



Atila iAMP® COVID-19 Detection

REF iAMP-COVID19-100-CE

Návod k použití

V2

Srpen 2020










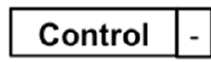

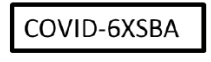

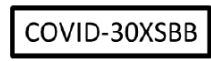

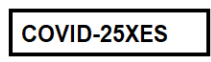

Obsah

DŮLEŽITÉ OZNÁMENÍ	3
SYMBOLY	3
POUŽITÍ	3
SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ TESTU	3
Přehled	4
Princip testu	4
SLOŽKY SOUPRAVY	4
POTŘEBNÉ VYBAVENÍ A MATERIÁLY, NEDODÁVANÉ	5
SKLADOVÁNÍ	5
VZORKY	5
Opatření v oblasti biologické bezpečnosti	5
Přijatelné vzorky	5
Manipulace se vzorky a skladování	5
Kritéria odmítnutí vzorku	5
VAROVÁNÍ a OPATŘENÍ	6
KONTROLA KVALITY	5
Obecná opatření	6
Kontroly testu	6
PRACOVNÍ POSTUP TESTU	7
Zpracování vzorků	7
Nasazení reakce a běh	7
INTERPRETACE VÝSLEDKŮ AMPLIFIKACE	8
iAMP COVID-19 kontroly- pozitivní, negativní a vnitřní	8
Odečítání a interpretace výsledků vzorku pacienta	9
OMEZENÍ	9
CHARAKTERISTIKA TESTU	10
Limit detekce (LoD) – Analytická senzitivita	10
Inkluzivita	10
Cross-reaktivita – Analytická specifická	11
Studie endogenních interferenčních substancí	12
Hodnocení klinické účinnosti	13

DŮLEŽITÉ OZNÁMENÍ

Návod k použití je třeba t před použitím pečlivě přečíst a dodržovat jej. Pokud dojde k odchylkám od těchto pokynů není možné zaručit spolehlivé výsledky,

SYMBOLY

	Consult instructions for use	Podle pracovního návodu		Buffer mix	Pufr
	<i>In vitro</i> diagnostic medical device	<i>In vitro</i> diagnostický zdravotnický prostředek		Primer Mix	Amplifikační souprava
	Temperature limitation	Teplotní omezení		Positive Control	Pozitivní kontrola
	Contains sufficient for <n> tests	Dostatečné pro <n> testů		Negative Control	Negativní kontrola
	Use by	Použitelné do		6x Sample Buffer A	6x Pufr vzorku A
	Catalogue number	Katalogové číslo		30x Sample Buffer B	30x Pufr vzorku B
	Batch code	Šarže		25x Elution Solution	
	Manufacturer	Výrobce			

POUŽITÍ

Detekční souprava iAMP COVID-19 je multiplexový fluorescenční RT-izotermický test založený na technologii firmy Atila real-time izotermické amplifikace určené pro kvalitativní detekci nukleové kyseliny viru SARS-CoV-2 v nazofaryngeálních / orofaryngeálních výtěrech u jedinců se známkami a příznaky infekce z COVID-19.

Výsledky slouží k identifikaci SARS-CoV-2 RNA. RNA SARS-CoV-2 je obecně detekovatelná v nazofaryngeálních / orofaryngeálních výtěrech nebo BAL během akutní fáze infekce. Pozitivní výsledky svědčí o aktivní infekci.

Negativní výsledky nevylučují infekci SARS-CoV-2 a neměly by se používat jako jediný základ pro rozhodování o stavu infekce u pacienta. Výsledky musí být porovnány s klinickým pozorováním, anamnézou pacienta a epidemiologickými informacemi.

Detekční souprava iAMP COVID-19 je určena pro použití vyškoleným laboratorním personálem zbýhlým v technikách amplifikace nukleových kyselin v reálném čase a laboratorních výzkumných postupů. Detekční souprava iAMP COVID-19 je určena pouze pro výzkumné účely.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ TESTU

Přehled

Detekční souprava iAMP COVID-19 je izotermický amplifikační test s reverzní transkripcí v reálném čase. Test je založen na vlastní technologii izotermické amplifikace nazvané OMEGA amplifikace (Patent: WO 2017/205510 A1. Sady primerů OMEGA jsou navrženy tak, aby specificky detekovaly RNA a později cDNA z N genu a ORF-1ab viru SARS-CoV-2 v nazofaryngeálních / orofaryngeálních výtěrech pacientů s podezřením na infekci COVID-19.

Princip testu

Detekční souprava iAMP COVID-19 je určena k detekci COVID-19 **přímo ze surových vzorků bez procesu extrakce RNA. Vzorky stěrů se extrahují ve směsi pufru vzorku (Sample Buffer Mix) 15 minut při pokojové teplotě. Poté mohou být přímo použity pro OMEGA izotermickou amplifikaci a detekci signálu.**

Po zpracování vzorků se provádí reverzní transkripce a k amplifikace nukleových kyselin při 61 °C. Cílová sekvence ve vzorcích je amplifikována sadami primerů N / ORF-1ab, které jsou specifické pro SARS-CoV-2. Během amplifikace je možné do produktů amplifikace inkorporovat fluorescenční sondy (FRET). Fluorescence je měřena real-time readrem.

SLOŽKY SOUPRAVY:

1. Primer Mix (COVIDPM)	540 µl X 1 zkumavka
2. Směs pufru (COVIDBM)	540 µl X 1 zkumavka
3. Pozitivní kontrola (COVIDPC)	300 µl X 1 zkumavka
4. Negativní kontrola (COVIDNC)	300 µl X 1 zkumavka
5. Návod k použití	1 brožura
6. 6x iAMP Covid-19 vzorkový pufr A (COVID-SBA)	1,25 ml X 1 zkumavka
7. 30x iAMP Covid-19 vzorkový pufr B (COVID-30xSBB)	240 µl X 1 zkumavka
8. 25x iAMP COVID-19 Elution Solution (COVID-25xES)	1,4 ml x 3 zkumavky

POTŘEBNÉ VYBAVENÍ A MATERIÁL, NEDODÁVANÉ v soupravě

1. Prostředek pro odběr vzorků Atila (iAMP-COVID19-SCD) pro vzorek výtěru, včetně vatového tamponu a odběrové zkumavky a odběrové tampony určené pouze pro NP nebo OP nebo oba typy) . Potřeba 100 ks pro jednu iAMP detekční soupravu.
2. Voda bez nukleáz (nuclease-free H₂O)
3. Povrchové dekontaminační prostředky
4. Real-time PCR systém s fluorescenčními kanály **FAM / HEX** (Atila Powergene 9600 Plus Real-time systém, BioRad CFT96 nebo jiné kompatibilní přístroje).
5. Nastavitelné pipety s odpovídajícími špičkami, pipety s filtrem

6. Jednorázové rukavice bez prachu a jiné osobní ochranné prostředky
7. Vortexový mixér nebo ekvivalent
8. PCR zkumavky / stripy s uzávěry nebo 96-jamková PCR deska s těsnícími uzávěry
9. PCR držák zkumavek / destiček
10. 1,5 ml a 2 ml mikrocentrifugační zkumavky a stojany
11. Centrifuga kompatibilní s použitými zkumavkami.

SKLADOVÁNÍ

Všechny komponenty soupravy (**COVIDBM, COVIDPM, COVIDNC, COVIDPC, COVID-6xSBA, a COVID-30xSBB a COVID25xES**) by měly být skladovány zmrazené při -20 ° C pro dlouhodobé skladování. Skladovatelnost a stabilita otevřené soupravy zatím není k dispozici. Doba skladování soupravy je pravděpodobně 1 rok a stabilita otevřené soupravy je 6 měsíců, pokud je souprava správně skladována.

VZORKY

Opatření v oblasti biologické bezpečnosti

Při práci s klinickými vzorky používejte vhodné osobní ochranné pomůcky (např. Pláště, rukavice, ochranu očí). Zpracování vzorků by mělo být prováděno v certifikovaném boxu biologické bezpečnosti II a vyšší podle pokynů pro úroveň biologické bezpečnosti 2 nebo vyšší.

Přijatelné vzorky

- Nasofaryngeální nebo orofaryngeální výtěry odebrané pomocí odběrové soupravy Atila (iAMP-COVID19-SCD) .
- Zařízení (iAMP-COVID19-SCD-RUO*, iAMP-COVID19-SCD-NP-RUO*).

*Zatím nedostupné jako CE certifikovaný.

Manipulace se vzorky a skladování

- Pro optimální provedení používejte čerstvě odebrané vzorky
- Vzorky mohou být skladovány při pokojové teplotě 12 hodin, při 4 ° C až 48 hodin po odběru a před zpracováním vzorků.
- Pokud se očekává zpoždění zpracování vzorků, uložte suché stěry při teplotě -70 ° C nebo nižší. Vyvarujte se cyklů zmrazování/ rozmrazování.
 - **Vzorky v 1x iAMP COVID-19 Elučním roztoku mohou být skladovány při 4 ° C po dobu až 12 hodin po elučním kroku.** Po stanovení iAMP COVID-19 dlouhodobě uchovávejte eluované vzorky (ve fyziologickém roztoku) při -70 ° C nebo nižší. Vyvarujte se dalších cyklů zmrazení - rozmrazení eluovaného vzorku po počátečním rozmrazení.

Kritéria odmítnutí vzorku

- Vzorky nejsou uchovávány podle instrukcí.
- Neúplné označení vzorku nebo dokumentace.
- Nevhodný typ vzorku.

VAROVÁNÍ a OPATŘENÍ

- Pro diagnostické použití in vitro (IVD).
- Tento test byl schválen pouze pro detekci nukleové kyseliny ze SARS-CoV-2, nikoli pro jiné viry nebo patogeny.
- Tento test je určen k použití se zařízením pro odběr vzorků Atila prodávaným samostatně spolu se soupravou. Testování dalších vzorků odebraných jiným odběrným zařízením může vést k nepřesným výsledkům.
- se vzorky a kontrolami by se mělo vždy zacházet jako s infekčními a / nebo biologicky nebezpečnými v souladu s bezpečnými laboratorními postupy.
- Při manipulaci se vzorky dodržujte nezbytná opatření. Používejte osobní ochranné prostředky (OOP) v souladu s platnými pokyny pro zacházení s potenciálně infekčními vzorky.
- Vzorky musí být shromažďovány, přepravovány a skladovány za použití vhodných postupů a podmínek.
- Reagencie musí být skladovány a zacházeno s nimi podle pokynů v tomto návodu k použití. Soupravu nepoužívejte po uvedeném datu expirace.
- V pracovních prostorách nejezte, nepijte, nekuřte a neaplikujte kosmetické prostředky.
- Zlikvidujte odpad v souladu s místními, státními a federálními předpisy.

KONTROLA KVALITY

Kvůli citlivosti reakce iAMP COVID-19 by se tyto testy měly provádět v podmínkách přísné kontroly kvality a s postupy zajištění kvality. Dodržování těchto pokynů pomůže minimalizovat možnost falešně pozitivní amplifikace.

Obecná ustanovení

- Personál musí být obeznámen s používaným protokolem a zařízením / nástroji.
- Udržujte oddělené oblasti a vyhrazená zařízení (např. Pipety, mikrocentrifugy) a spotřební materiál (např. Zkumavky na mikrocentrifugu, pipetovací špičky, pláště a rukavice) pro stanovení reagentu a manipulaci se zpracovanými vzorky.
- Pracovní postup musí vždy probíhat z čisté oblasti do špinavé oblasti.
- Při přidávání reagentů a manipulaci se zpracovanými vzorky používejte čistý jednorázový oděv a nové, dříve nepoužité rukavice bez pudru. Při podezření na kontaminaci vyměňte rukavice.
- Skladujte primer / sondy a hlavní směs enzymů při vhodných teplotách (viz příbalové informace). Nepoužívejte činidla po uplynutí doby použitelnosti.
- Uchovávejte reagenční zkumavky a reakce uzavřené jak jen je možné.
- Očistěte a dekontaminujte povrchy.
- Nepřenášejte zpracované vzorky ani reakční produkty do oblasti nastavení testu.
- Používejte pouze pipetovací špičky s bariérou (filtrem) proti aerosolu .

Kontroly testu

Kontroly testů by měly být testovány souběžně se všemi testovanými vzorky v každém běhu.

- COVIDPC - pozitivní kontrola s očekávaným rozsahem hodnot Ct, slouží jako kontrola amplifikace a detekce SARS-CoV-2 RNA.
- COVIDNC - negativní kontrola, slouží k ověření, že nedochází ke kontaminaci analytu během nastavení reakce.

PRACOVNÍ POSTUP TESTU

Zpracování vzorků

1. Zředte 25x iAmp COVID-19 Eluční roztok (COVID-25EL) beznukleázovou vodou na 1x Eluční roztok(1xES)

Počet stěrů	suchých	1	10	25	50	94
COVID 25xES		40	400	1000	2.000	3.760
H2O bez nukleáz		960	9.600	24.000	48.000	90.240
1 x ES		1.000	10.000	25.000	50.000	94.000

2. Když jste připraveni na detekci vzorku, vložte 0,7 ml 1XES do každé zkumavky se vzorkem, pokud je v každé zkumavce se vzorkem jeden tampon, nebo 1 ml 1XES do každé zkumavky se vzorkem, pokud jsou v každé zkumavce se vzorkem dva tampony.

Krátce vortexujte (2-3s), inkubujte 5 min aby se tampony nasákly

3. Vyjměte 6X iAMP COVID-19 Sample Buffer A (COVID-6XSBA) a 30X iAMP COVID-19 Sample Buffer B (COVID-30XSBB). Krátce a rychle vortexujte aby se kapalina dostala dolů.

Připravte si **1X puřrovací směs vzorků (1XSBM)** smícháním v 1,5 ml zkumavce Eppendorf podle následujícího pořadí:

- 1) COVID-6XSBA (2,5 X N) μ L
- 2) COVID-30XSBB (1 X N) μ L
- 3) H2O (11,5 x N) μ L bez nukleáz

N představuje počet zkumavek se vzorky.

4. Vezměte N zkumavek s PCR a do každé zkumavky s PCR vložte **12 μ l připraveného 1XSBM**.
5. Každou zkumavku se vzorky důkladně promíchejte po dobu 5 s a okamžitě vložte **3 μ l kapalného vzorku v 1XES** do zkumavky PCR, jednou pipetujte nahoru a dolů a promíchejte s již vloženým 1XSBM.

Poznámka: Když odebíráte 3 μ l ze vzorku roztoku v 1XES, vložte špičku pipety do střední části. Nezasunujte špičku pipety na dno a nedotýkejte se tamponů.

6. Umístěte zkumavku pro PCR na stůl na 15 minut. Okamžitě přejděte k „nasazení reakce a spuštění“.

Nasazení reakce a běh:

1. Ze soupravy vyjměte Buffer Mix (COVIDBM), Primer Mix (COVIDPM), negativní kontrolu (COVIDNC) a pozitivní kontrolu (COVIDPC). Po rozmrazení roztoky krátce a rychle promíchejte.
2. Připravte Master Mix smícháním následujících složek v 1,5 ml centrifugační zkumavce.

COVIDPM 5,2 x (N + 2) μ l

COVIDBM 5,2 x (N + 2) μ l

Jemně promíchejte a promíchejte a přidejte **10 µL hlavní reakční směsi do každé zkumavky PCR z výše uvedeného kroku 3 (# 1 až #N).**

Poznámka: Špičku pipety měňte při každém naplnění reakční mastermix, jinak dojde ke kontaminaci.

3. Vezměte další 2 zkumavky PCR (# N+1 a # N+2). Do obou zkumavek vložte 10 µl reakčního Master Mixu. Pro negativní kontrolu přidejte 15 µl negativní kontroly do reakční zkumavky # (N + 1). Pro pozitivní kontrolu přidejte 15 µL pozitivní kontroly do reakční zkumavky # (N + 2).
4. Všechny zkumavky bezpečně uzavřete. Jemně vortexujte, aby se promíchaly všechny reagensy.
5. Krátce odstředte zkumavky v odstředivce, aby se veškerá kapalina dostala na dno jamek.
6. Nastavte reakční podmínky pomocí kompatibilního real-time PCR přístroje (Všechny real-time PCR přístroje schopné měřit fluorescenci v FAM / HEX kanálu v reálném čase). Mezi takové nástroje patří mimo jiné: Atila PowerGene 9600 Plus Real-Time System, BioRad CFX96 Real-Time PCR Detection System, Roche LightCycler 480 Real-Time PCR System, Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System, atd.

Otevřete nový PCR program a nastavte následující:

Step	Cycle	Temperature	Time
Denaturation	1	61 °C	30 sec
cDNA synthesis, isothermal amplification, and signal detection	50	61 °C	1 min

Na konci každého cyklu se odečítá fluorescence

7. Vložte reakční zkumavky do držáku vzorku a přeneste je do přístroje pro real-time PCR, zavřete víko a spusťte reakci.

Po běhu vyjměte destičku se vzorky a okamžitě je zlikvidujte do zavíracího sáčku. Abyste zamezili kontaminaci **NEOTVÍREJTE PO REAKCI REAKČNÍ ZKUMAVKU.**

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ AMPLIFIKACE

Kontroly detekční soupravy iAMP COVID-19 - pozitivní, negativní a vnitřní kontroly

- Kontrola kvality testu - každý běh přístroje by měl zahrnovat:
 - a) **Negativní kontrolu** - slouží k ověření, že během nasazení reakce nedochází ke kontaminaci analytu. Měla by existovat NE-exponenciální amplifikační křivka v kterémkoli kanálu negativní kontroly, jinak je test neplatný a výsledky nelze použít pro diagnostiku.
 - b) **Pozitivní kontrola** - slouží jako kontrola pro amplifikaci a detekci SARS-CoV-2 RNA (ORF1ab a N). Měla by ukazovat exponenciální křivky ve všech třech kanálech a Ct v každém kanálu by měla být menší než 30, jinak je test neplatný a výsledky nelze použít pro diagnózu.

Ct pozitivní kontroly v každém kanálu musí být menší než 30, aby byla kontrola platná. Pokud je v některém z kanálů pozorována hodnota Ct nad 30, je test neplatný a výsledky nelze použít pro diagnostiku.

Kontrola kvality chodu přístroje by měla být prověřena před interpretací výsledků pacienta. Pokud kontroly nejsou platné, výsledky pacienta nelze interpretovat.

- **Vnitřní kontrola v každém vzorku** - slouží také jako kontrola extrakce nukleové kyseliny která ověřuje jak kvalitu odběru vzorku, tak postup extrakce nukleotidů a integritu činidla. V testech této testovací soupravy se měří vnitřní kontrola v kanálu HEX. Pokud vzorek nevykazuje žádnou exponenciální amplifikační křivku v kanálu HEX, ale exponenciální křivku v kanálu FAM, je vzorek stále uváděn jako platný a bude interpretován podle následujících pokynů. Pokud v žádném kanálu ve vzorku není žádná exponenciální amplifikační křivka, je výsledek testu vzorku neplatný a je třeba odebrat, zpracovat a znovu otestovat nový vzorek pacienta.

Odečítání a interpretace výsledků vzorku pacienta:

Hodnocení výsledků klinických vzorků by mělo být provedeno poté, co byly pozitivní a negativní kontroly vyšetřeny a stanoveny jako platné a přijatelné. Pokud kontroly nejsou platné, výsledky pacienta nelze interpretovat.

Zůstává nastavená hranice kanálu FAM/HEX nastavená výše (pod pozitivní kontrolou)

- Interpretace výsledků testu - exponenciální amplifikační křivka, která se objevuje na kterémkoli ze dvou kanálů (**FAM / HEX**), Ct<50 ukazuje přítomnost odpovídajícího analyzovaného analytu, jak je uvedeno níže:

Kanál	analyt
FAM	ORF1ab a/nebo N
HEX	Vnitřní kontrola vzorku

Souhrn výsledků a interpretace

	FAM	HEX	Výsledek
Případ A	-	-	Nevalidní*
Případ B	-	+	SARS-CoV-2 nedekován
Případ C	+	+ nebo -	SARS-CoV-2 pozitivní

*Zahřejte 20 µl nevalidního vzorku v 1XES na 61 ° C, poté opakujte stejný postup, pokud bude také nevalidní, je třeba opakovat odběr.

OMEZENÍ

- Výkon detekční soupravy iAMP COVID-19 byl stanoven pouze pro vzorky výtěrů OP a NP. Jiné typy vzorků nebyly hodnoceny.
- Nesprávný odběr, přeprava nebo skladování vzorků může mít vliv na schopnost testu pracovat, jak je uvedeno.
- Falešně negativní výsledky mohou vyplynout z: nesprávného odběru, skladování a transportu vzorků, což vede k degradaci RNA SARS-CoV-2, stejně jako přítomnost inhibitorů molekulární detekce, mutaci viru SARS-CoV-2 mohou způsobit selhání. Postupujte podle pokynů k použití.
- Vlivy vakcín, antivirotik, antibiotik, chemoterapeutik nebo imunosupresiv nebyly hodnoceny.
- Detekční sada iAMP COVID-19 nemůže vyloučit respirační onemocnění způsobená jinými bakteriálními nebo virovými patogeny.
- Negativní výsledky nevylučují infekci virem SARS-CoV-2 a neměly by být jediným základem rozhodnutí o léčbě pacienta.
- Laboratoře jsou povinny hlásit výsledky v souladu s místními, státními a federálními orgány veřejného zdraví.

CHARAKTERISTIKA TESTU

Limit detekce (LoD) – Analytická senzitivita:

Analytická citlivost detekční soupravy iAMP COVID-19 byla stanovena ve studiích Limit of Detection (LoD) pomocí systému Biorad CFX96 Real-Time, Roche LightCycler 480 Instrument II a Atila PowerGene 9600 Plus Real-Time PCR Systém a Applied Biosystems™ 7500 Real-Time PCR Systems. Detekční souprava iAMP COVID-19 byla testována podle pokynů k použití za použití Accuplex™ SARS-CoV-2 RNA Verification Panel (SeraCare, 0505-0129) in all four instruments.

Kvůli konkurenci v multiplexovém testu může amplifikace cíle SARS-COV-2 zpomalit nebo úplně potlačit signál vnitřní kontroly. Proto vzorky s pozitivním fluorescenčním signálem pro cíle ORF-1ab / N jsou platné pozitivní i v nepřítomnosti vnitřní kontroly.

SARS-CoV-2 - Confirmatory LoD							
Target Level	Valid results	SARS-CoV-2 (N/ORF) Positive		SARS-CoV-2 (N/ORF) Detection Rate	Internal Control Positive		Internal Control Detection Rate
		n	Mean Ct		n	Mean Ct	
BioRad CFX96 Real-Time System							
10 cp/μL	20	20	15.39	100%	20	29.96	100%
Roche LightCycler Instrument II							
10 cp/μL	20	20	16.65	100%	20	29.49	100%
Atila PowerGene 9600 Plus Real-Time System.							
10 cp/μL	20	20	14.84	100%	20	34.95	100%
Applied Biosystems™ 7500 Real-Time PCR Systems.							
10 cp/μL	20	20	18.44	100%	19	38.78	95%

Všech 20 replikátů, které byly testovány, poskytly pozitivní výsledky pro SARS-CoV-2. Zatímco některé replikáty nebyly pro Gapdh (IC) stanoveny, na základě interpretace výsledků je LoD sady iAMP COVID-19 Detection Kit 10 kopií / μL vzorku pro všechny čtyři přístroje PCR (všimněte si, že interpretace výsledků vyžaduje platné pozitivní výsledky při absenci Gapdh).

Inkluzivita

Všechny oblasti hybridizující primery v ORF-1ab a N byly analyzovány *in silico* s použitím NCBI BLASTn a vykazovaly 100% shodu se všemi publikovanými úplnými genomovými sekvencemi SARS-CoV-2 z Genové banky (n = 154 k 21. březnu 2020)). Předpokládá se proto, že detekční souprava iAMP COVID-19 detekuje všechny v současné době cirkulující kmeny pro SARS-CoV-2.

Cross-reaktivita – Analytická specifická

Níže uvedený seznam organismů byl analyzován *in silico* na potenciální zkříženou reaktivitu s primery nebo sekvencemi sond v testu iAMP COVID-19. V detekční soupravě iAMP COVID-19 nebyly žádné primery a sondy s homologií $\geq 80\%$ s jinými druhy, a proto se neočekává zkřížená reaktivita s níže uvedenými organismy.

Organismy testované <i>in silico</i> analýza zkřížené reaktivity			
Pathogen	GenBank Acc#	Pathogen	GenBank Acc#
Human coronavirus 229E	NC_002645.1	Human parainfluenza virus 4a isolate HPIV4_DK(459)	KF483663.1
Human coronavirus OC43 strain ATCC VR-759	NC_006213.1	Human parainfluenza virus 4b strain 04-13	JQ241176.1
Human coronavirus HKU1	NC_006577.2	Influenza B B/Illinois/13/2005 segment 7	CY019500.1
Human coronavirus NL63	NC_005831.2	Human enterovirus 68 isolate NZ-2010-541	JX070222.1
SARS coronavirus B093	AY686864	Respiratory syncytial virus	NC_001803
MERS coronavirus isolate NL140422	MG021452.1	Human rhinovirus B3 strain SC2606	KY967365.1
Human metapneumovirus (hMPV) isolate 00-1	NC_039199	<i>Chlamydia pneumoniae</i> TW-183	NC_005043.1
Human parainfluenza virus 1 isolate NM001	KX639498.1	<i>Bordetella pertussis</i> strain B3921	CP011448.1
Human parainfluenza virus 2 isolate VIROAF10	KM190939.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UCBPP-PA14	CP000438.1
Human parainfluenza virus 3 strain HPIV3/AUS/3/2007	KF530243.1	<i>Streptococcus salivarius</i> CCHSS3	FR873481.1

Kromě toho byly organismy uvedené v následující tabulce analyzovány „mokrým“ testováním. Orofaryngeální výtěr odebraný od zdravých jedinců byl eluován 1x iAMP COVID-19 Elution Solution a směsí pufru pro vzorek "iAMP COVID-19 Sample Buffer Mix". Poté byla vyčištěna genomová DNA / RNA přidána do negativního vzorku orofaryngeálního výtěru v koncentraci 105 kopií genomu / μl vzorku. Vzorky byly zpracovány podle návodu. Pro každý organismus byly testovány tři repliky. Při testování s detekční soupravou iAMP COVID-19 nebyl v kanálu FAM (který je přiřazen SARS-CoV-2) pozorován žádný falešně pozitivní signál, zatímco amplifikační křivky pro vnitřní kontrolu v kanálu HEX se ukázaly očekávaným způsobem. U testovaných organismů nebyla pozorována žádná zkřížená reaktivita při uvedené koncentraci.

Organisms wet-tested in swab matrix	SARS-CoV-2 (N/ORF) Detection Rate
Human adenovirus 5 (ATCC VR-1516)	0% (0/3)
Influenza A (H1N1)	0% (0/3)
<i>Haemophilus influenzae</i>	0% (0/3)
<i>Legionella pneumophila</i>	0% (0/3)

<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	0% (0/3)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0% (0/3)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0% (0/3)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0% (0/3)
<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	0% (0/3)
<i>Candida albicans</i>	0% (0/3)

Studie endogenních interferenčních látek

Byly provedeny studie možných interferujících látek pro detekční soupravu iAMP COVID-19. Orofaryngeální výtěr odebraný od zdravých jedinců byl eluován 1x iAMP COVID-19 Elution Solution a směsí pufru pro vzorek "iAMP COVID-19 Sample Buffer Mix". Potom byla syntetická RNA SARS-CoV-2 (Kat. číslo 102024 Twist BioSciences) přidána do negativních vzorků orofaryngeálního výtěru v koncentraci 2,5x LoD (25 kopií / µl vzorku). Potenciálně rušivé látky uvedené v tabulce níže byly přidány k upraveným pozitivním vzorkům v uvedené koncentraci a vzorky byly zpracovány podle návodu.

Každá látka byla také přidána do negativního vzorku orofaryngeálního výtěru pro testování potenciálních falešných pozitivit.

Každá látka byla testována ve třech opakováních na upravené pozitivní vzorky a třech opakováních na negativní výtěry vzorků. Výsledky ukazují, že iAMP COVID-19 může dobře tolerovat všechny látky při koncentraci stejné nebo nižší než uvedené hodnoty bez významné interference. Nebyly pozorovány falešně pozitivní ani falešně negativní.

Potential Interfering Substance	Conc.	Positive Samples		Negative Samples
		Viral Strain Level	Results	Results
Mucin: bovine submaxillary gland, type I-S	2.5 mg/ml	2.5X LoD	3/3	0/3
Blood (human)	2.5% v/v	2.5X LoD	3/3	0/3
Afrin Original nasal spray	15% v/v	2.5X LoD	3/3	0/3
Basic Care allergy relief nasal spray (Glucocorticoid)	5% v/v	2.5X LoD	3/3	0/3
NeilMed Nasal gel	1.25%	2.5X LoD	3/3	0/3
GoodSense All Day Allergy, Cetirizine HCl Tablets 10 mg	1 mg/ml	2.5X LoD	3/3	0/3
Cepacol Sore Throat (benzocaine/menthol lozenges)	5 mg/ml	2.5X LoD	3/3	0/3
Zanamivir	3.3 mg/ml.	2.5X LoD	3/3	0/3
Tamiflu	2.2 µg/ml	2.5X LoD	3/3	0/3
Mupirocin ointment	5 mg/ml	2.5X LoD	3/3	0/3
tobramycin	4 µg/ml	2.5X LoD	3/3	0/3

Hodnocení klinické účinnosti

Klinické respirační vzorky byly testovány na dvou místech. Vzorky byly testovány s detekční soupravou iAMP COVID-19 podle pokynů k použití. Výsledky vzorků pro test Atila byly porovnány s výsledky jiných molekulárních testů COVID-19 použitých v každém místě). Výsledky jsou shrnuty v tabulce níže. Matricí vzorků klinických vzorků byly nasofaryngeální výtěry na obou místech.

Site 1	Comparator Test Positive	Comparator Test Negative	Total
Atila SARS-CoV-2 Positive	8	0	8
Atila SARS-CoV-2 Negative	0	10	10
Total	8	10	18

Klinické hodnocení iAMP COVID-19 Detection Kit (*Site 1: Atila PowerGene*)

PPA: $8/8 = 100\%$, (95% CI: 67.6%-100%)

NPA: $10/10 = 100\%$, (95% CI: 72.3%- 100%)

Site 2	Comparator Test Positive	Comparator Test Negative	Total
Atila SARS-CoV-2 Positive	24	1	25
Atila SARS-CoV-2 Negative	1	32	33
Total	25	33	58

Klinické hodnocení iAMP COVID-19 Detection Kit (*site 2: ABI7500*)

PPA: $24/25 \times 96\% = 96.3\%$, (95% CI: 80.5%-99.3%)

NPA: $58/60 \times 100\% = 97.0\%$, (95% CI: 84.7%- 99.5%)



Atila BioSystems, Inc.

740 Sierra Vista Ave, Suite E

Mountain View, CA, 94043, USA

Tel: +1 (650)-968-8848

Email: info@atilabiosystems.com

Distribuce:

ASCO-MED spol. s r.o.

Pod Cihelnou 664/6

161 00 Praha 6

Mgr. Irena Šejbová

irena.sejbova@ascomed.cz

tel: 602 653 640