zrušen uživatelem.

**Tabulka 4. Popis výsledků IC**

Výsledek (Obrazovka souhrnu)	Výsledek (Obrazovka souhrnu)	Popis
IC platná		IC má Ct v platném rozsahu. : Test byl dokončen. Nahlaste pozitivní/negativní výsledky cíle podle interpretace uvedené v tabulce 5.
IC neplatná		Všechny patogeny nejsou detekovány a IC signál nemá hodnotu Ct v platném rozsahu.
Chyba IC		Test se nezdařil, protože buď došlo k chybě, nebo test byl zrušen uživatelem. Opakujte test.

**Tabulka 5. Interpretace výsledků**

Výsledek	Interpretace
Chřipka A pozitivní	Je detekována cílová RNA chřipky A. • Signál chřipky A má Ct v platném rozsahu. • IC: N/A (nerelevantní); IC mohla být inhibována a Ct hodnota mohla být posunuta díky vysoké koncentraci chřipky A.
Chřipka B pozitivní	Je detekována cílová RNA chřipky B. • Signál chřipky B má Ct v platném rozsahu. • IC: N/A (nerelevantní); IC mohla být inhibována a Ct hodnota mohla být posunuta díky vysoké koncentraci chřipky B.
RSV pozitivní	Je detekována cílová RNA RSV. • Signál RSV má Ct v platném rozsahu a koncový bod nad minimálním nastavením. • IC: N/A (nerelevantní); IC mohla být inhibována a Ct hodnota mohla být posunuta díky vysoké koncentraci RSV.
SARS-CoV-2 pozitivní	Je detekována cílová RNA SARS-CoV-2. • Signál SARS-CoV-2 má Ct v platném rozsahu. • IC: N/A (nerelevantní); IC mohla být inhibována a Ct hodnota mohla být posunuta díky vysoké koncentraci SARS-CoV-2.
Chřipka A pozitivní, chřipka B pozitivní, RSV pozitivní, SARS-CoV-2 pozitivní	• Jsou detekovány cílové RNA chřipky A, chřipky B, RSV a/nebo SARS-CoV-2. • IC: N/A (nerelevantní); IC mohla být inhibována a Ct hodnota mohla být posunuta díky vysoké koncentraci chřipky A, chřipky B, RSV a SARS-CoV-2.
Chřipka A negativní, chřipka B negativní, RSV negativní, SARS-CoV-2 negativní	• Nejsou detekovány cílové RNA chřipky A, chřipky B, RSV a SARS-CoV-2. • IC: Platný: IC má Ct v platném rozsahu.
Neplatný	IC nespĺňuje kritéria přijatelnosti a všechny cíle nejsou detekovány. Opakujte test. • IC: Neplatný: IC a signály chřipky A, chřipky B, RSV a SARS-CoV-2 nemají Ct v platném rozsahu.
Chyba	Test se nezdařil, protože došlo k chybě nebo byl test zrušen uživatelem. Přítomnost nebo nepřítomnost cílových nukleových kyselin nelze určit. Test opakujte.

 <b>Poznámka</b>	- U těchto cílů může dojít ke koinfekci: Chřipka A, chřipka B, RSV, SARS-CoV-2. - Pokud je IC negativní a výsledky pro některý z cílů jsou pozitivní, považují se výsledky pro všechny cíle za platné. Vysoký počet kopií cílově specifického genu může vést ke snížení nebo absenci IC. - Pokud je výsledek IC nebo cíle negativní, znamená to, že vzorek nebyl správně zpracován. Proveďte opakovaný test.
--	--

## 11. Kontrola kvality

Postupy kontroly kvality jsou určeny ke sledování kvality kazety a testu. Pokud kontroly nejsou platné, výsledky pacientů nelze interpretovat.

Interní kontrola (IC): Zajišťuje, že byl použit správný vzorek, činidla v kazetě jsou dobře funkční, ve vzorku nebyly žádné jiné interferující faktory a postup byl proveden správně. U klinických vzorků vykazujících pozitivní signál pro cílové patogeny je IC nepodstatná a ignoruje se. Pokud IC selže, nejsou detekovány žádné cílové patogeny, výsledek je neplatný.

Externí kontroly by měly být prováděny v souladu s místními, státními a/nebo federálními předpisy nebo akreditačními požadavky a standardními postupy kontroly kvality vaší laboratoře.

Pro externí kontroly se doporučuje použít níže uvedený seznam. Dodržujte informace uvedené v uživatelské příručce.

- Sada pro kontrolu kvality STANDARD™ M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2 (SD Biosensor, Inc, kat. č. 11COVC20N)

- Sada molekulárních kontrol AccuPlex™ SARS-CoV-2, Flu A/B a RSV (SeraCare, č. kat. 0505-0260).

Jiné produkty než uvedené látky lze použít poté, co je každá země nebo nemocnice nezávisle vyhodnotí a validuje jejich účinnost.

## 12. Charakteristika měření

### 12.1 Limit detekce testu

Analytická citlivost testu STANDARD M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2 byla hodnocena se dvěma šaržemi kazet a 7 standardními materiály (chřipka A H1N1pdm, chřipka A H1, chřipka A H3, chřipka B, respirační syncytiální virus typu A, respirační syncytiální virus typu B, SARS-CoV-2) zředěnými do sdružené negativní matrice klinického nosohltanového výtěru.

Pro test LoD byl každý pozitivní standard naředěn 2x a testovací produkt 2 šarží byl pro každou koncentraci opakován 24x. Na základě výsledků testu byla stanovena LoD pomocí probitové analýzy (CLSI EP17-A2; Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline - Second Edition).

Ověřené hodnoty LoD pro testované viry jsou shrnuty v tabulce 6.

**Tabulka 6. Přehled výsledků LoD**

Parametr		Zdroj (Kat.č.)	Kmen	LoD (kopie/ml)
Flu A H1N1		Zeptomatrix (NATFLUAH1-STQ)	A/Singapore/63/04	631
Flu A H1N1 pdm		Zeptomatrix (NATFLUAH1(2009)-STQ)	A/NY/02/09	399
Flu A H3N2		Zeptomatrix (NATFLUAH3-STQ)	A/Brisbane/10/07	525
Flu B		Zeptomatrix (NATFLUB-STQ)	B/Florida/02/06	399
RSV A		Zeptomatrix (NATRSPA-STQ)	-	795
RSV B		Zeptomatrix (NATRSVB-STQ)	3H93(18)-18	2631
SAR S- CoV- 2	ORF1ab gene	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ST)	USA-WA1/2020	813
	N gene			795

### 12.2 Zkřížená reakce

Následujících 39 zkříženě reagujících organismů bylo testováno 3krát na vzorek ve specializovaném analyzátoru jako 1 šarže. Výsledkem bylo, že u 35 látek nebyla pozorována žádná zkřížená reaktivita.

U zbývajících čtyř zkříženě reagujících látek (Flu A, Flu B, RSV A, RSV B) byla detekce potvrzena pro každý cíl.

**Tabulka 7. Organismy a testované koncentrace pro zkříženou reakci**

Pořadí	Kmen	Koncentrace
1	SARS-CoV	1x10 <sup>5</sup> PFU/ml
2	MERS-CoV	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
3	HCoV-OC43	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
4	HCoV-NL63	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
5	HCoV-229E	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
6	Adenovirus Type03 (Species B)	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
7	Adenovirus Type01 (Species C)	1x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
8	Human Metapneumovirus (hMPV) 16 Type A1	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
9	Human Metapneumovirus (hMPV) 3 Type B1	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
10	Parainfluenza Virus Type 1	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml

Pořadí	Kmen	Koncentrace
11	Parainfluenza Virus Type 2	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
12	Parainfluenza Virus Type 3	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
13	Parainfluenza Virus Type 4A	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
14	Parainfluenza Virus Type 4B	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
15	Influenza A H1N1pdm (NY/02/09)	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
16	Influenza B (Massachusetts/2/12)	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
17	Enterovirus Type 68	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
18	Human respiratory syncytial virus A (RSV_A)	1x10 <sup>5</sup> PFU/ml
19	Human respiratory syncytial virus B (RSV_B)	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
20	Rhinovirus A16	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
21	Rhinovirus B	1x10 <sup>5</sup> PFU/ml
22	Chlamydia pneumoniae	1x10 <sup>6</sup> IFU/ml
23	Haemophilus influenzae Type B	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
24	Streptococcus pneumoniae Type 1	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
25	Streptococcus pneumoniae Type 2	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
26	Streptococcus pneumoniae Type 3	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
27	Streptococcus pneumonia	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
28	Streptococcus pyogenes	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
29	Bordetella pertussis	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
30	Mycoplasma pneumoniae	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
31	Pseudomonas aeruginosa	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
32	Staphylococcus epidermis	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
33	Streptococcus salivarius	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
34	Moraxella catarrhalis	1x10 <sup>7</sup> CFU/ml
35	Cytomegalovirus (CMV)	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
36	Measles virus	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
37	Mumps virus	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
38	Epstein Barr virus	1x10 <sup>7</sup> Copies/ml
39	Candida albicans	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml

### 12.3 Interference

U následujících 17 interferujících látek jsme nepotvrdili žádnou interferenční reakci: testováno s jednou šarží pro negativní a pozitivní standardní materiály, a to jak s interferujícími látkami, tak bez nich, ve třech opakovaných testech.

**Tabulka 8. Látky testované na interferenci**

Pořadí	Interferující látky	Koncentrace
1	Plná lidská krev	5%
2	Lidská genomická DNA	15 µg/ml
3	Hemoglobin	0,2 g/ml
4	Mucin	2,5 mg/ml
5	Albumin	0,24 mg/ml
6	Biotin	200 µg/ml
7	Dexamethason	6 mg/ml
8	LISTERINE	5%
9	Oseltamivir	25 mg/ml
10	Oxymetazoline (Nosní Sprej)	15%
11	Ribavirin	800 mg/ml

Pořadí	Interferující látky	Koncentrace
12	Chloraseptický Sprej (Fenol/Glycerin)	15%
13	Pastilky proti bolesti v krku a kašli	3 mg/ml
14	Tabák	0,03 mg/ml
15	Tobramycin	512 µg/ml
16	Zubní pasta	0,5%
17	Zanamivir	3.3 mg/ml

## 12.4 Kompetitivní interference

Byl vyhodnocen test kompetitivní interferenční reakce mezi analyty, aby se ověřilo, zda nedochází k vzájemné interferenci nebo inhibici způsobené souběžnými infekcemi s ohledem na účinnost tohoto produktu. Čtyři cílové kmeny byly smíchány s nízkou koncentrací 3X LoD a vysokou koncentrací 100X LoD; jedna šarže byla použita k provedení tří opakovaných testů, aby se potvrdilo, že nedochází k vzájemné interferenci nebo inhibici.

Výsledkem bylo potvrzení 100% detekce za všech podmínek a ověření, že nedochází k vzájemné interferenci a inhibici.

**Tabulka 9. Přehled výsledků kompetitivní interference**

Cílový patogen	Interference	Míra detekce
Flu A 3X LoD	Flu B 100X LoD, RSV 100X LoD, SARS-CoV-2 100X LoD	3/3 (100%)
Flu B 3X LoD	Flu A 100X LoD, RSV 100X LoD, SARS-CoV-2 100X LoD	3/3 (100%)
RSV 3X LoD	Flu A 100X LoD, Flu B 100X LoD, SARS-CoV-2 100X LoD	3/3 (100%)
SARS-CoV-2 3X LoD	Flu A 100X LoD, Flu B 100X LoD, RSV 100X LoD	3/3 (100%)
Flu A 3X LoD, Flu B 3X LoD, RSV 3X LoD, SARS-CoV-2 3X LoD		3/3 (100%)

## 12.5 Test přesnosti

### 1. Opakovatelnost

Tři koncentrace každého ze čtyř standardních materiálů (virus chřipky A, virus chřipky B, RSV, SARS-CoV-2) se opakovaly dvakrát denně s použitím jedné dávky po dobu 5 dnů.

Výsledkem je, že v rámci série, mezi sériemi, mezi dny a v rámci laboratoře splňují kritéria přijatelnosti s SD < 2,0 pro Ct, což potvrzuje opakovatelnost.

**Tabulka 10. Přehled výsledků testů opakovatelnosti**

#### 1) Chřipka A

Koncentrace	V rámci série (Sr)	Mezi sériemi (Srr)	Mezidenní (Sdd)	V rámci laboratoře (ST)
3X LoD	0,70	0,46	0,51	0,98
1X LoD	0,69	0,38	0,45	0,91
0,1X LoD	-	-	-	-

#### 2) Chřipka B

Koncentrace	V rámci série (Sr)	Mezi sériemi (Srr)	Mezidenní (Sdd)	V rámci laboratoře (ST)
3X LoD	0,47	0,07	0,26	0,54
1X LoD	0,73	0,43	0,35	0,92
0,1X LoD	-	-	-	-

#### 3) RSV

Koncentrace	V rámci série (Sr)	Mezi sériemi (Srr)	Mezidenní (Sdd)	V rámci laboratoře (ST)
3X LoD	0,72	0,32	0,27	0,83
1X LoD	0,68	0,31	0,39	0,84
0,1X LoD	-	-	-	-

#### 4) SARS-CoV-2 (ORF1ab)

Koncentrace	V rámci série (Sr)	Mezi sériemi (Srr)	Mezidenní (Sdd)	V rámci laboratoře (ST)
3X LoD	0,49	0,20	0,18	0,56
1X LoD	0,62	0,22	0,32	0,73
0,1X LoD	0,11	0,48	0,75	0,90

#### 5) SARS-CoV-2 (N gene)

Koncentrace	V rámci série (Sr)	Mezi sériemi (Srr)	Mezidenní (Sdd)	V rámci laboratoře (ST)
3X LoD	0,55	0,26	0,04	0,61
1X LoD	1,17	0,80	0,8	1,63
0,1X LoD	-	-	-	-

## 2. Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost byla potvrzena opakováním testu dvakrát denně po dobu 5 dnů dvěma pracovníky na dvou místech se dvěma šaržemi za použití stejné testovací koncentrace.

Výsledkem bylo potvrzení reprodukovatelnosti splněním kritérií přijatelnosti s SD < 2,0 pro Ct a CV < 5 % při hodnocení mezi operátory a šaržemi, pracovišti a přístrojem.

**Tabulka 11. Přehled výsledků testů reprodukovatelnosti**

#### 1) Influenza A virus

Koncentrace (kopie/ml)	Mezi pracovišti & Přístrojem (%CV)	Mezi operátory & šarží (%CV)
3X LoD	2,47	2,95
1X LoD	1,89	2,39
0,1X LoD	1,10	1,28

#### 2) Influenza B virus

Koncentrace (kopie/ml)	Mezi pracovišti & Přístrojem (%CV)	Mezi operátory & šarží (%CV)
3X LoD	1,90	1,52
1X LoD	2,02	2,37
0,1X LoD	0,78	3,67

#### 3) Respiratory Syncytial Virus

Koncentrace (kopie/ml)	Mezi pracovišti & Přístrojem (%CV)	Mezi operátory & šarží (%CV)
3X LoD	3,26	3,62
1X LoD	2,85	3,02
0,1X LoD	2,74	1,93

#### 4) SARS-CoV-2 (ORF1ab)

Koncentrace (kopie/ml)	Mezi Přístrojem (%CV)	Mezi operátory (%CV)
3X LoD	2,73	2,14
1X LoD	2,39	2,90
0,1X LoD	4,24	3,43

#### 5) SARS-CoV-2 (N gene)

Koncentrace (kopie/ml)	Mezi Přístrojem (%CV)	Mezi operátory (%CV)
3X LoD	2,63	2,68
1X LoD	2,57	3,22
0,1X LoD	0,33	1,80

## 12.6 Klinické hodnocení

Výsledky klinického testu STANDAR M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2 byly porovnány s potvrzenými výsledky pozitivních a negativních vzorků.

Studie byla provedena s použitím zbytkového vzorku uloženého v univerzálním transportním médiu pro výtěr z nosohltanu (UTM) po testování a skladovaného při teplotě ≤ -70 °C s dobou skladování < 12 měsíců. Na základě toho byla vypočtena klinická citlivost a specifčnost zdravotnického prostředku pro test klinického výkonu vzhledem k výsledkům MFDS autorizovaného testu SARS-CoV-2/Flu A/Flu B/RSV RT-PCR randomizovaným a zaslepeným způsobem.

**Table 12. Přehled klinické senzitivity a specifcity**

## 1) Chřipka A

- Klinická senzitivita: 98,18% (108/110) [95% CI: 93,59% - 99,78%]
- Klinická specifcita: 100,00% (535/535) [95% CI: 99,31% - 100,00%]

		Potvrzený výsledek		Celkem
		Pozitivní	Negativní	
STANDARD M10 Flu/RSV/SARS- CoV-2	Pozitivní	108	0	108
	Negativní	2	535	537
	Celkem	110	535	645

## 2) Chřipka B

- Klinická senzitivita: 98,91% (91/92) [95% CI: 94,09% - 99,97%]
- Klinická specifcita: 99,82% (552/553) [95% CI: 99,00% - 100,00%]

		Potvrzený výsledek		Celkem
		Pozitivní	Negativní	
STANDARD M10 Flu/RSV/SARS- CoV-2	Pozitivní	91	1	92
	Negativní	1	552	553
	Celkem	92	553	645

## 3) RSV

- Klinická senzitivita: 98,78% (81/82) [95% CI: 94,09% - 99,97%]
- Klinická specifcita: 100,00% (563/563) [95% CI: 99,00% - 100,00%]

		Potvrzený výsledek		Celkem
		Pozitivní	Negativní	
STANDARD M10 Flu/RSV/SARS- CoV-2	Pozitivní	81	0	81
	Negativní	1	563	564
	Celkem	82	563	645

## 4) SARS-CoV-2

- Klinická senzitivita: 99,42% (170/171) [95% CI: 96,78% - 99,99%]
- Klinická specifcita: 98,73% (468/474) [95% CI: 97,72% - 99,53%]

		Potvrzený výsledek		Celkem
		Pozitivní	Negativní	
STANDARD M10 Flu/RSV/SARS- CoV-2	Pozitivní	170	6	176
	Negativní	1	468	469
	Celkem	171	474	645


















**13. Omezení**

- 1) K falešně negativnímu výsledku může dojít, pokud:
  - koncentrace vzorku je blízko nebo pod mezí detekce testu
  - vzorek je nesprávně odebrán, přepravován nebo je s ním nesprávně manipulováno
  - ve vzorku je přítomno nedostatečné množství organismů
  - kazety jsou vystaveny nevhodným faktorům prostředí (teplota/vlhkost)
- 2) Úpravy postupů uvedených v QRI (Stručné referenční pokyny) v balení mohou změnit výkonnost testu.
- 3) K falešně pozitivním výsledkům může dojít v důsledku křížové kontaminace mezi vzorky pacientů, záměny vzorků a/nebo kontaminace RNA při manipulaci s produktem
- 4) Kvalitativní detekce pozitivních výsledků v této soupravě neindikuje přítomnost živého viru.
- 5) Tato kazeta klasifikuje a identifikuje pouze chřipku A, chřipku B, RSV nebo SARS-CoV-2. Výsledky testu slouží pouze pro klinickou referenci a neměly by být používány jako jediný důkaz pro klinickou diagnózu a léčbu.
- 6) Mutace v cílových oblastech testu M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2 mohou ovlivnit vazbu primeru a/nebo sondy, což může mít za následek, že přítomnost viru nebude zjištěna nebo bude virus zjištěn méně předvídatelně.

## 14. Literatura

- 1) Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. Nature Reviews Micro., 2020, <http://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
- 2) Diagnosis and treatment of pneumonia caused by new coronavirus (trial version 4) National Health Commission. 2020
- 3) Centers for Disease Control and Prevention. 2020. CDC guidance for expanded screening testing to reduce silent spread of SARS-CoV-2. CDC, Atlanta, GA. [https://www.cdc.gov/csels/dls/locs/2020/cdc\\_publishes\\_new\\_guidance\\_for\\_expanded\\_screening\\_testing\\_to\\_reduce\\_silent\\_spread\\_of\\_sars-cov-2.html](https://www.cdc.gov/csels/dls/locs/2020/cdc_publishes_new_guidance_for_expanded_screening_testing_to_reduce_silent_spread_of_sars-cov-2.html).
- 4) Centers for Disease Control and Prevention. 2020. Overview of testing for SARS-CoV-2 (COVID-19). <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/testing-overview.html>. Accessed 3 June 2021.
- 5) Johns Hopkins University of Medicine. 2021. Coronavirus Resource Center. <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>. Accessed 3 June 2021.
- 6) Belongia EA, Osterholm MT. 2020. COVID-19 and flu, a perfect storm. Science 368:1163. <https://doi.org/10.1126/science.abd2220>.
- 7) Zhang N, Wang L, Deng X, Liang R, Su M, He C, Hu L, Su Y, Ren J, Yu F, Du L, Jiang S. 2020. Recent advances in the detection of respiratory virus infection in humans. J Med Virol 92:408–417. <https://doi.org/10.1002/jmv.25674>.
- 8) Jiang C, Yao X, Zhao Y, Wu J, Huang P, Pan C, Liu S, Pan C. 2020. Comparative review of respiratory diseases caused by coronaviruses and influenza A viruses during epidemic season. Microbes Infect 22:236–244. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2020.05.005>.
- 9) Obermeier M, Pacenti M, Ehret R, Onelia F, Gunson R, Goldstein E, Chevaliez S, Vilas A, Glass A, Maree L, Krügel M, Knechten H, Braun P, Naeth G, Azzato F, Lucic D, Marlowe N, Palm MJ, Pfeifer K, Reinhardt B, Dhein J, Joseph AM, Martínez-García L, Galán J-C. 2020. Improved molecular laboratory productivity by consolidation of testing on the new random-access analyzer Alinity m. J Lab Med 44:319–328. <https://doi.org/10.1515/labmed-2020-0102>.
- 10) Walsh EE. 2017. Respiratory syncytial virus infection: an illness for all ages. Clin Chest Med 38:29–36. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2016.11.010>.

## 15. Symboly

	Referenční číslo		Kód šarže
	Zdravotnický prostředek pro <i>in vitro</i> diagnostiku		Označení CE - Evropská shoda
	Viz návod k použití		Výrobce
	Obsah dostačuje pro <n> testů		Datum výroby
	Upozornění		Oprávněný zástupce v Evropském společenství
	Poznámka		Uchovávejte v suchu
	Nepoužívejte opakovaně		Uchovávejte mimo dosah slunečního záření
	Teplotní limit		Nepoužívejte jej, je-li poškozen obal
	Použitelné do		



Pro další informace o  
**STANDARD M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2**  
kontaktujte vašeho  
distributora SD BIOSENSOR



**SD Biosensor, Inc,** \_\_\_\_\_

**Sídlo:** C-4th&5th, 16, Deogyong-daero 1556beon-gil, Yeongtong-gu,  
Suwon-si, Gyeonggi-do, 16690, KOREJSKÁ REPUBLIKA

**Výrobní závod:** 14, Jeungpyeongsandan-ro, Jeungpyeong-  
eup, Jeungpyeong-gun, Chungcheongbuk-do, 27915

EC REP

Oprávněný zástupce \_\_\_\_\_

**MT Promedt Consulting GmbH**

Ernst-Heckel-Straße 7 66386 St Ingbert, Německo  
Telefon: +49 6894 581020, Fax: +49 6894 581021



**Pouze pro *in vitro* diagnostiku**

Dotazy k pokynům zasílejte na: [ts@sdbiosensor.com](mailto:ts@sdbiosensor.com)

nebo nás můžete rovněž kontaktovat přes [www.sdbiosensor.com](http://www.sdbiosensor.com)