

## Návod k použití

# AltoStar<sup>®</sup> EBV PCR Kit 1.5

10/2021 CS



# AltoStar<sup>®</sup>

## EBV PCR Kit 1.5

Pro použití s

CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad)

CFX96™ Dx System (Bio-Rad)

ABI Prism<sup>®</sup> 7500 SDS (Applied Biosystems)

LightCycler<sup>®</sup> 480 Instrument II (Roche)

QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems)

Rotor-Gene<sup>®</sup> Q5/6 plex Platform (QIAGEN)



AS0131543



96



10 2021



altaona Diagnostics GmbH • Mörkenstr. 12 • D-22767 Hamburg

## Obsah

<b>1.</b>	<b>O tomto návodu k použití .....</b>	<b>8</b>
<b>2.</b>	<b>Zamýšlené použití .....</b>	<b>9</b>
<b>3.</b>	<b>Obsah sady .....</b>	<b>10</b>
<b>4.</b>	<b>Skladování a manipulace .....</b>	<b>11</b>
4.1	Skladování .....	11
4.2	Manipulace .....	12
4.2.1	Master A a Master B .....	12
4.2.2	Kvantifikační standardy a No Template Control (kontrola bez templátu).....	13
<b>5.</b>	<b>Popis výrobku .....</b>	<b>13</b>
5.1	Základní informace .....	14
5.2	Popis složky.....	14
5.2.1	Master A a Master B .....	14
5.2.2	Kvantifikační standardy .....	14
5.2.3	No Template Control (Kontrola bez templátu) .....	15
5.3	Pracovní postupy.....	15
5.3.1	AltoStar® Workflow (Pracovní proces AltoStar®).....	15
5.3.2	Další pracovní postupy .....	16
5.3.2.1	Extrakce nukleové kyseliny .....	16
5.3.2.2	Přístroje pro real-time PCR .....	17
5.4	Vzorky.....	17
5.4.1	Typy vzorků .....	17
5.4.2	Odběr vzorků a manipulace s nimi .....	18
<b>6.</b>	<b>Varování, bezpečnostní opatření a omezení.....</b>	<b>19</b>

<b>7.</b>	<b>Použití sady AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 s AltoStar® Workflow (Pracovní proces AltoStar®) .....</b>	<b>21</b>
7.1	Objem vzorku .....	21
7.2	Zkumavky se vzorkem.....	21
7.3	Čárové kódy vzorku.....	21
7.4	Materiál a zařízení vyžadované, ale nedodávané pro AltoStar® Workflow (Pracovní proces AltoStar®).....	22
7.5	Obecný materiál a zařízení.....	23
7.6	Postup .....	24
7.6.1	Přehled práce s AltoStar® Workflow (Pracovní proces AltoStar®).....	24
7.6.2	Programování běhu AltoStar® .....	30
7.6.3	Spuštění nastavení běhu PCR.....	30
7.6.3.1	Příprava reagensí pro nastavení běhu PCR.....	31
7.6.3.2	Vkládání do systému AltoStar® AM16 pro nastavení běhu PCR.....	32
7.6.3.3	Během nastavení běhu PCR.....	35
7.6.4	Konec nastavení běhu PCR .....	35
7.6.4.1	Výsledky nastavení běhu PCR.....	36
7.6.5	Utěsnění PCR destičky.....	38
7.6.5.1	Stabilita směsi PCR.....	40
7.6.6	Spuštění běhu PCR.....	40
7.6.6.1	V průběhu běhu PCR .....	41
7.6.6.2	Přiřazení testů do skupin jamek .....	41
7.6.7	Analýza dat PCR .....	44
7.6.7.1	Korekce mezní hodnoty.....	46
7.6.7.2	Vyloučení nepravidelných signálů PCR .....	48
7.6.7.3	Nastavení prahových hodnot.....	52
7.6.8	Platnost výsledků PCR.....	56
7.6.8.1	Vyloučení jamek obsahujících neplatná data .....	56

7.6.8.2	Platnost diagnostického běhu PCR (kvalitativní).....	59
7.6.8.3	Platnost diagnostického běhu PCR (kvantitativní) .....	59
7.6.8.4	Platnost výsledků pro vzorek.....	60
7.6.9	Export výsledků PCR pro automatickou interpretaci výsledků .....	61
7.6.10	Export výsledků PCR pro ruční interpretaci výsledků.....	62
7.6.10.1	Ruční interpretace výsledků .....	64
<b>8.</b>	<b>Použití výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 s jinými přístroji pro real-time PCR, než je systém CFX96™ Deep Well Dx System.....</b>	<b>66</b>
8.1	Požadovaný, ale nedodaný materiál a zařízení.....	66
8.2	Postup .....	67
8.2.1	Příprava vzorku .....	67
8.2.2	Nastavení master mixu.....	68
8.2.3	Nastavení reakce.....	68
8.2.4	Běh PCR.....	70
8.2.4.1	Programování přístroje pro real-time PCR.....	70
8.2.4.2	Nastavení běhu .....	70
8.2.5	Analýza dat.....	71
<b>9.</b>	<b>Data o výkonu.....</b>	<b>72</b>
9.1	Plazma.....	72
9.1.1	Analytická citlivost .....	72
9.1.2	Analytická specifická .....	74
9.1.2.1	Negativní vzorky.....	74
9.1.2.2	Interferující látky .....	74
9.1.2.3	Zkřížená reaktivita .....	75
9.1.3	Lineární rozsah.....	76
9.1.4	Přesnost .....	77
9.1.5	Celková míra selhání.....	79
9.1.6	Přenos .....	79

9.1.7	Klinický výkon .....	79
9.2	Plná krev .....	81
9.2.1	Analytická citlivost .....	81
9.2.2	Analytická specifická .....	83
9.2.2.1	Negativní vzorky .....	83
9.2.2.2	Interferující látky .....	83
9.2.2.3	Zkřížená reaktivita .....	84
9.2.3	Lineární rozsah .....	85
9.2.4	Přesnost .....	86
9.2.5	Celková míra selhání .....	87
9.2.6	Přenos .....	87
9.2.7	Klinický výkon .....	87
<b>10.</b>	<b>Likvidace .....</b>	<b>90</b>
<b>11.</b>	<b>Kontrola kvality .....</b>	<b>90</b>
<b>12.</b>	<b>Technická podpora .....</b>	<b>91</b>
<b>13.</b>	<b>Literatura.....</b>	<b>91</b>
<b>14.</b>	<b>Ochranné známky a prohlášení o vyloučení odpovědnosti.....</b>	<b>92</b>
<b>15.</b>	<b>Symboly .....</b>	<b>93</b>
<b>16.</b>	<b>Protokol testu pro software AltoStar® Connect a informace pro integraci LIMS.....</b>	<b>95</b>
<b>17.</b>	<b>Historie revizí.....</b>	<b>97</b>

## 1. O tomto návodu k použití

Tento návod k použití je pro uživatele vodítkem při používání výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5. Kapitoly 1–6 a 9–14 obsahují obecné informace a pokyny, které se vztahují na každý pracovní postup používaný s výrobkem AltoStar® EBV PCR Kit 1.5. V kapitole 7 jsou uvedeny pokyny, jak výrobek používat s systémem AltoStar® Automation System AM16 (Automatizační systém AltoStar® AM16) (Hamilton; v následujícím textu shrnuto jako AltoStar® AM16) se softwarem AltoStar® Connect (verze 1.7.4 nebo vyšší, Hamilton) pro automatizované nastavení PCR a na systému CFX96™ Deep Well Dx System\* (Bio-Rad, v následujícím textu shrnuto jako CFX96™ DW Dx) se softwarem CFX Manager™ Dx (verze 3.1, Bio-Rad) pro real-time PCR. Kapitola 8 obsahuje pokyny k použití výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 ve spojení s jinými metodami extrakce nukleové kyseliny a přístroji pro real-time PCR. Podrobnosti o použití systému AltoStar® AM16, softwaru AltoStar® Connect, AltoStar® Purification Kit 1.5, AltoStar® Internal Control 1.5 a CFX96™ DW Dx naleznete v příslušných návodech k použití uvedených níže:

- Návod k obsluze IVD automatizačního systému AltoStar® AM16 (Hamilton)
- Příručka k softwaru IVD AltoStar® Connect (Hamilton)
- Návod k použití AltoStar® Purification Kit 1.5
- Návod k použití AltoStar® Internal Control 1.5
- Systémy CFX96™ Dx a CFX96™ Deep Well Dx Návod k obsluze

\* „CFX96™ Deep Well Dx System“ je nový obchodní název pro IVD verzi CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad).



V této příručce mají výrazy UPOZORNĚNÍ a POZNÁMKA následující význam:

#### UPOZORNĚNÍ



Upozorňuje na provozní pokyny nebo postupy, jejichž nesprávné dodržování může vést ke zranění osob nebo ovlivnit výkon výrobku. Pro pomoc se obraťte na technickou podporu společnosti altona Diagnostics.

#### POZNÁMKA



Uživatelé jsou poskytovány informace, které jsou užitečné, ale pro daný úkol nejsou podstatné.

Před použitím výrobku si pečlivě přečtěte návod k použití.

## 2. Zamýšlené použití

AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 je *in vitro* diagnostický test založený na technologii real-time PCR pro detekci a kvantifikaci specifické DNA viru Epstein-Barrové v lidské plazmě a plné krvi. Jeho zamýšlené použití je jako pomůcka pro diagnostiku EBV infekce a pro sledování zátěže EBV u osob s EBV infekcí.

Výsledky získané pomocí výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 je třeba interpretovat ve spojení s dalšími klinickými a laboratorními nálezy.

Výrobek AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 je určen pro profesionální uživatele vyškolené v molekulárně biologických technikách a *in vitro* diagnostických postupech.

### 3. Obsah sady

Výrobek AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 obsahuje následující složky:

**Tabulka 1:** Součásti sady

Barva víka	Složka	Počet zkumavek	Nominální objem [μl/zkumavku]
Modrá	Master A <sup>1)</sup>	8	60 <sup>2)</sup>
Fialová	Master B <sup>1)</sup>	8	180 <sup>3)</sup>
Červená	QS1 <sup>4)</sup>	2	250
Červená	QS2 <sup>4)</sup>	2	250
Červená	QS3 <sup>4)</sup>	2	250
Červená	QS4 <sup>4)</sup>	2	250
Bílá	NTC <sup>5)</sup>	2	250

<sup>1)</sup> Obsahuje biologický materiál živočišného původu

<sup>2)</sup> Obsahuje dodatečný objem 25 μl, který kompenzuje mrtvý objem systému AltoStar® AM16 pro manipulaci s kapalinami

<sup>3)</sup> Obsahuje dodatečný objem 55 μl, který kompenzuje mrtvý objem systému AltoStar® AM16 pro manipulaci s kapalinami

<sup>4)</sup> Kvantifikační standard (pozitivní kontrola)

<sup>5)</sup> No Template Control [Kontrola bez templátu (negativní kontrola)]

#### UPOZORNĚNÍ



Před prvním použitím zkontrolujte úplnost výrobku a jeho složky z hlediska počtu, typu a náplně. Nepoužívejte vadný nebo nekompletní výrobek, protože by mohlo dojít k ohrožení účinnosti výrobku.

Výrobek AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 obsahuje dostatek reagentů pro provedení 96 reakcí v maximálním počtu 8 cyklů.

Výrobek se přepravuje na suchém ledu. Po obdržení a před prvním použitím zkontrolujte, zda výrobek a jeho složky:

- Integrita
- Úplnost z hlediska počtu, typu a náplně
- Správné označování
- Datum expirace
- Zmrazený stav
- Průhlednost a nepřítomnost částic

Pokud jedna nebo více složek výrobku není při převzetí zmrazena, pokud byly trubičky během přepravy poškozeny nebo chybí, kontaktujte technickou podporu společnosti altona Diagnostics a požádejte o pomoc (viz kapitola 12. Technická podpora).

## 4. Skladování a manipulace

Všechny reagentie obsažené ve výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 jsou roztoky připravené k použití.

### 4.1 Skladování

Všechny složky výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 musí být po doručení skladovány při teplotě -25 °C až -15 °C.

#### UPOZORNĚNÍ



Nesprávné skladovací podmínky by mohly ohrozit funkčnost výrobku.

#### UPOZORNĚNÍ



Nepoužívejte výrobky po uplynutí data expirace. Použití výrobků s prošlým datem expirace by mohlo ohrozit výkonnost výrobku.

## 4.2 Manipulace

### UPOZORNĚNÍ



Nepřekračujte pořadí rozmrazování a zmrazování a dobu manipulace uvedenou v tomto návodu k použití, protože by to mohlo ohrozit vlastnosti výrobku.

### UPOZORNĚNÍ



Nesprávná manipulace se složkami výrobku a vzorky může způsobit kontaminaci a ohrozit výkon výrobku:

- Nezaměňujte uzávěry lahvíček.
- Pozitivní a/nebo potenciálně pozitivní materiál skladujte odděleně od součástí sady.
- Používejte oddělené pracovní prostory pro přípravu vzorku/nastavení reakce a amplifikaci/detekci.
- Po manipulaci s pozitivním a/nebo potenciálně pozitivním materiálem vždy zlikvidujte jednorázové rukavice.
- Po amplifikaci neotvírejte PCR destičky a/nebo zkumavky.

### UPOZORNĚNÍ



Nemíchejte složky z různých šarží sady. Použití různých šarží sady by mohlo ohrozit výkonnost výrobku.

### 4.2.1 Master A a Master B

Po rozmrazení jsou Master A a Master B stabilní po dobu 5 hodin při teplotě do +30 °C.

### POZNÁMKA



Pokud byly Master A a Master B rozmrazeny, ale nebyly použity, lze je znovu zmrazit a znovu rozmrazit pro pozdější použití. Po otevření víka vyhodte a použijte nová, aby nedošlo ke kontaminaci reagentů.

## 4.2.2 Kvantifikační standardy a No Template Control (kontrola bez templátu)

1. Po rozmrazení jsou kvantifikační standardy (QS) a No Template Control (kontrola bez templátu, NTC) stabilní po dobu 5 hodin při teplotě do +30 °C.
2. Při každém použití vyhodte víka zkumavek QS a NTC a použijte nová víka, aby nedošlo ke kontaminaci reagensů.
3. Po použití uzavřete zkumavky QS a NTC novými víky a okamžitě je zmrazte.
4. Nepřekračujte následující pořadí rozmrazování a zmrazování pro každou zkumavku QS a NTC: *Rozmrazení 1* → *Zmrazení 1* → *Rozmrazení 2* → *Zmrazení 2* → *Rozmrazení 3* → *Zmrazení 3* → *Rozmrazení 4*

## 5. Popis výrobku

AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 je *in vitro* diagnostický test pro detekci a kvantifikaci specifické DNA EBV v lidské plazmě a plné krvi.

Je založena na technologii real-time PCR, která využívá polymerázovou řetězovou reakci (PCR) pro amplifikaci EBV specifických cílových sekvencí a fluorescenčně značené cílové specifické sondy pro detekci amplifikované DNA.

Kromě EBV DNA specifického amplifikačního a detekčního systému obsahuje test oligonukleotidy pro amplifikaci a detekci interní kontroly (dále zkráceně IC; AltoStar® Internal Control 1.5).

Sondy specifické pro EBV DNA jsou označeny fluoroforem FAM™. Sonda specifická pro IC je označena fluoroforem (JOE™) detekovatelným např. v kanálu VIC™.

Použití sond spojených s rozlišitelnými barvami umožňuje paralelní detekci EBV specifické DNA a IC v odpovídajících detekčních kanálech použitého přístroje pro real-time PCR.

## 5.1 Základní informace

Virus Epstein-Barr (EBV) patří do čeledi *Herpesviridae*. Skládá se z dvouvláknového genomu DNA o délce přibližně 172 kbp, který existuje jak v lineární formě ve zralém virionu, tak v cirkulární, epizomální formě v latentně infikovaných buňkách. EBV infikuje především lymfoidní buňky linie B. EBV je mezi *Herpesviridae* jedinečný svou schopností transformovat prekurzorové a zralé lidské B lymfocyty a přeměnit je na lymfoblastoidní linie. EBV je etiologickým původcem infekční mononukleózy. Virem se někdy během života nakazí prakticky každý. Dětské infekce bývají většinou asymptomatické. EBV je spojován s některými druhy rakoviny, včetně Burkittova lymfomu a karcinomu nosohltanu (NPC). Tento virus je také stále více považován za důležitého virového agens u příjemců transplantátů [1,2,3].

## 5.2 Popis složky

### 5.2.1 Master A a Master B

Master A a Master B obsahují všechny složky (PCR pufr, DNA polymerázu, hořečnatou sůl, primery a sondy), které umožňují PCR zprostředkovanou amplifikaci a cílovou detekci EBV specifické DNA a IC v jednom nastavení reakce.

### 5.2.2 Kvantifikační standardy

QS obsahují standardizované koncentrace specifické EBV DNA (viz tabulka 2). Byly kalibrovány podle 1. mezinárodního standardu WHO pro virus Epstein-Barr pro techniky amplifikace nukleových kyselin (kód NIBSC: 09/260) [4]. QS se používají k ověření funkčnosti systému amplifikace a detekce specifické EBV DNA a k vytvoření standardní křivky, která umožňuje kvantifikaci specifické EBV DNA ve vzorku.

**Tabulka 2:** Kvantifikační standardy

Kvantifikační standard	Koncentrace [IU/μl]
QS1	1,00E+04
QS2	1,00E+03
QS3	1,00E+02
QS4	1,00E+01

### 5.2.3 No Template Control (Kontrola bez templátu)

NTC neobsahuje žádnou EBV specifickou DNA, ale obsahuje templát IC. NTC se používá jako negativní kontrola pro EBV DNA specifickou real-time PCR a indikuje možnou kontaminaci Master A a Master B.

## 5.3 Pracovní postupy

### 5.3.1 AltoStar® Workflow (Pracovní proces AltoStar®)

AltoStar® Workflow (Pracovní proces AltoStar®) zahrnuje následující výrobky IVD:

- AltoStar® Automation System AM16 (Automatizační systém AltoStar® AM16) (Hamilton)
- Software AltoStar® Connect verze 1.7.4 nebo vyšší (Hamilton)
- Systém CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad) se softwarem CFX Manager™ Dx verze 3.1 (Bio-Rad)

Pracovní postup zahrnuje následující kroky:

1. Programování běhu AltoStar®.
2. Purifikační běh na systému AltoStar® AM16 s použitím sady AltoStar® Purification Kit 1.5 a interní kontroly AltoStar® Internal Control 1.5.
3. Nastavení běhu PCR na systému AltoStar® AM16 pomocí AltoStar® EBV PCR Kit 1.5.
4. Real-time běh PCR na zařízení CFX96™ DW Dx.

Další podrobnosti o krocích 3 a 4 pracovního postupu naleznete v kapitole 7. Použití sady AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 s AltoStar® Workflow (Pracovní proces AltoStar®). Na systému AltoStar® AM16 lze současně zpracovávat všechny typy vzorků a objemy vzorků určené pro použití se sadou AltoStar® Purification Kit 1.5. Každý vzorek lze analyzovat paralelně tolika testy real-time PCR, kolik umožňuje dostupný eluát.

### POZNÁMKA



Testy s rozdílnými teplotními profily PCR jsou automaticky tříděny na samostatné PCR destičky.

## 5.3.2 Další pracovní postupy

Výrobek AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 se používá s kompatibilními pracovními postupy (manuálními nebo automatizovanými). Přístroje pro real-time PCR, které byly validovány pro použití s výrobkem AltoStar® EBV PCR Kit 1.5, jsou uvedeny v kapitole 5.3.2.2 Přístroje pro real-time PCR. Použití alternativních postupů extrakce musí být ověřeno uživatelem.

### 5.3.2.1 Extrakce nukleové kyseliny

AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 lze použít s jinými systémy pro extrakci nukleových kyselin než AltoStar® AM16. Alternativní postupy používané pro extrakci nukleových kyselin musí být validovány uživatelem. Pokyny k použití interní kontroly AltoStar® Internal Control 1.5 v kombinaci s jinými extrakčními metodami, než je sada AltoStar® Purification Kit 1.5, naleznete v kapitole 8.2.1 Příprava vzorku.



### 5.3.2.2 Přístroje pro real-time PCR

Výrobek AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 byl vyvinut a validován s následujícími přístroji pro real-time PCR:

- CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad)
- CFX96™ Dx System (Bio-Rad)
- ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
- LightCycler® 480 Instrument II (Roche)
- QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems)
- Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)

Při použití některého z výše uvedených přístrojů pro real-time PCR (s výjimkou systému CFX96™ Deep Well Dx) je třeba nastavení PCR, programování přístroje i analýzu dat provést ručně (podrobnosti viz kapitoly 8.2.2 Nastavení master mixu až 8.2.5 Analýza dat).

## 5.4 Vzorky

### 5.4.1 Typy vzorků

Pro použití s výrobkem AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 jsou validovány následující typy vzorků:

- Lidská plazma EDTA
- Lidská citrátová plazma
- Lidská plná krev EDTA
- Lidská citrátová plná krev

#### UPOZORNĚNÍ



Nepoužívejte jiné typy vzorků! Použití jiných typů vzorků by mohlo ohrozit výkonost výrobku.

## 5.4.2 Odběr vzorků a manipulace s nimi

Krev musí být odebrána pomocí komerčně dostupných standardních systémů pro odběr krve (např. Sarstedt, Becton Dickinson, Greiner nebo ekvivalent). Obsah zkumavky by se měl promíchat bezprostředně po odběru vzorku. Vzorky krve by měly být přepravovány chlazené při teplotě +2 °C až +8 °C. Přeprava by měla probíhat podle místních a vnitrostátních pokynů pro přepravu biologického materiálu. Krev by se před použitím neměla skladovat déle než 48 hodin při pokojové teplotě (+20 °C až +25 °C), 3 dny při +2 °C až +8 °C nebo 7 dní při -25 °C až -15 °C.

Pro získání plazmy EDTA by měla být plná krev centrifugována podle pokynů výrobce odběrového systému do 24 hodin po odběru. Plazma EDTA by se před použitím neměla skladovat déle než 48 hodin při pokojové teplotě (+20 °C až +25 °C), 5 dní při +2 °C až +8 °C nebo 2 měsíce při -25 °C až -15 °C.

### UPOZORNĚNÍ



Se vzorky vždy zacházejte jako s infekčním a (bio)nebezpečným materiálem v souladu s bezpečnostními a laboratorními postupy. Při rozlité vzorku materiálu neprodleně použijte vhodný dezinfekční prostředek. S kontaminovanými materiály nakládejte jako s biologicky nebezpečnými.

### POZNÁMKA



Skladování vzorků ve zmrazeném stavu neohrožuje výkonost sady. Při práci se zmrazenými vzorky se ujistěte, že jsou vzorky před použitím zcela rozmrazeny a řádně promíchány.

## 6. Varování, bezpečnostní opatření a omezení

- Před prvním použitím zkontrolujte úplnost výrobku a jeho složky z hlediska počtu, typu a náplně. Nepoužívejte vadný nebo nekompletní výrobek, protože by mohlo dojít k ohrožení účinnosti výrobku.
- Nesprávné skladovací podmínky by mohly ohrozit funkčnost výrobku.
- Nepoužívejte výrobky po uplynutí data expirace. Použití výrobků s prošlým datem expirace by mohlo ohrozit výkonnost výrobku.
- Nepřekračujte pořadí rozmrazování a zmrazování a dobu manipulace uvedenou v tomto návodu k použití, protože by to mohlo ohrozit vlastnosti výrobku.
- Nesprávná manipulace se složkami výrobku a vzorky může způsobit kontaminaci a ohrozit výkon výrobku:
  - Nezaměňujte uzávěry lahvíček.
  - Pozitivní a/nebo potenciálně pozitivní materiál skladujte odděleně od součástí sady.
  - Používejte oddělené pracovní prostory pro přípravu vzorku/nastavení reakce a amplifikaci/detekci.
  - Po manipulaci s pozitivním a/nebo potenciálně pozitivním materiálem vždy zlikvidujte jednorázové rukavice.
  - Po amplifikaci neotvírejte PCR destičky a/nebo zkumavky.
- Nemíchejte složky z různých šarží sady. Použití různých šarží sady by mohlo ohrozit výkonnost výrobku.
- Nepoužívejte jiné typy vzorků! Použití jiných typů vzorků by mohlo ohrozit výkonnost výrobku.
- Se vzorky vždy zacházejte jako s infekčním a (bio)nebezpečným materiálem v souladu s bezpečnostními a laboratorními postupy. Při rozlití vzorku materiálu neprodleně použijte vhodný dezinfekční prostředek. S kontaminovanými materiály nakládejte jako s biologicky nebezpečnými.
- Skladování eluátů za nesprávných podmínek může vést k degradaci EBV cílové sekvence a může ohrozit výkonnost produktu.
- Nepoužívejte jinou verzi protokolu testu než tu, která je uvedena na 2D čárovém kódu v tomto návodu k použití. Použití nesprávné verze protokolu testu by mohlo ohrozit výkonnost produktu.

- Nedostatečná centrifugace složek produktu po rozmrazení může způsobit kontaminaci více zbytky reagensů a může ohrozit výkonnost produktu.
- Uzávěry zkumavek nepoužívejte opakovaně, aby nedošlo ke kontaminaci reagensů, protože by to mohlo ohrozit výkonnost produktu.
- Stejně jako u každého diagnostického testu se výsledky interpretují s ohledem na všechny klinické a laboratorní nálezy.
- Přítomnost inhibitorů PCR (např. heparinu) by mohla způsobit falešně negativní nebo neplatné výsledky.
- Pro nastavení master mixu nepoužívejte jiné objemy Master A a Master B, než je uvedeno v tomto návodu k použití, protože by to mohlo ohrozit výkonnost produktu.
- Nepřekračujte dobu skladování směsi PCR, protože by to mohlo ohrozit výkonnost produktu.
- Během nastavení PCR nebo přenosu do přístroje pro PCR nepomíchejte vzorky nebo ID vzorků. To by mohlo vést k falešně pozitivním nebo falešně negativním výsledkům v důsledku nesprávného přiřazení vzorků.
- Nepoužívejte jiné podmínky cyklování, než je uvedeno v tomto návodu k použití, protože by to mohlo ohrozit výkon výrobku.
- Pro analýzu dat nepoužívejte jiná kontrolní nastavení, než je uvedeno v tomto návodu k použití, protože by to mohlo vést k nesprávným výsledkům IVD vyšetření.
- V případě, že vzorek obsahuje jiné patogeny než EBV, může dojít ke konkurenci s cílovou amplifikací nebo ke křížové reaktivitě, což může způsobit nesprávné výsledky IVD vyšetření.
- Při likvidaci nebezpečného a biologického odpadu je třeba dodržovat místní a vnitrostátní předpisy, aby nedošlo ke kontaminaci životního prostředí.
- Případné mutace v cílových oblastech EBV genomu, na které se vztahují primery a/nebo sondy použité v sadě, mohou mít za následek nedostatečnou kvantifikaci a/nebo nezjištění přítomnosti patogenu.

## 7. Použití sady AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 s AltoStar® Workflow (Pracovní proces AltoStar®)

Následující část tohoto návodu k použití popisuje použití přístroje AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 ve spojení s AltoStar® Workflow (Pracovní proces AltoStar®). AltoStar® Workflow (Pracovní proces AltoStar®) zahrnuje různé výrobky IVD (AltoStar® AM16, software AltoStar® Connect, AltoStar® Purification Kit 1.5, AltoStar® Internal Control 1.5 a CFX96™ DW Dx). Použití těchto výrobků je podrobně popsáno v příslušných návodech k použití.

- Návod k obsluze IVD automatizačního systému AltoStar® AM16 (Hamilton)
- Příručka k softwaru IVD AltoStar® Connect (Hamilton)
- Návod k použití AltoStar® Purification Kit 1.5
- Návod k použití AltoStar® Internal Control 1.5
- Systemy CFX96™ Dx i CFX96™ Deep Well Dx Instrukcja obsługi (Bio-Rad)

### 7.1 Objem vzorku

Výrobek AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 je validován pro purifikaci nukleových kyselin z objemu vzorku 500 µl při použití systému AltoStar® AM16. Je třeba zajistit dodatečný objem vzorku, aby se zohlednil mrtvý objem použité zkumavky se vzorkem (viz kapitola 7.2 Zkumavky se vzorkem).

### 7.2 Zkumavky se vzorkem

Zkumavky se vzorkem vhodné pro použití na systému AltoStar® AM16 lze zakoupit u společnosti Altona Diagnostics (7 ml zkumavka s uzávěrem, 82 x 13 mm, VK000010). Uživatel může otestovat použitelnost jiných zkumavek se vzorkem. Další informace naleznete v návodu k použití sady AltoStar® Purification Kit 1.5.

### 7.3 Čárové kódy vzorku

Pro automatickou identifikaci vzorků pomocí systému AltoStar® AM16 musí být všechny zkumavky se vzorky označeny vhodným čárovým kódem. Další informace naleznete v návodu k použití sady AltoStar® Purification Kit 1.5.

## 7.4 Materiál a zařízení vyžadované, ale nedodávané pro AltoStar® Workflow (Pracovní proces AltoStar®)

Materiál a zařízení uvedené v tabulce 3 je nutné objednat u společnosti altona Diagnostics.

**Tabulka 3:** Požadovaný materiál a zařízení

Materiál	Popis	Objednáací číslo
AltoStar® Molecular Diagnostic Workflow	Sada výrobků obsahující AltoStar® Automation System AM16 (Automatizační systém AltoStar® AM16), software AltoStar® Connect (verze 1.7.4 nebo vyšší) a IT hardware	AM16
AltoStar® Detection	Sada výrobků obsahující CFX96™ Deep Well Dx System se softwarem CFX Manager™ Dx (verze 3.1), skenerem čárových kódů a IT hardwarem	DT16
AltoStar® Purification Kit 1.5	Chemie pro izolaci a purifikaci nukleových kyselin pro použití se systémem AltoStar® Automation System AM16 (Automatizační systém AltoStar® AM16)	PK15-16/ PK15-46
AltoStar® Internal Control 1.5	Extrakce nukleové kyseliny a amplifikace PCR a kontrola detekce	IC15-16/ IC15-46
PCR Plate	Vícevrstvá 96jamková destička s čárovým kódem a bílými jamkami	VK000005
PCR Plate Sealing Foil	Těsnicí fólie pro PCR destičky	VK000006
1,000 µl CO-RE Tips	Filtrační špičky o objemu 1 000 µl pro použití se systémem AltoStar® Automation System AM16 (Automatizační systém AltoStar® AM16)	VK000007
300 µl CO-RE Tips	Filtrační špičky o objemu 300 µl pro použití se systémem AltoStar® Automation System AM16 (Automatizační systém AltoStar® AM16)	VK000008

Materiál	Popis	Objednáací číslo
Pooling Tube	Zkumavka s čárovým kódem pro poolování reagentů pro PCR	VK000002
Waste Bag	Autoklávatelný sterilní pytel pro použití se systémem AltoStar® Automation System AM16 (Automatizační systém AltoStar® AM16)	VK000009
Screw Cap - red	Šroubovací uzávěr pro zkumavky QS1–QS4 (červený)	VK000012
Screw Cap - blue	Šroubovací uzávěr pro zkumavky Master A (modrý)	VK000013
Screw Cap - purple	Šroubovací uzávěr pro zkumavky Master B (fialový)	VK000015
Screw Cap - white	Šroubovací uzávěr pro zkumavky NTC (bílý)	VK000016

**Tabulka 4:** Další laboratorní materiál a zařízení

Materiál	Popis	Objednáací číslo
Utěšňovač destiček	např., AltoStar® Plate Sealer	VK000023
	např., PX1 Plate Sealer (Bio-Rad)	VK000033

## 7.5 Obecný materiál a zařízení

- Vortexový mixér
- Rukavice bez pudru (na jedno použití)
- Centrifuga pro centrifugaci složek AltoStar® EBV PCR Kit 1.5
- Centrifuga pro centrifugaci PCR destiček

## 7.6 Postup

### 7.6.1 Přehled práce s AltoStar® Workflow (Pracovní proces AltoStar®)

Kroky celého procesu AltoStar® Workflow (Pracovní proces AltoStar®) jsou shrnuty v tabulce 5. Informace o specifických nastaveních pro použití se sadou AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 jsou uvedeny v kapitole 7.6.2 Programování běhu AltoStar®. Podrobné pokyny pro kroky 1–5 naleznete v návodu k použití sady AltoStar® Purification Kit 1.5, softwaru AltoStar® Connect a systému AltoStar® AM16.

Kroky 6–11 jsou podrobněji popsány v kapitolách 7.6.3 Spuštění nastavení běhu PCR až 7.6.10 Export výsledků PCR pro ruční interpretaci výsledků.

**Tabulka 5:** Přehled práce s AltoStar® Workflow (Pracovní proces AltoStar®)

Krok	Akce
1. Spuštění systému AltoStar® AM16	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zapněte systém AltoStar® AM16.</li> <li>• Zapněte počítač a monitor.</li> <li>• Spusťte software AltoStar® Connect.</li> </ul>
2. Provádění údržby	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Na panelu nabídek klikněte na možnost <b>Application</b> → <b>Instrument Maintenance</b> (Aplikace → Údržba přístroje). <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ Pokud má být provedena týdenní údržba, klikněte na možnost <b>Start Weekly Maintenance</b> (Začít týdenní údržbu).</li> <li>◦ Pokud má být provedena denní údržba, klikněte na tlačítko <b>Start Daily Maintenance</b> (Začít denní údržbu).</li> </ul> </li> <li>• Při údržbě postupujte podle pokynů na obrazovce.</li> </ul>



Krok	Akce
3. Programování běhu AltoStar®	<ul style="list-style-type: none"><li>• Na panelu nabídek klikněte na možnost <b>Program Run</b> → <b>Program Run (AltoStar® Purification)</b> [Programovat běh → Programovat běh (Purifikace AltoStar®)]. Případně se vraťte na úvodní obrazovku a klikněte na tlačítko <b>Program Run</b> (Programovat běh).</li><li>• Zadejte vzorky nebo je importujte ze systému LIMS.</li><li>• Pro vzorky, pokud již nebyly importovány ze systému LIMS, vyberte následující test:<ul style="list-style-type: none"><li>◦ AltoStar® EBV PCR Kit 1.5</li></ul></li><li>• Kliknutím na tlačítko <b>Create Run</b> (Vytvořit běh) na panelu nástrojů vytvoříte běh AltoStar®.</li></ul>

Krok	Akce
4. Spuštění purifikačního běhu	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Na panelu nabídek klikněte na možnost <b>Purification</b> → <b>Start Purification</b> (Purifikace → Začít purifikaci). Případně se vraťte na úvodní obrazovku a klikněte na tlačítko <b>Start Purification</b> (Začít purifikaci).</li> <li>• Výběrem purifikačního běhu, který má být spuštěn, zobrazíte vzorky zahrnuté do vybraného purifikačního běhu.</li> <li>• Připravte si purifikační reagentie: <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ Ujistěte se, že purifikační reagentie, které mají být použity, mají stejné číslo vkládání (kromě AltoStar® Internal Control 1.5) a nejsou prošlé.</li> <li>◦ Pokud jsou v lyzačním pufru viditelné precipitáty, zahřejte je (<math>\leq +50</math> °C), dokud se zcela nerozpustí.</li> <li>◦ Rozmrazte IC (AltoStar® Internal Control 1.5) a 5 sekund vortexujte.</li> <li>◦ Magnetic Beads (Magnetické kuličky) vortexujte po dobu 5 sekund bez navlhčení víka.</li> </ul> </li> <li>• Připravte vzorky pro spuštění purifikačního běhu, jak je popsáno v návodu k použití sady AltoStar® Purification Kit 1.5.</li> <li>• Klikněte na tlačítko <b>Start Run</b> (Začít běh) na panelu nástrojů.</li> <li>• Postupujte podle dialogových oken pro vkládání a odpovídajícím způsobem přístroj naložte.</li> <li>• Potvrďte zprávu Loading complete (Vkládání dokončeno) tlačítkem <b>OK</b> nebo počkejte 10 sekund.</li> </ul> <p>System nyní automaticky provede purifikační běh.</p>

Krok	Akce
5. Dokončení purifikačního běhu	<ul style="list-style-type: none"><li>• Ujistěte se, že je vkladací zásobník prázdný, a potvrďte dialogové okno Run finished (Běh dokončen) tlačítkem <b>OK</b>.</li><li>• Postupujte podle pokynů v dialogovém okně Maintenance (Údržba) a potvrďte tlačítkem <b>OK</b>.</li><li>• Složky purifikační sady AltoStar® Purification Kit 1.5, které lze znovu použít, utěsněte a uložte.</li></ul> <p>Eluáty v neutěsněné eluční destičce jsou stabilní při pokojové teplotě (max. +30 °C) po dobu celkem 4 hodin.</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Pokud se související nastavení běhu PCR nezahájí ihned, utěsněte eluční destičku pomocí Eluate Plate Sealing Foil (Těsnicí fólie na eluční destičce) a uchovávejte ji při teplotě +2 °C až +8 °C po dobu až 24 hodin.</li><li>• Prohlédněte si výsledky purifikačního běhu, abyste potvrdili úspěšné zpracování každého vzorku.</li></ul>

Krok	Akce
6. Spuštění nastavení běhu PCR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Na panelu nabídek klikněte na možnost <b>PCR Setup</b> → <b>Start PCR Setup</b> (Nastavení PCR → Začít nastavovat PCR). Případně se vraťte na úvodní obrazovku a klikněte na tlačítko <b>Start PCR Setup</b> (Začít nastavovat PCR).</li> <li>• Vyberte nastavení běhu PCR, které má být spuštěno, aby se zobrazila eluční destička a reagentie obsažené ve vybraném nastavení běhu PCR.</li> <li>• Připravte si reagentie pro PCR: <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ Ujistěte se, že používané mastery a kontroly pocházejí ze stejné šarže sady a nejsou prošlé.</li> <li>◦ Rozmrazte požadované množství master a kontrolních zkumavek, krátce vortexujte a centrifugujte.</li> </ul> </li> <li>• Pokud je eluční destička utěsněna, krátce ji centrifugujte a opatrně odeberte těsnění.</li> <li>• Klikněte na tlačítko <b>Start Run</b> (Začít běh) na panelu nástrojů.</li> <li>• Postupujte podle dialogového okna Loading (Vkládání) a odpovídajícím způsobem přístroj naložte.</li> <li>• Potvrďte zprávu Loading complete (Vkládání dokončeno) tlačítkem <b>OK</b> nebo počkejte 10 sekund.</li> </ul> <p>Systém nyní automaticky provede nastavení běhu PCR.</p>
7. Dokončení nastavení běhu PCR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ujistěte se, že je vkládací zásobník prázdný, a potvrďte dialogové okno Run finished (Běh dokončen) tlačítkem <b>OK</b>.</li> <li>• Postupujte podle pokynů v dialogovém okně Maintenance (Údržba) a potvrďte tlačítkem <b>OK</b>.</li> <li>• Uzavřete a uložte součásti sady AltoStar® EBV PCR Kit 1.5, které lze znovu použít.</li> <li>• Zobrazte výsledky nastavení běhu PCR a potvrďte úspěšné zpracování každého vzorku.</li> </ul>
8. Utěsnění PCR destičky	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Utěsněte PCR destičku pomocí PCR Plate Sealing Foil (Těsnicí fólie pro PCR destičky)</li> </ul>

Krok	Akce
9. Spuštění běhu PCR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zapněte CFX96™ DW Dx, připojený počítač a monitor.</li> <li>• Spustíte software CFX Manager™ Dx.</li> <li>• Otevřete CFX96™ DW Dx.</li> <li>• Centrifugujte PCR destičku a vložte ji do CFX96™ DW Dx.</li> <li>• Na panelu nabídek vyberte možnost <b>File</b> → <b>Open</b> → <b>LIMS File...</b> (Soubor → Otevřít → Soubor LIMS....).</li> <li>• Naskenujte čárový kód PCR destičky pomocí ručního skeneru čárových kódů.</li> <li>• Zavřete CFX96™ DW Dx.</li> <li>• Kliknutím na tlačítko <b>Start Run</b> (Začít běh) spustíte běh PCR. Pojmenujte a uložte soubor běhu PCR.</li> </ul> <p>CFX96™ DW Dx nyní automaticky provede běh PCR.</p>
10. Oddělení testů pro individuální analýzu	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Oddělte všechny testy v běhu PCR do samostatných skupin jamek.</li> </ul>
11. Analýza dat a interpretace výsledků běhu PCR	<p>Pro každou skupinu jamek zvlášť:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Proveďte korekci mezní hodnoty linie ve všech jamkách pro všechny použité detekční kanály.</li> <li>• Vylučte jamky s nepravidelnými signály PCR.</li> <li>• Nastavte prahové hodnoty všech detekčních kanálů podle kontrol.</li> <li>• Vylučte jamky obsahující neplatná data.</li> <li>• Vygenerujte výsledkový soubor LIMS pro export výsledků do LIMS.</li> <li>• Vygenerujte zprávu o výsledku pro ruční interpretaci výsledků.</li> </ul>

## UPOZORNĚNÍ



Skladování eluátů za nesprávných podmínek může vést k degradaci EBV cílové sekvence a může ohrozit výkonost produktu.

## 7.6.2 Programování běhu AltoStar®

Podrobné informace o spuštění běhu AltoStar® naleznete v návodu k použití sady AltoStar® Purification Kit 1.5, softwaru AltoStar® Connect a systému AltoStar® AM16. Specifická nastavení pro použití s AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 jsou uvedena níže:

- Pro použití kvantitativních testů se volí QS1–4 a NTC a pro použití kvalitativních testů se volí QS4 a NTC.
- Požadovaný objem vzorku je 500 µl plus mrtvý objem příslušné zkumavky ze vzorkem (viz kapitoly 7.1 Objem vzorku a 7.2 Zkumavky se vzorkem).
- Požadovaný objem eluátu pro AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 je 10 µl.
- Ujistěte se, že je pro testování použita správná verze protokolu. Informace o aktuální verzi protokolu najdete v kapitole 16. Protokol testu pro software AltoStar® Connect a informace pro integraci LIMS. Příslušný protokol testu je zakódován v zobrazeném 2D čárovém kódu. Informace o purifikaci a importu protokolu testu do softwaru AltoStar® Connect naleznete v příslušném návodu k použití.

### UPOZORNĚNÍ



Nepoužívejte jinou verzi protokolu testu než tu, která je uvedena na 2D čárovém kódu v tomto návodu k použití. Použití nesprávné verze protokolu testu by mohlo ohrozit výkonnost produktu.

## 7.6.3 Spuštění nastavení běhu PCR

1. Na panelu nabídek vyberte možnost **PCR Setup** → **Start PCR Setup** (Nastavení PCR → Začít nastavovat PCR). Případně se vraťte na úvodní obrazovku softwaru AltoStar® Connect a vyberte tlačítko **Start PCR Setup** (Začít nastavovat PCR). Zobrazí se obrazovka Start PCR Setup Run (Začít nastavovat běh PCR).

Čekající nastavení běhu PCR se zobrazí v tabulce Programmed PCR Setup Runs (Naprogramované nastavení běhů PCR) na levé straně obrazovky.

2. V tabulce Programmed PCR Setup Runs (Naprogramované nastavení běhů PCR) vyberte nastavení běhu PCR, který má být spuštěn.
  - Vzorky ve vybraném nastavení běhu PCR jsou zobrazeny v tabulce v pravé horní části obrazovky [Samples in selected PCR Setup Run (Vzorky ve vybraném nastavení běhu PCR)].
  - QS a kontroly požadované pro vybrané nastavení běhu PCR jsou zobrazeny v tabulce v pravé střední části obrazovky [Controls in selected PCR Setup Run (Kontroly ve vybraném nastavení běhu PCR)].
  - Počet hlavních zkumavek potřebných pro vybrané nastavení běhu PCR se zobrazuje v tabulce v pravé dolní části obrazovky [Required master tubes for the selected PCR Setup Run (Požadované master zkumavky pro vybrané nastavení běhu PCR)].

#### POZNÁMKA



Počet prioritních vzorků v nastavení běhu PCR se zobrazuje ve sloupci **No. of prioritized Samples** (Počet prioritních vzorků). Nejprve proveďte nastavení běhu PCR s prioritními vzorky, abyste usnadnili co nejrychlejší zpracování prioritních vzorků.

Před kliknutím na tlačítko **Start Run** (Začít běh) na panelu nástrojů si připravte potřebné reagentie, jak je popsáno v kapitole 7.6.3.1 Příprava reagentií pro nastavení běhu PCR. Pokud byla eluční destička potřebná pro vybrané nastavení běhu PCR utěsněna pro skladování, připravte ji podle návodu k použití sady AltoStar® Purification Kit 1.5.

### 7.6.3.1 Příprava reagentií pro nastavení běhu PCR

1. Požadované QS, kontroly a požadovaný počet master zkumavek zcela rozmrazte při pokojové teplotě (max. +30 °C).
2. Reagentie promíchejte jemným vortexováním.
3. Zkumavky krátce centrifugujte, abyste odstranili z víka kapky.

#### UPOZORNĚNÍ



Nedostatečná centrifugace složek produktu po rozmrazení může způsobit kontaminaci více zbytky reagentií a může ohrozit výkonost produktu.

### 7.6.3.2 Vkládání do systému AltoStar® AM16 pro nastavení běhu PCR

Podrobné informace o procesu vkládání naleznete v návodu k použití systému AltoStar® AM16 a softwaru AltoStar® Connect.

1. Kliknutím na tlačítko **Start Run** (Začít běh) na panelu nástrojů na obrazovce Start PCR Setup Run (Začít nastavovat běh PCR) zobrazte dialogové okno Loading (Vkládání).

Dialogové okno Loading (Vkládání) se skládá z vizuálního znázornění plošiny AltoStar® AM16 v horní části a z tabulky, ve které jsou uvedeny nosiče, příslušné dráhy na plošině AltoStar® AM16 pro každý nosič, materiál, který se má naložit na každý nosič, a komentáře týkající se nakládání nosičů.

#### POZNÁMKA

Chcete-li zobrazit polohu položky na nosiči a polohu nosiče na plošině AltoStar® AM16, vyberte příslušný řádek tabulky v dialogovém okně Loading (Vkládání).



Vizualizuje se poloha položky a jejího nosiče:

- Červeně zvýrazněné ve vizuálním znázornění plošiny přístroje
- Na systému AltoStar® AM16 blikajícími kontrolkami vkládání nad drahami, na které je třeba umístit vybraný nosič

2. Vložte požadovaný materiál, připravenou destičku s eluátem a připravené reagensie na vhodné nosiče.
  - Na nosiči špiček vyměňujte pouze **zcela prázdné** stojany na špičky o objemu 1 000 µl za **zcela plné** stojany na špičky o objemu 1 000 µl.
  - Na nosiči špiček a destiček vyměňujte pouze **zcela prázdné** stojany na špičky o objemu 300 µl za **zcela plné** stojany na špičky o objemu 300 µl.

#### POZNÁMKA



Vyměňte stojany na špičky, které nejsou zcela prázdné, a manipulujte s jednotlivými špičkami, což může narušit automatickou správu špiček a způsobit přerušení běhu.



- Umístěte požadovanou eluční destičku s jamkou A1 vlevo od polohy černé destičky.
- Umístěte PCR destičku s jamkou A1 vlevo od polohy stříbrné přední destičky.
- Vložte nosič zkumavek 24 s jednou nepoužitou zkumavkou pro každý test v nastavení běhu PCR.
- Jemně zatlačte zkumavky až na dno nosiče a otáčejte jimi, dokud nebudou čárové kódy zkumavek viditelné přes okénko nosiče.
- Vložte do zkumavky 32 s reagensy složky testu potřebné pro nastavení běhu PCR.
- Jemně zatlačte zkumavky až na dno nosiče a otáčejte jimi, dokud nebudou čárové kódy zkumavek viditelné přes okénko nosiče.

#### POZNÁMKA



Poloha jednotlivých zkumavek na nosičích je libovolná.

#### POZNÁMKA



Systém před zpracováním nekontroluje objem vložených složek. Nedostatečný objem složky zabrání úspěšnému nastavení běhu PCR pro daný test.

#### POZNÁMKA



Spuštění nastavení běhu PCR s víky na zkumavkách může způsobit přerušování běhu při zpracování.

3. Nosiče vkládejte tak, aby čárový kód nosiče byl směrem dozadu a doprava.
4. Vložte osazené nosiče do příslušných drah mezi přední a zadní posuvné bloky vkladacího zásobníku, dokud se nedotknou dorazových háčků na vzdálenější straně vkladacího zásobníku.

#### POZNÁMKA



Zatlačením nosičů za dorazové háčky může dojít k poškození přístroje a narušení procesu vkládání.

5. Zkontrolujte, zda jsou destička na vyhazování špiček a nádoba na vyhozené špičky ve správné poloze a zda je do nádoby vložen nový sáček na odpad.
6. Kliknutím na tlačítko **OK** v dialogovém okně Loading (Vkládání) pokračujte v procesu vkládání.

### POZNÁMKA



Kliknutím na tlačítko **Cancel** (Zrušit) se nastavení běhu PCR zruší, ale lze jej znovu spustit (viz kapitola 7.6.3 Spuštění nastavení běhu PCR).

Systém AltoStar® AM16 vtáhne nosiče do přístroje a provede ověření čárového kódu.

### POZNÁMKA



Systém AltoStar® AM16 automaticky ověřuje:

- Správný typ a lokalizaci vložených nosičů
- Správnou identifikaci a polohu položek vložených na nosiče
- Slučitelnost šarží jednotlivých testovacích sad AltoStar®
- Neexpiraci všech vložených složek testu AltoStar®
- Správné umístění destičky na vyhazování špiček

Pokud některá z těchto kontrol selže, zobrazí se uživateli dialogové okno se zprávou, v níž je uveden problém a pokyny k jeho odstranění. Další informace o zpracování chyb naleznete v návodu k použití softwaru AltoStar® Connect.

### POZNÁMKA



Změna polohy jakékoli vložené položky po vložení nosiče do přístroje může vést k přerušení nastavení běhu PCR a/nebo k poškození přístroje.

Po dokončení všech kontrol se zobrazí dialogové okno Loading complete (Vkládání dokončeno).

7. Potvrďte dialogové okno Loading complete (Vkládání dokončeno) kliknutím na tlačítko **OK** nebo počkejte 10 sekund na automatické spuštění procesu.

#### POZNÁMKA



Kliknutím na tlačítko **Cancel** (Zrušit) se nastavení běhu PCR zruší, ale lze jej znovu spustit (viz kapitola 7.6.3 Spuštění nastavení běhu PCR).

Spustí se nastavení běhu PCR, které bude probíhat bez zásahu uživatele.

### 7.6.3.3 Během nastavení běhu PCR

Dokud není nastavení běhu PCR dokončeno, není nutná žádná další interakce uživatele. Zobrazí se obrazovka Processing Status (Stav zpracování), na které je uveden stav nastavení běhu PCR a odhadovaný zbývajcí čas.

#### POZNÁMKA



Zatlačení nebo vytažení nosičů nebo dvířek systému AltoStar® AM16 během nastavení běhu PCR může vést k přerušení běhu.

### 7.6.4 Konec nastavení běhu PCR

Na konci nastavení běhu PCR se zobrazí dialogové okno Run finished (Běh dokončen).

1. Ujistěte se, že je vkladací zásobník prázdný.
2. Dialogové okno Run finished (Běh dokončen) potvrďte kliknutím na tlačítko **OK**.

Systém AltoStar® AM16 vyloží nosiče. Dbejte na to, abyste nestáli v cestě vykládání nosičů.

Po vyložení se zobrazí dialogové okno Maintenance (Údržba).

3. Postupujte podle pokynů v dialogovém okně Maintenance (Údržba).

V tabulce dialogového okna je zobrazen počet reakcí v hlavních zkumavkách, které nebyly použity v nastavení běhu PCR.

4. Pokud má být ihned zahájeno další nastavení běhu PCR s použitím aktuálně vložené eluční destičky, může eluční destička zůstat na pozici nosiče neutěsněná. V případě, že tomu tak **není**, eluční destičku utěsněte a uložte. Další informace naleznete v návodu k použití sady AltoStar® Purification Kit 1.5.

#### POZNÁMKA



Eluáty v eluční destičce jsou stabilní při pokojové teplotě (max. +30 °C) po dobu celkem 4 hodin po dokončení purifikačního běhu.

5. Uzavřete zkumavky s reagensí vhodnými nepoužitými uzávěry zkumavek.

#### UPOZORNĚNÍ



Uzávěry zkumavek nepoužívejte opakovaně, aby nedošlo ke kontaminaci reagensí, protože by to mohlo ohrozit výkonost produktu.

6. Skladujte reagenzie pro opakované použití podle popisu v kapitole 4.2 Manipulace.
7. Použité materiály zlikvidujte (viz kapitola 10. Likvidace).
8. Dialogové okno Maintenance (Údržba) potvrďte kliknutím na tlačítko **OK**.

### 7.6.4.1 Výsledky nastavení běhu PCR

Výsledky nastavení běhu PCR jsou uloženy v softwaru AltoStar® Connect.

1. Kliknutím na možnost **PCR Setup** → **PCR Setup Results** (Nastavení PCR → Výsledky nastavení PCR) na panelu nabídek přejděte na obrazovku Results (Výsledky).

Na obrazovce Results (Výsledky) se zobrazí tabulka se všemi vzorky použitými v posledním nastavení běhu PCR a sloupec **Status** (Stav) vpravo ukazuje, zda byl proces nastavení PCR pro daný vzorek proveden úplně (viz tabulka 6).

**Tabulka 6:** Výsledky nastavení běhu PCR

Status (Stav)	Výsledky nastavení běhu PCR
Processed (Zpracováno)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eluát byl úspěšně zpracován v nastavení běhu PCR.</li> <li>• Výsledná směs PCR je připravena k použití pro běh PCR.</li> </ul>
Error (Chyba)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eluát nebyl úspěšně zpracován.</li> <li>• Příslušná směs PCR bude v následující analýze PCR automaticky vynechána.</li> </ul>

2. Chcete-li zobrazit výsledky předchozích nastavení běhu PCR, klikněte na tlačítko **Load** (Načíst) na panelu nabídek, vyberte požadované nastavení běhu PCR ze seznamu v otevřeném dialogovém okně Load Results (Načíst výsledky) a klikněte na tlačítko **OK**.

Software AltoStar® Connect automaticky vygeneruje 3 soubory s výsledky nastavení běhu PCR:

- Soubor LIMS (.xml) pro předání podrobných informací o průběhu nastavení běhu PCR včetně výsledků zpět do systému LIMS
- Zprávu (.pdf) obsahující podrobné informace o průběhu nastavení běhu PCR včetně výsledků pro dokumentační účely
- Soubor cykléru (.plrn) pro automatické programování CFX96™ DW Dx

Tyto soubory se ukládají do umístění uvedeného v systémových nastaveních softwaru AltoStar® Connect.

## POZNÁMKA



Soubory s výsledky nastavení běhu PCR lze opět vygenerovat načtením příslušného nastavení běhu PCR a kliknutím na tlačítko **Create LIMS File** (Vytvořit soubor LIMS) pro vygenerování souboru LIMS, na tlačítko **Create Report** (Vytvořit zprávu) pro vygenerování zprávy nebo na tlačítko **Create Bio-Rad Cyclser File** (Vytvořit soubor Bio-Rad cykléru) pro vygenerování souboru cykléru.

### 7.6.5 Utěsnění PCR destičky

Po dokončení nastavení PCR musí být PCR destička utěsněna pomocí PCR Plate Sealing Foil (Těsnicí fólie pro PCR destičky). Doporučuje se použít AltoStar® Plate Sealer [4s3™ Semi-Automatic Sheet Heat Sealer (4titude)] nebo PX1 PCR Plate Sealer (Bio-Rad). Vhodnost jiných než doporučených utěšňovačů destiček musí posoudit uživatel.

Pokud je k utěsnění použit některý z doporučených utěšňovačů destiček, postupujte následovně:

1. Zapněte utěšňovač destiček a ujistěte se, že adaptér na destičky není ve vkladacím zásobníku.
2. Ujistěte se, že je utěšňovač destiček nastaven takto:

**Tabulka 7:** Nastavení utěšňovače destiček

Utěšňovač destiček	Nastavení	
	Teplota [°C]	Čas [s]
AltoStar® Plate Sealer [4s3™ Semi-Automatic Sheet Heat Sealer (4titude)]	170	2
PX1 PCR Plate Sealer (Bio-Rad)	175	3

3. Počkejte, dokud nebude dosaženo nastavené teploty. To může trvat několik minut.
4. Umístěte PCR destičku na adaptér destiček utěšňovače destiček.
5. Umístěte jednu PCR Plate Sealing Foil (Těsnicí fólie pro PCR destičky) tak, aby byl čitelný nápis „THIS SIDE UP“ (TOU TO STRANOU NAHORU). Ujistěte se, že všechny jamky PCR desky jsou zakryty fólií a žádná jamka není zakryta nápisem.

## POZNÁMKA



Použití utěšňovače destiček bez adaptéru na destičky umístěného ve vkladacím zásobníku může způsobit, že utěšňovač nebude funkční. V takovém případě se obraťte na technickou podporu společnosti altona Diagnostics (viz kapitola 12. Technická podpora).

## POZNÁMKA



Pokud je PCR Plate Sealing Foil (Těsnicí fólie pro PCR destičky) nebo rámeček umístěn nesprávně, může se fólie během těsnění přilepit k topné desce v utěšňovači destiček. To způsobí, že utěšňovač bude nefunkční. V takovém případě, nebo pokud byl krok utěsnění zahájen bez PCR Plate Sealing Foil (Těsnicí fólie pro PCR destičky), nechte těsnicí fólii vychladnout na pokojovou teplotu a obraťte se na technickou podporu společnosti altona Diagnostics (viz kapitola 12. Technická podpora).

6. Sestavte utěšňovací rámeček na horní straně, aby držel těsnicí fólii.
7. Otevřete vkladací zásobník stisknutím tlačítka **Operate** (Provoz)\*/ \*\*.
8. Umístěte sestavu sestávající z adaptéru na destičky, PCR destičky, PCR Plate Sealing Foil (Těsnicí fólie pro PCR destičky) na PCR destičky a těsnicího rámečku do utěšňovače destiček a stiskněte tlačítko **Operate** (Provoz)\*/ \*\*.
9. Vkladací zásobník se automaticky zavře, po nastavenou dobu se utěsní a znovu se automaticky otevře.
10. Vyjměte utěsněnou PCR destičku a adaptér na destičky z utěšňovače destiček a zavřete utěšňovač destiček stisknutím tlačítka **Close** (Zavřít)\*/ \*\*.

\* AltoStar® Plate Sealer [4s3™ Semi-Automatic Sheet Heat Sealer (4titude)]

\*\*PX1 PCR Plate Sealer (Bio-Rad)

### 7.6.5.1 Stabilita směsi PCR

Po dokončení nastavení běhu PCR je směs PCR v uzavřené PCR destičce stabilní při pokojové teplotě (max. +30 °C) po dobu 30 minut.

#### UPOZORNĚNÍ



Nepřekračujte dobu skladování směsi PCR, protože by to mohlo ohrozit výkonnost produktu.

### 7.6.6 Spuštění běhu PCR

Běh PCR se provádí na přístroji CFX96™ DW Dx pod kontrolou softwaru CFX Manager™ Dx.

1. Zapněte přístroj CFX96™ DW Dx, připojený počítač a monitor.
2. Spusťte software CFX Manager™ Dx.
3. Na panelu nabídek softwaru CFX Manager™ Dx vyberte **File** → **Open** → **LIMS File...** (Soubor → Otevřít → Soubor LIMS...) a otevřete dialogové okno Open LIMS File (Otevřít soubor LIMS).
4. V úvodním dialogovém okně Open LIMS File (Otevřít soubor LIMS) se ujistěte, že v dolní části pole **File name** (Název souboru). Pokud tomu tak není, klikněte do pole **File name** (Název souboru).
5. Naskenujte čárový kód PCR destičky pomocí ručního skeneru čárových kódů a automaticky vyberte a otevřete správný soubor LIMS. Zobrazí se dialogové okno Run Setup (Nastavení běhu).

#### POZNÁMKA



Všechny parametry potřebné pro zahájení běhu PCR jsou automaticky přeneseny ze softwaru AltoStar® Connect do CFX96™ DW Dx pomocí souboru cykléru.

6. Kliknutím na tlačítko **Open Lid** (Otevřít víko) v dialogovém okně Run Setup (Nastavení běhu) otevřete víko přístroje CFX96™ DW Dx.
7. Krátce centrifugujte uzavřenou PCR destičku, aby se veškerá tekutina dostala na dno jamek.



8. Vložte uzavřenou PCR destičku do topného bloku CFX96™ DW Dx tak, aby jamka A1 byla na levé straně.
9. Zavřete CFX96™ DW Dx kliknutím na tlačítko **Close Lid** (Zavřít víko) v dialogovém okně Run Setup (Nastavení běhu).
10. Spusťte běh PCR kliknutím na tlačítko **Start Run** (Začít běh) v dialogovém okně Run Setup (Nastavení běhu).

### 7.6.6.1 V průběhu běhu PCR

Dokud není běh PCR dokončen, není nutná žádná interakce uživatele. Zobrazí se dialogové okno Run Details (Detaily o běhu), ve kterém je uveden stav běhu PCR a odhadovaný zbývající čas.

#### POZNÁMKA



Otevřením víka přístroje CFX96™ DW Dx během běhu PCR tlačítkem na přední straně víka nebo kliknutím na tlačítko **Open Lid** (Otevřít víko) v dialogovém okně Run Details (Detaily o běhu) dojde k přerušení běhu a anulování všech výsledků.

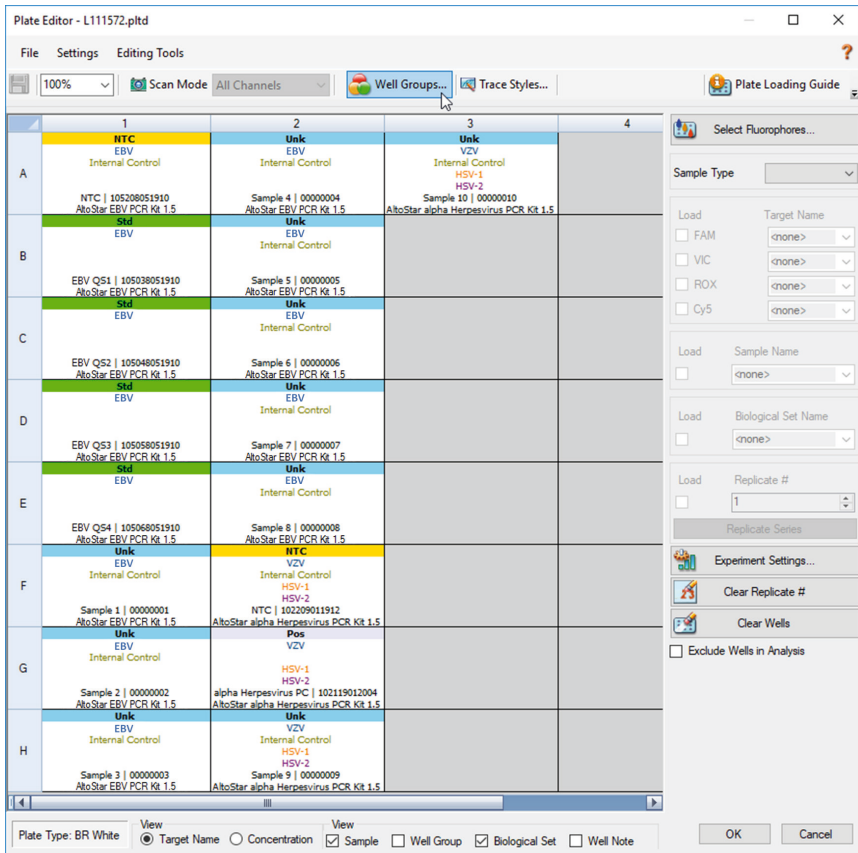
Na konci běhu PCR se zobrazí okno Data Analysis (Analýza dat), které zobrazuje amplifikační křivky, rozložení destiček a výsledky.

### 7.6.6.2 Přiřazení testů do skupin jamek

AltoStar® Workflow (Pracovní proces AltoStar®) zpracovává jeden nebo více PCR testů současně na jedné PCR destičce. Každý test však musí uživatel analyzovat samostatně podle návodu k použití příslušného testu.

Za tímto účelem musí uživatel přiřadit všechny testy na PCR destičce k jednotlivým skupinám jamek v softwaru CFX Manager™ Dx.

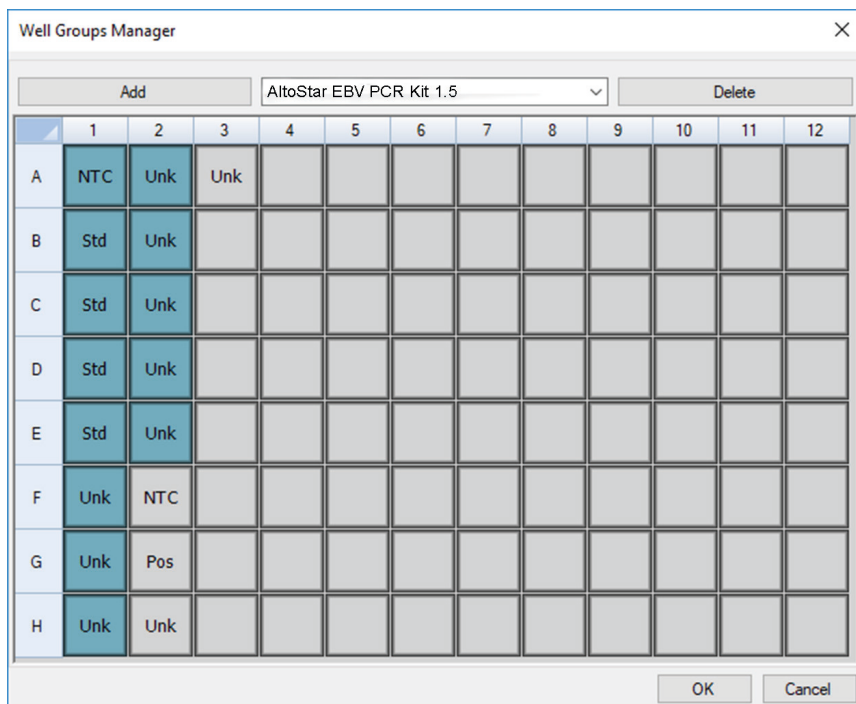
1. V okně Data Analysis (Analýza dat) klikněte na tlačítko **Plate Setup** (Nastavení destičky) na panelu nástrojů a vyberte možnost **View/Edit Plate** (Zobrazit/upravit destičku). Zobrazí se dialogové okno Plate Editor (Editor destiček) (viz obrázek 1).



Obrázek 1: Dialog Plate Editor (Editor destiček)

2. V dialogovém okně Plate Editor (Editor destiček) klikněte na tlačítko **Well Groups...** (Skupiny jamek...) na panelu nástrojů. Zobrazí se dialogové okno Well Groups Manager (Správce skupin jamek) (viz obrázek 2).
3. Klikněte na tlačítko **Add** (Přidat).
4. Do textového pole zadejte název prvního testu.

5. Vyberte všechny jamky v oblasti PCR desky, které patří k prvnímu testu (viz obrázek 2). Jamky patřící k jednotlivým testům lze v dialogovém okně Plate Editor (Editor destiček) identifikovat podle záznamu v poli **Biological Set** (Biologická sada).

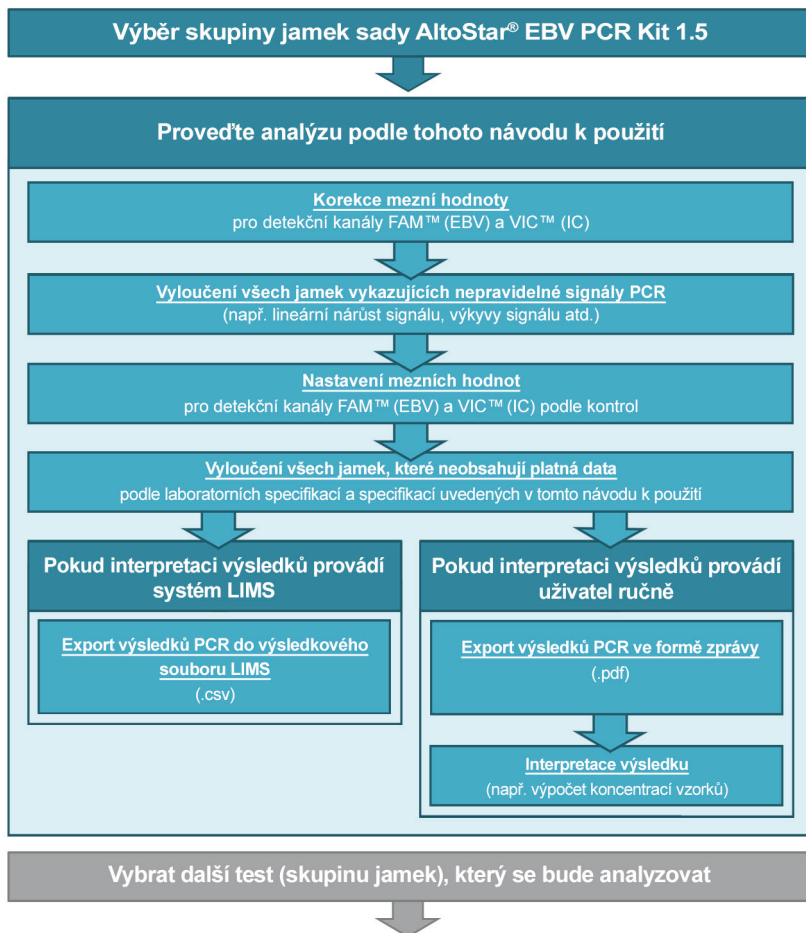


**Obrázek 2:** Dialog Well Groups Manager (Správce skupin jamek)

6. Opakujte kroky 3–5 pro všechny testy na PCR destičce.
7. Potvrďte přiřazení skupiny jamek kliknutím na možnost **OK**. Dialogové okno Well Groups Manager (Správce skupin jamek) se zavře.
8. Zavřete dialogové okno Plate Editor (Editor destiček) kliknutím na možnost **OK**.
9. Kliknutím na možnost **Yes** (Ano) potvrďte použití změn.

### 7.6.7 Analýza dat PCR

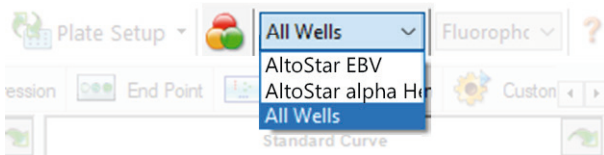
Výsledky všech testů (skupin jamek) na destičce PCR je třeba analyzovat v pořadí znázorněném na obrázku 3.



**Obrázek 3:** Proces analýza dat PCR

V okně Data Analysis (Analýza dat) vyberte **Well Group** (Skupina jamek) pro AltoStar® EBV PCR Kit 1.5. Proto klikněte na rozbalovací nabídku **Well Group** (Skupina jamek) hned vedle tlačítka **Well Group** (Skupina jamek) (viz obrázek 4) na panelu nástrojů. Nepožívejte **Well Group** (Skupina jamek) „All Wells“ (Všechny jamky). Výběr na obrázku 4 slouží jako obecný příklad zobrazení.

Před analýzou výsledků se ujistěte, že skupina jamek AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 obsahuje všechny jamky AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 a žádné jamky jiných testů.



**Obrázek 4:** Tlačítko Well Group (Skupina jamek) a rozevřací nabídka Well Group (Skupina jamek)

#### POZNÁMKA



Kombinovaná analýza více než jednoho testu může vést k nesprávným výsledkům.

#### UPOZORNĚNÍ



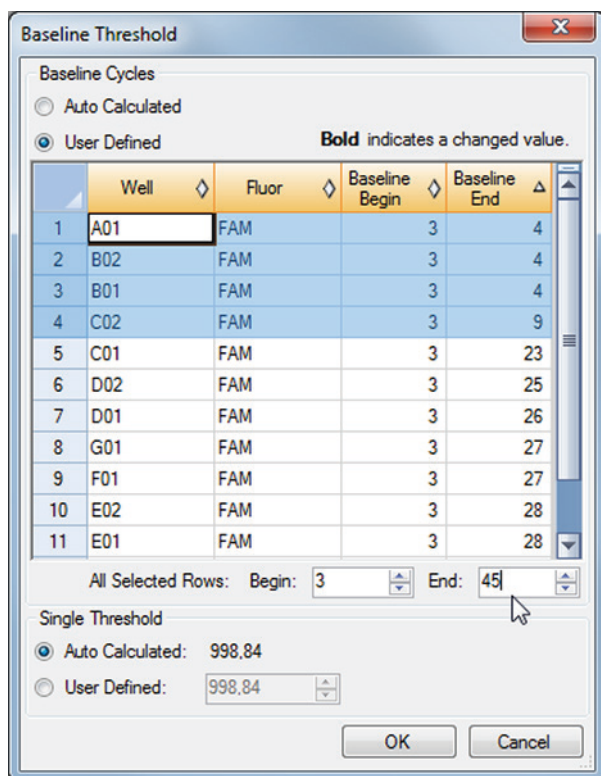
Stejně jako u každého diagnostického testu se výsledky interpretují s ohledem na všechny klinické a laboratorní nálezy.

### 7.6.7.1 Korekce mezní hodnoty

Je možné, že nastavení mezní hodnoty používané softwarem CFX Manager™ Dx bude nutné korigovat pro jednotlivé jamky analyzovaného testu [**Well Group** (Skupina jamek)].

1. V okně Data Analysis (Analýza dat) vyberte **Well Group** (Skupina jamek) pro AltoStar® EBV PCR Kit 1.5. Proto klikněte na rozbalovací nabídku **Well Group** (Skupina jamek) hned vedle tlačítka **Well Group** (Skupina jamek) (viz obrázek 4) na panelu nástrojů.
2. V levé části okna Data Analysis (Analýza dat) zaškrtněte pouze políčko **FAM** pro detekční kanál cíle EBV.
3. V panelu nabídek okna Data Analysis (Analýza dat) klikněte na **Settings** → **Baseline Threshold...** (Nastavení → Práh mezní hodnoty...), čímž otevřete dialogové okno Baseline Threshold (Práh mezní hodnoty) (viz obrázek 5).
4. Jedním kliknutím na symbol  $\diamond$  v záhlaví sloupce **Baseline End** (Konec mezní hodnoty) seřadíte tabulku podle vzestupných hodnot **Baseline End** (Konec mezní hodnoty).

5. Vyberte všechny řádky, které vykazují hodnotu **Baseline End** (Konec mezní hodnoty) 1–9 (viz obrázek 5).



**Obrázek 5:** Dialogové okno Baseline Threshold (Práh mezní hodnoty)

- Pro vybrané řádky nastavte hodnotu v poli **End:** (Konec:) na 45 (viz obrázek 5).
- Nastavení potvrďte kliknutím na **OK**.
- V levé části okna Data Analysis (Analýza dat) zrušte zaškrtnutí políčka **FAM** a zaškrtněte pouze políčko **VIC** pro detekční kanál cíle IC.
- Opakujte kroky 3–7 pro detekční kanál VIC™ (IC).

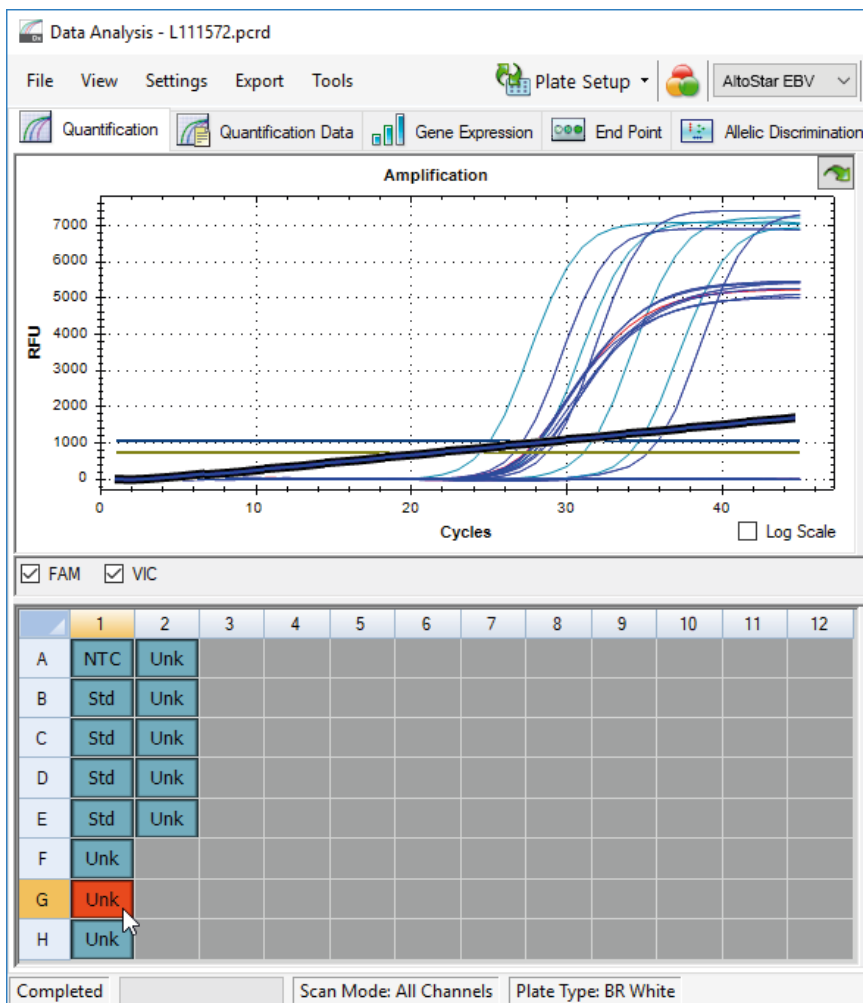
### 7.6.7.2 Vyloučení nepravidelných signálů PCR

Platné výsledky lze získat pouze ze signálů PCR, které neobsahují signální artefakty, jež mohou být způsobeny např. nečistotami nebo bublinami ve směsi PCR. Signály PCR, které obsahují signální artefakty, musí uživatel vyloučit.

1. V okně Data Analysis (Analýza dat) vyberte **Well Group** (Skupina jamek) pro AltoStar® EBV PCR Kit 1.5. Proto klikněte na rozbalovací nabídku **Well Group** (Skupina jamek) hned vedle tlačítka **Well Group** (Skupina jamek) (viz obrázek 4) na panelu nástrojů.

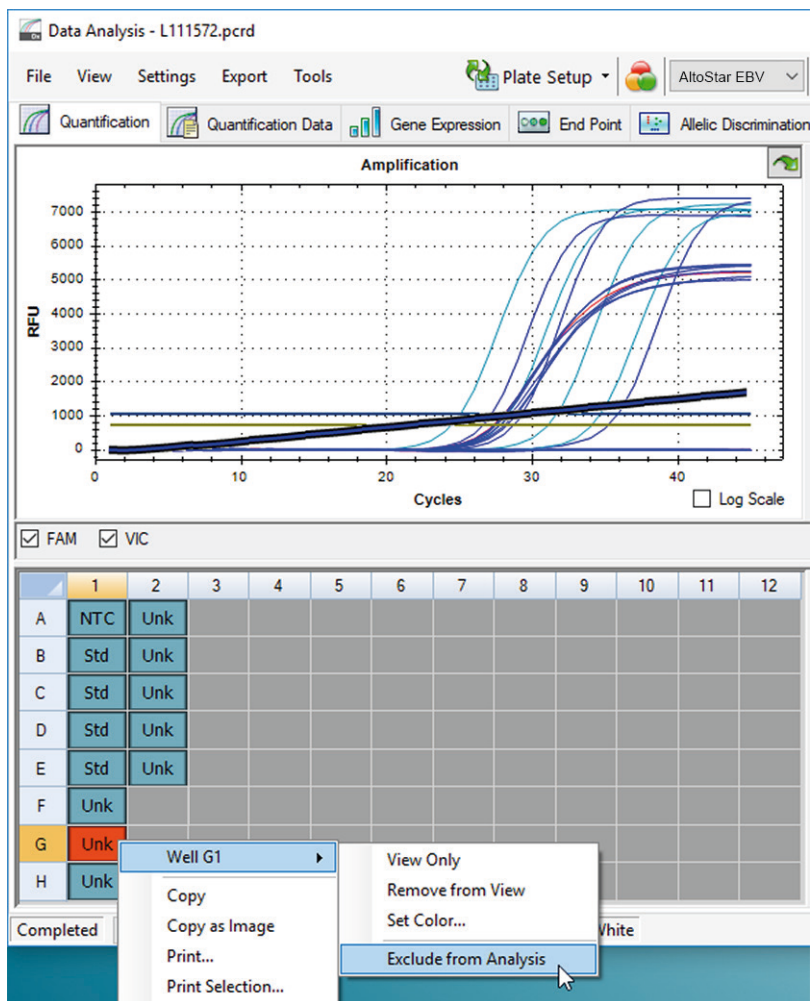


2. Identifikujte jamky s nepravidelnými signály PCR (lineární nárůst signálu, hroty signálu atd.) v kterémkoli z detekčních kanálů FAM™ (cíl EBV) a VIC™ (IC) (viz obrázek 6).



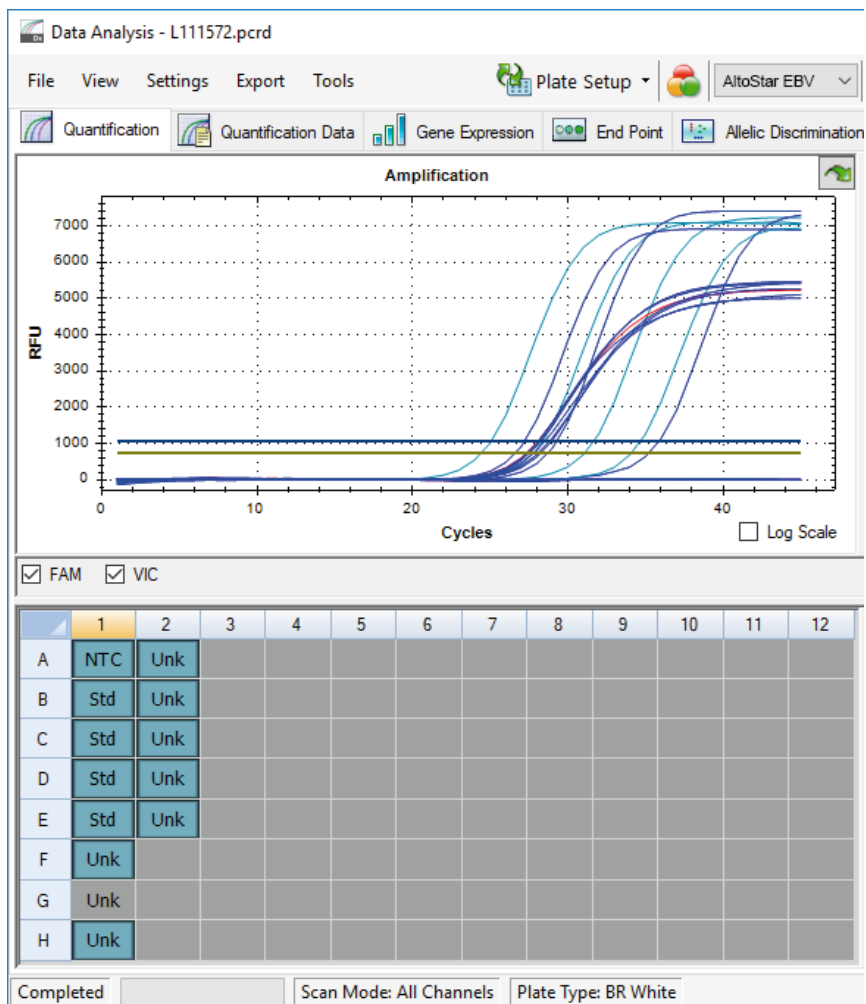
**Obrázek 6:** Okno Data Analysis (Analýza dat): nepravidelný signál PCR

- Klikněte na každou příslušnou jamku pravým tlačítkem myši a vyberte možnost **Well...** → **Exclude from Analysis** (Jamka... → Vyloučit z analýzy) (viz obrázek 7).



**Obrázek 7:** Okno Data Analysis (Analýza dat): vyloučit jamku z analýzy

4. Vybraná jamka je z analýzy vyloučena. Pro tuto jamku nebudou vygenerovány žádné výsledky (viz obrázek 8).



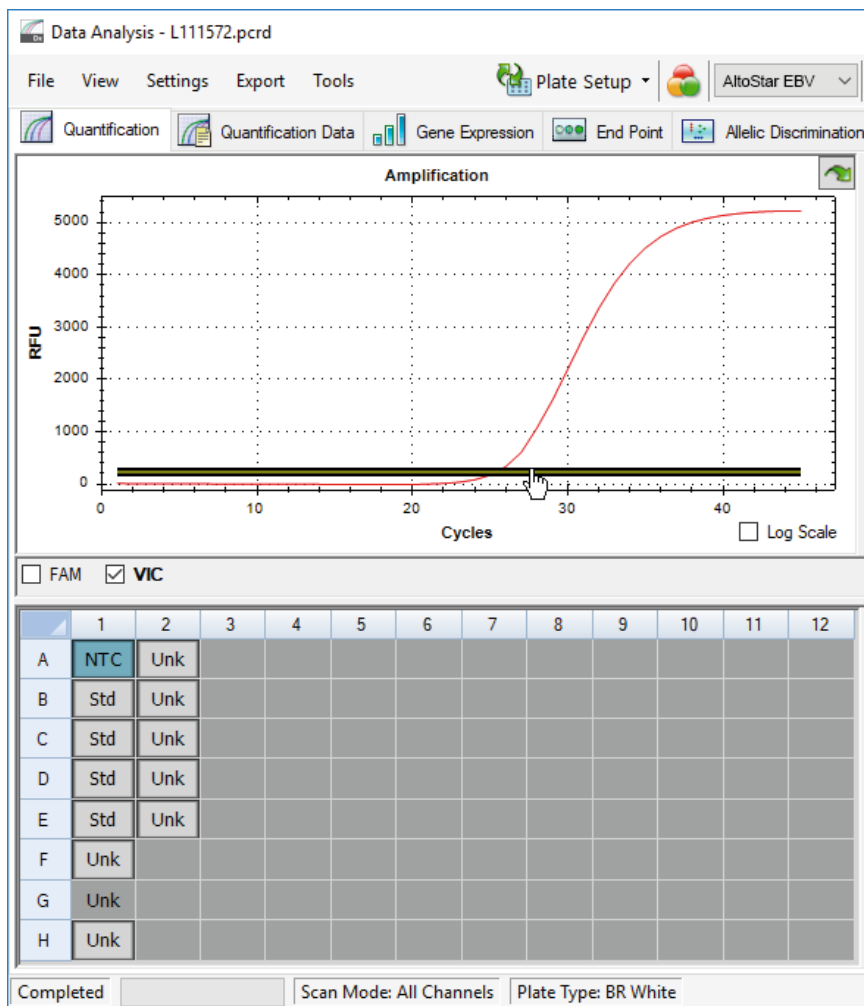
**Obrázek 8:** Okno Data Analysis (Analýza dat): vyloučená jamka

### 7.6.7.3 Nastavení prahových hodnot

Prahové hodnoty pro detekční kanály FAM™ (cíl EBV) a VIC™ (IC) musí uživatel nastavit ručně podle signálů kontrol.

1. V okně Data Analysis (Analýza dat) vyberte **Well Group** (Skupina jamek) pro AltoStar® EBV PCR Kit 1.5. Proto klikněte na rozbalovací nabídku **Well Group** (Skupina jamek) hned vedle tlačítka **Well Group** (Skupina jamek) (viz obrázek 4) na panelu nástrojů.

2. V levé části okna Data Analysis (Analýza dat) zaškrtněte pouze políčko **VIC** pro detekční kanál IC (viz obrázek 9).



**Obrázek 9:** Okno Data Analysis (Analýza dat): nastavení prahové hodnoty VIC™

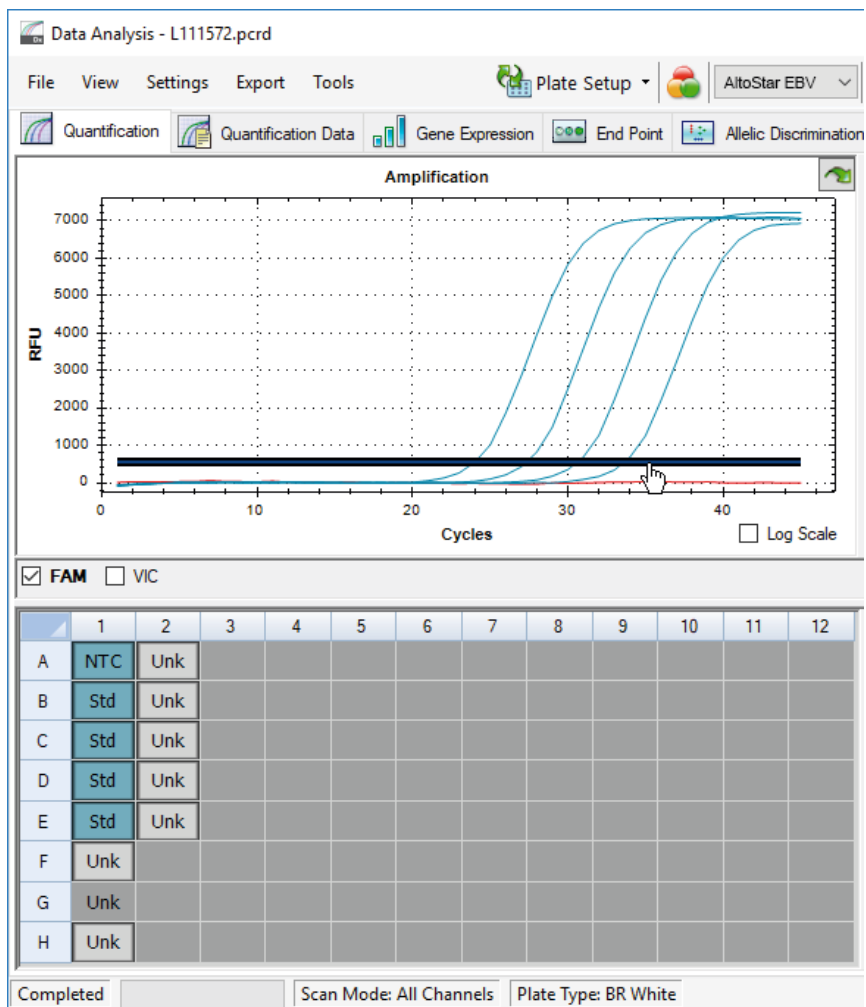
3. V zobrazení destičky v okně Data Analysis (Analýza dat) vyberte pouze jamku NTC (viz obrázek 9).
4. Přetáhněte prahovou hodnotu do exponenciální oblasti signálu NTC (viz obrázek 9).

#### POZNÁMKA



NTC obsahuje templát IC, který vede k signálu IC v platné jamce NTC.

5. V levé části okna Data Analysis (Analýza dat) zrušte zaškrtnutí políčka **VIC** a zaškrtněte políčko **FAM** pro detekční kanál cíle EBV (viz obrázek 10).



**Obrázek 10:** Okno Data Analysis (Analýza dat): nastavení prahové hodnoty FAM™

6. V zobrazení destiček v okně Data Analysis (Analýza dat) vyberte pouze jamky obsahující NTC a QS (viz obrázek 10).
7. Přetáhněte prahovou hodnotu výrazně nad signál NTC do exponenciální oblasti signálů QS (viz obrázek 10).

## 7.6.8 Platnost výsledků PCR

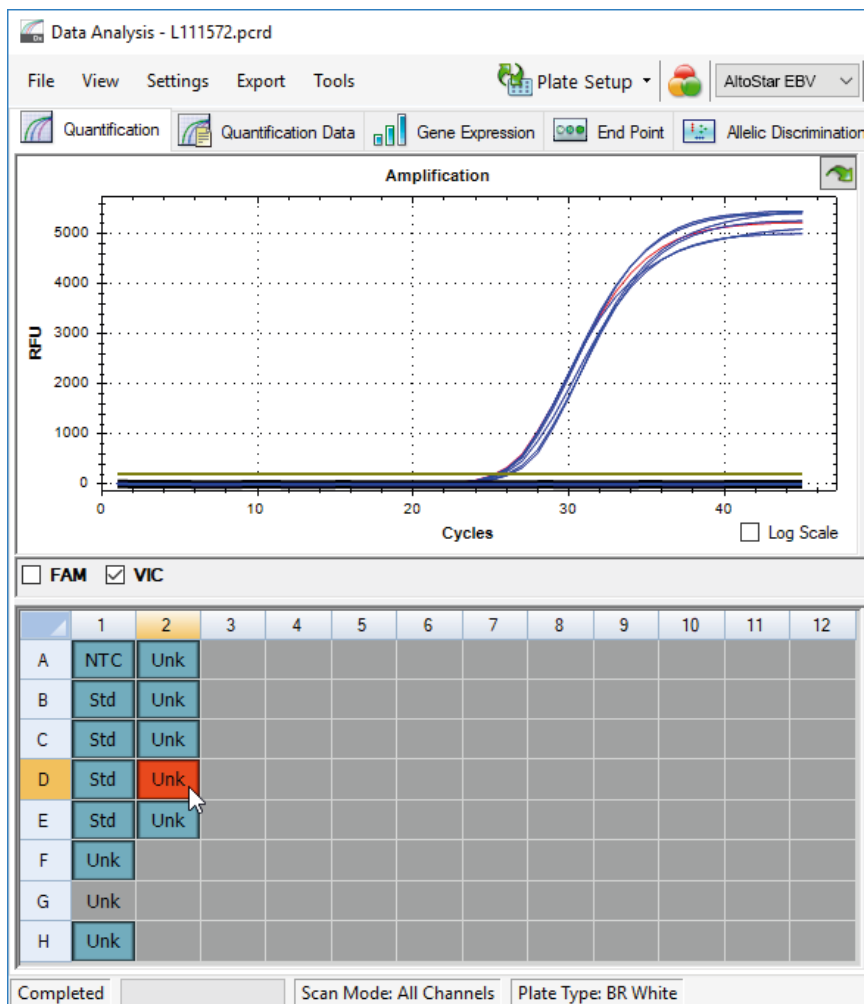
### 7.6.8.1 Vyloučení jamek obsahujících neplatná data

Jamky, které neobsahují platná data, musí uživatel z generování výsledků vyloučit.

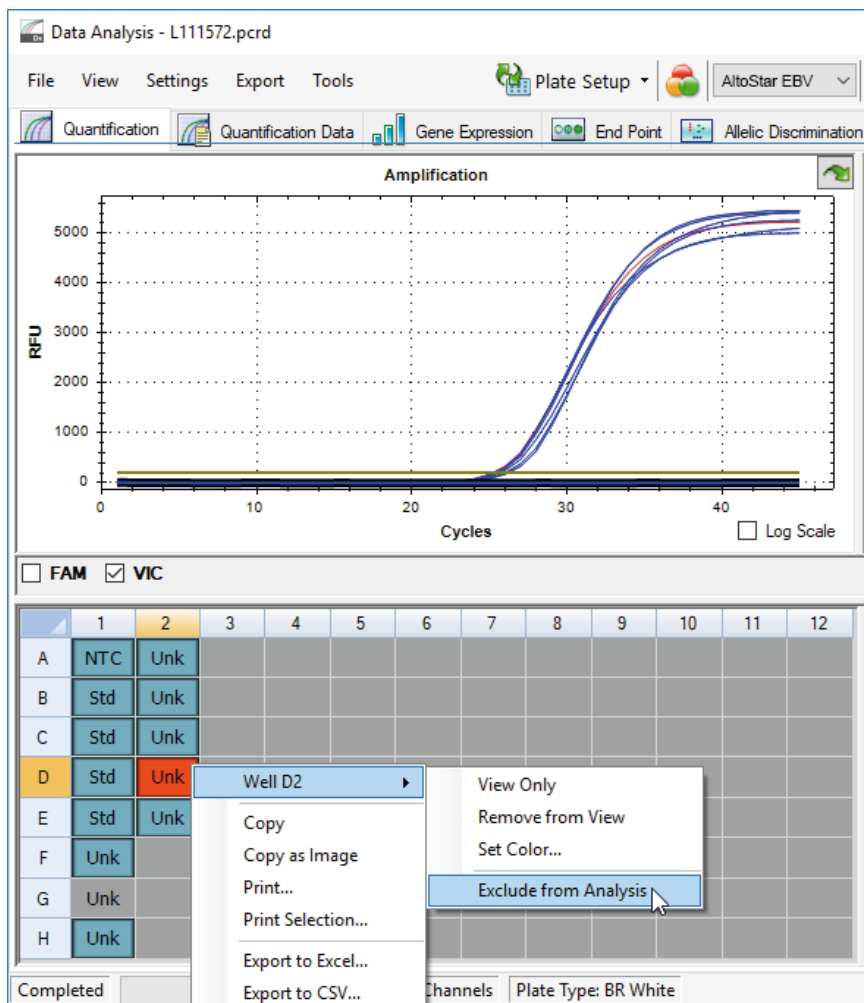
1. V okně Data Analysis (Analýza dat) vyberte **Well Group** (Skupina jamek) pro AltoStar® EBV PCR Kit 1.5. Proto klikněte na rozbalovací nabídku **Well Group** (Skupina jamek) hned vedle tlačítka **Well Group** (Skupina jamek) (viz obrázek 4) na panelu nástrojů.
2. Identifikujte všechny jamky obsahující neplatná data. Jamka je neplatná, pokud nastane některá z následujících podmínek:
  - a) Celý běh je neplatný [viz kapitoly 7.6.8.2 Platnost diagnostického běhu PCR (kvalitativní) a 7.6.8.3 Platnost diagnostického běhu PCR (kvantitativní)].
  - b) Data z jamky nesplňují kontrolní podmínky pro platný výsledek (viz kapitola 7.6.8.4 Platnost výsledků pro vzorek).



3. Klikněte na každou jamku obsahující neplatná data podle kapitol 7.6.8.2 Platnost diagnostického běhu PCR (kvalitativní) až 7.6.8.4 Platnost výsledků pro vzorek pravým tlačítkem myši a vyberte možnost **Well...** → **Exclude from Analysis** (Jamka... → Vyloučit z analýzy) (viz obrázky 11 a 12).



**Obrázek 11:** Okno Data Analysis (Analýza dat): neplatná jamka



**Obrázek 12:** Okno Data Analysis (Analýza dat): vyloučit neplatnou jamku z analýzy

Vybraná jamka je z analýzy vyloučena. Pro tuto jamku nebudou vygenerovány žádné výsledky.

### 7.6.8.2 Platnost diagnostického běhu PCR (kvalitativní)

Kvalitativní diagnostický běh PCR je **valid** (platný), pokud jsou splněny následující podmínky:

**Tabulka 8:** Kontrolní podmínky pro platný běh PCR (kvalitativní)

Kontrola	Detekční kanál	
	FAM™ (cíl EBV)	VIC™ (IC)
QS	+	Neplatí
NTC	-	+

Kvalitativní diagnostický běh PCR je **invalid** (neplatný), pokud:

- Běh nebyl dokončen.
- Není splněna některá z kontrolních podmínek pro platný kvalitativní diagnostický běh PCR.

V případě neplatného diagnostického běhu PCR vylučte všechny jamky z analýzy a opakujte běh AltoStar® z původních vzorků.

### 7.6.8.3 Platnost diagnostického běhu PCR (kvantitativní)

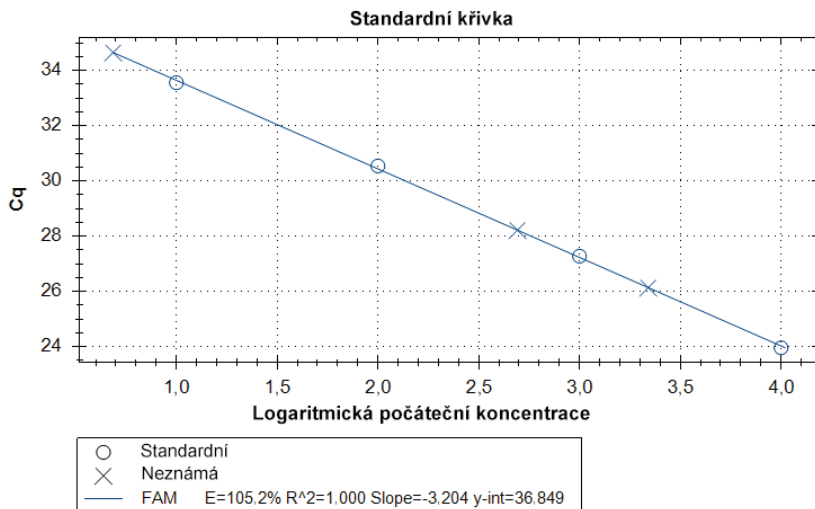
Kvantitativní diagnostický běh PCR je **platný**, pokud jsou splněny následující podmínky:

- Jsou splněny všechny kontrolní podmínky pro platný kvalitativní diagnostický běh PCR [viz kapitola 7.6.8.2 Platnost diagnostického běhu PCR (kvalitativní)].
- Vytvořená standardní křivka dosahuje následující hodnoty kontrolního parametru:

**Tabulka 9:** Kontrolní parametr standardní křivky

Kontrolní parametr	Platná hodnota
R na druhou (R <sup>2</sup> )	≥ 0,98

Kontrolní parametr standardní křivky se zobrazí pod grafem standardní křivky v okně Data Analysis (Analýza dat) (viz obrázek 13).



**Obrázek 13:** Data standardní křivky

Kvantitativní diagnostický běh PCR je **neplatný**, pokud:

- Běh nebyl dokončen.
- Není splněna některá z kontrolních podmínek pro platný kvantitativní diagnostický běh PCR.

V případě neplatného diagnostického běhu PCR vylučte všechny jamky z analýzy a opakujte běh AltoStar® z původních vzorků.

#### 7.6.8.4 Platnost výsledků pro vzorek

Výsledek pro jednotlivý vzorek je **neplatný**, pokud jsou signály v detekčním kanálu VIC™ (IC) i v detekčním kanálu FAM™ (cíl EBV) negativní (viz tabulka 10). V případě neplatného výsledku u vzorku vylučte jamku z analýzy a opakujte testování z původního vzorku nebo odeberte a otestujte nový vzorek.

Tabulka 10: Platnost výsledku

Detekční kanál		Platnost výsledku
FAM™ (cíl EBV)	VIC™ (IC)	
+	+	Platný výsledek
+	-	Platný výsledek*
-	+	Platný výsledek
-	-	<b>Neplatný výsledek</b>

\* Detekce IC se nevyžaduje, pokud je cíl EBV detekován. Vysoká zátěž EBV DNA ve vzorku může vést ke sníženému nebo chybějícímu IC signálu.

### 7.6.9 Export výsledků PCR pro automatickou interpretaci výsledků

Aby byly výsledky běhu PCR k dispozici připojenému systému LIMS pro automatickou interpretaci výsledků, je třeba je exportovat ve formátu souboru výsledků LIMS (.csv).

1. V okně Data Analysis (Analýza dat) vyberte **Well Group** (Skupina jamek) pro AltoStar® EBV PCR Kit 1.5. Proto klikněte na rozbalovací nabídku **Well Group** (Skupina jamek) hned vedle tlačítka **Well Group** (Skupina jamek) (viz obrázek 4) na panelu nástrojů.
2. Ujistěte se, že všechny kroky procesu analýzy (viz kapitoly 7.6.7.1 Korekce mezní hodnoty až 7.6.8.1 Vyloučení jamek obsahujících neplatná data) byly pro skupinu jamek AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 dokončeny.
3. Na panelu nabídek okna Data Analysis (Analýza dat) klikněte na možnost **Export** → **Export All Data Sheets** (Export → Exportovat všechny datové listy), čímž otevřete dialogové okno Browse For Folder (Procházet složku).
4. V dialogovém okně Browse For Folder (Procházet složku) zadejte umístění pro soubory výsledků LIMS, které se mají vygenerovat, a klikněte na možnost **OK**.

**POZNÁMKA**

Integrace LIMS musí být provedena podle specifikací společnosti Altona Diagnostics. Informace o integraci LIMS naleznete v kapitole 16. Protokol testu pro software AltoStar® Connect a informace pro integraci LIMS a/nebo kontaktujte technickou podporu společnosti Altona Diagnostics (viz kapitola 12. Technická podpora).

**POZNÁMKA**

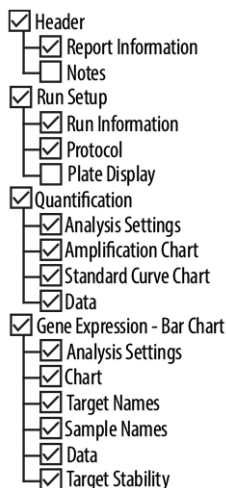
Uložení výsledků více než jednoho testu (skupiny jamek) z běhu PCR do stejné složky vede k nahrazení souborů výsledků LIMS prvního testu (skupiny jamek) soubory výsledků LIMS druhého testu (skupiny jamek). V tomto případě lze opět exportovat soubory výsledků LIMS prvního testu (skupiny jamek).

### 7.6.10 Export výsledků PCR pro ruční interpretaci výsledků

Pokud nejsou výsledky předány do systému LIMS pro automatickou interpretaci výsledků, musí interpretaci výsledků provést uživatel ručně. Za tímto účelem je třeba exportovat výsledky analýzy každého testu (skupiny jamek) ve formě zprávy.

1. V okně Data Analysis (Analýza dat) vyberte **Well Group** (Skupina jamek) pro AltoStar® EBV PCR Kit 1.5. Proto klikněte na rozbalovací nabídku **Well Group** (Skupina jamek) hned vedle tlačítka **Well Group** (Skupina jamek) (viz obrázek 4) na panelu nástrojů.
2. V levé části okna Data Analysis (Analýza dat) zaškrtněte políčko **VIC** a políčko **FAM**.
3. Ujistěte se, že všechny kroky procesu analýzy (viz kapitoly 7.6.7.1 Korekce mezní hodnoty až 7.6.8.1 Vyloučení jamek obsahujících neplatná data) byly pro skupinu jamek AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 dokončeny.
4. Na panelu nabídek okna Data Analysis (Analýza dat) klikněte na možnost **Tools** → **Reports...** (Nástroje → Zprávy...), čímž otevřete dialogové okno Report (Zpráva).

- Ujistěte se, že je v levé horní části dialogového okna Report (Zpráva) vybrán alespoň následující obsah pro generování zprávy (viz obrázek 14):



**Obrázek 14:** Dialogové okno Report (Zpráva)

- Zaškrtnutím příslušných políček podle potřeby vyberte nebo zrušte výběr dalšího obsahu zprávy.
- Na panelu nabídek dialogového okna Report (Zpráva) klikněte na možnost **File** → **Save As...** (Soubor → Uložit jako...) čímž otevřete dialogové okno Save Report (Uložit zprávu).
- V dialogovém okně Save Report (Uložit zprávu) zadejte název a umístění souboru zprávy, který má být vygenerován, a klikněte na tlačítko **Save** (Uložit).

### 7.6.10.1 Ruční interpretace výsledků

- Otevřete soubor zprávy vygenerovaný pro skupinu jamek AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 (viz kapitola 7.6.10 Export výsledků PCR pro ruční interpretaci výsledků).
- Viz tabulka Quantification Data (Kvantifikační data) ve zprávě (viz obrázek 15). Tabulka obsahuje 2 řádky pro každý **Sample** (Vzorek) – jeden pro **Target** (Cíl) *EBV* a jeden pro **Target** (Cíl) *Internal Control* (Interní kontrola).

Quantification Data

Well	Fluor	Target	Content	Sample	Biological Set Name	Cq	Cq Mean	Cq Std Dev	Starting Quantity (SQ)	Log Starting Quantity	SQ Mean	SQ Std. Dev	Well Note
A01	FAM	EBV	NTC	NTC   105208051910	AltoStar EBV PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	N/A	N/A	0.00E+00	0.00E+00	
A02	FAM	EBV	Unkn	Sample 4   00000004	AltoStar EBV PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	N/A	N/A	0.00E+00	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
B01	FAM	EBV	Std	EBV QS1   105038051910	AltoStar EBV PCR Kit 1.5	23.97	23.97	0.000	1.000E+04	4.000	1.00E+04	0.00E+00	
B02	FAM	EBV	Unkn	Sample 5   00000005	AltoStar EBV PCR Kit 1.5	34.65	34.65	0.000	4.855E+00	0.686	4.85E+00	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
C01	FAM	EBV	Std	EBV QS2   105048051910	AltoStar EBV PCR Kit 1.5	27.28	27.28	0.000	1.000E+03	3.000	1.00E+03	0.00E+00	
C02	FAM	EBV	Unkn	Sample 6   00000006	AltoStar EBV PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	N/A	N/A	0.00E+00	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
D01	FAM	EBV	Std	EBV QS3   105058051910	AltoStar EBV PCR Kit 1.5	30.54	30.54	0.000	1.000E+02	2.000	1.00E+02	0.00E+00	
E01	FAM	EBV	Std	EBV QS4   105068051910	AltoStar EBV PCR Kit 1.5	33.56	33.56	0.000	1.000E+01	1.000	1.00E+01	0.00E+00	
E02	FAM	EBV	Unkn	Sample 8   00000008	AltoStar EBV PCR Kit 1.5	28.22	28.22	0.000	4.924E+02	2.692	4.92E+02	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
F01	FAM	EBV	Unkn	Sample 1   00000001	AltoStar EBV PCR Kit 1.5	26.14	26.14	0.000	2.195E+03	3.341	2.20E+03	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
H01	FAM	EBV	Unkn	Sample 3   00000003	AltoStar EBV PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	N/A	N/A	0.00E+00	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
A01	VIC	Internal Control	NTC	NTC   105208051910	AltoStar EBV PCR Kit 1.5	25.27	25.27	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	
A02	VIC	Internal Control	Unkn	Sample 4   00000004	AltoStar EBV PCR Kit 1.5	26.08	26.08	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
B02	VIC	Internal Control	Unkn	Sample 5   00000005	AltoStar EBV PCR Kit 1.5	25.46	25.46	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
C02	VIC	Internal Control	Unkn	Sample 6   00000006	AltoStar EBV PCR Kit 1.5	25.33	25.33	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
E02	VIC	Internal Control	Unkn	Sample 8   00000008	AltoStar EBV PCR Kit 1.5	26.25	26.25	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
F01	VIC	Internal Control	Unkn	Sample 1   00000001	AltoStar EBV PCR Kit 1.5	25.45	25.45	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
H01	VIC	Internal Control	Unkn	Sample 3   00000003	AltoStar EBV PCR Kit 1.5	25.70	25.70	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml

Obrázek 15: Zpráva: Quantification Data (Kvantifikační data)

Kvalitativní výsledky by byly označeny termínem *qualitative* (kvalitativní) ve sloupci **Well Note** (Poznámka k jamce) v tabulce Quantification Data (Kvantifikační data).

- Označte každý řádek **Target** (Cíl) *EBV* a pojmem *Concentration factor* (koncentrační faktor) ve sloupci **Well Note** (Poznámka k jamce).
- V těchto řádcích najdete ve sloupci **C<sub>q</sub>** výsledek příslušného **Sample** (Vzorku).



5. Interpretace kvalitativních výsledků je uvedena v tabulce 11.

**Tabulka 11:** Kvalitativní výsledky: interpretace výsledku

Prahový cyklus ( $C_q$ ) cíle EBV	Interpretace výsledku
1–45	Zjištěna specifická EBV DNA.
N/A	Nebyla zjištěna žádná EBV specifické DNA. Vzorek neobsahuje detekovatelné množství EBV specifické DNA.

Kvantitativní výsledky jsou označeny *Concentration factor* (koncentrační faktor) ve sloupci **Well Note** (Poznámka k jamce) v tabulce Quantification Data (Kvantifikační data) (viz obrázek 15).

6. Označte každý řádek **Target** (Cíl) *EBV* a *Concentration factor* (koncentrační faktor) ve sloupci **Well Note** (Poznámka k jamce).
7. V těchto řádcích je ve sloupci **Starting Quantity (SQ)** [Počáteční množství (SQ)] uvedena koncentrace EBV naměřená v eluátu příslušného **Sample** (Vzorek). Pro výpočet výsledku pro původní vzorek pacienta musí uživatel vynásobit hodnotu **Starting Quantity (SQ)** [Počáteční množství (SQ)] příslušným *Concentration factor* (koncentrační faktor) (včetně jednotky).
8. Interpretace kvantitativních výsledků je uvedena v tabulce 12.

**Tabulka 12:** Kvantitativní výsledky: interpretace výsledků

Počáteční množství (SQ) cíle EBV	Interpretace výsledku
> 0	Zjištěna EBV specifické DNA. Pro výpočet koncentrace původního vzorku pacienta vynásobte hodnotu <b>Starting Quantity (SQ)</b> [Počáteční množství (SQ)] <i>Concentration factor</i> (koncentrační faktor) ve sloupci <b>Well Note</b> (Poznámka k jamce).
N/A	Nebyla zjištěna žádná EBV specifické DNA. Vzorek neobsahuje detekovatelné množství EBV specifické DNA.

## 8. Použití výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 s jinými přístroji pro real-time PCR, než je systém CFX96™ Deep Well Dx System

Kromě CFX96™ DW Dx byl AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 validován i s jinými přístroji pro real-time PCR (viz kapitola 5.3.2.2 Přístroje pro real-time PCR). Následující kapitoly 8.1 Požadovaný, ale nedodaný materiál a zařízení a 8.2 Postup popisují, jak používat AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 s těmito přístroji.

### 8.1 Požadovaný, ale nedodaný materiál a zařízení

Jsou zapotřebí následující přístroje a materiály:

- Obecné materiály a zařízení (viz kapitola 7.5 Obecný materiál a zařízení)
- CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad)
  - 96jamkové PCR destičky a těsnicí fólie (podrobnosti viz tabulka 3)
- CFX96™ Dx System (Bio-Rad)
  - 96jamkové PCR destičky a těsnicí fólie (podrobnosti viz tabulka 3)
- Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)
  - Zkumavky 0,1 ml a víka [Zkumavky STRIP 0,1 ml pro cykléry Rotor-Gene® (LTF Labortechnik) nebo ekvivalentní]
- QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System a ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
  - 96jamkové PCR destičky a těsnicí fólie [MicroAmp™ Optical 96-Well Reaction Plate a MicroAmp™ Optical Adhesive Film (Applied Biosystems) nebo ekvivalentní]
- LightCycler® 480 Instrument II (Roche)
  - 96jamkové PCR destičky a těsnicí fólie [LightCycler® 480 Multiwell Plate 96, bílá a LightCycler® 480 Sealing Foil (Roche) nebo ekvivalentní]

**POZNÁMKA**

Nedoporučuje se používat jiné materiály nebo zařízení, než je uvedeno v tomto návodu k použití.

## 8.2 Postup

### 8.2.1 Příprava vzorku

AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 byl validován pomocí systému AltoStar® AM16 v kombinaci s AltoStar® Purification Kit 1.5.

Vhodné mohou být i alternativní systémy a soupravy pro extrakci nukleové kyseliny. Vhodnost postupu extrakce nukleové kyseliny pro použití s výrobkem AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 musí schválit uživatel.

Výrobek AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 musí být použit s heterologní IC (AltoStar® Internal Control 1.5), která umožňuje kontrolovat postup přípravy vzorku (extrakce nukleové kyseliny) a následující PCR.

- Při použití jiných metod extrakce nukleové kyseliny než AltoStar® AM16 v kombinaci se sadou AltoStar® Purification Kit 1.5 se musí IC přidat během lyzačního kroku postupu extrakce nukleové kyseliny.
- IC by měl být vždy přidán do směsi vzorku a lyzačního pufu.
- Objem IC, který je třeba přidat, závisí vždy a pouze na elučním objemu. Představuje 50 % elučního objemu. Například pokud má být nukleová kyselina eluována v 60 µl elučního pufu nebo vody, musí být do směsi vzorku a elučního pufu přidáno 30 µl IC na vzorek.

**UPOZORNĚNÍ**

Skladování eluátů za nesprávných podmínek může vést k degradaci EBV cílové sekvence a může ohrozit výkonost produktu.

## 8.2.2 Nastavení master mixu

Všechny složky AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 a vzorky by měly být před použitím zcela rozmrazeny, promíchány (pipetováním nebo pomocí jemného vortexu) a krátce centrifugovány. Nastavte master mix podle následujícího pipetovacího schématu:

**Tabulka 13:** Pipetovací schéma (nastavení master mixu)

Počet reakcí (rxns)	1	12
Master A	5 µl	60 µl
Master B	15 µl	180 µl
<b>Objem master mixu</b>	<b>20 µl</b>	<b>240 µl</b>

### UPOZORNĚNÍ



Pro nastavení master mixu nepoužívejte jiné objemy Master A a Master B, než je uvedeno v tomto návodu k použití, protože by to mohlo ohrozit výkonnost produktu.

### UPOZORNĚNÍ



Nedostatečná centrifugace složek produktu po rozmrazení může způsobit kontaminaci více zbytky reagentů a může ohrozit výkonnost produktu.

## 8.2.3 Nastavení reakce

1. Napipetujte 20 µl master mixu do každé požadované jamky vhodné optické 96jamkové PCR destičky nebo vhodné optické reakční zkumavky.
2. Přidejte 10 µl vzorku (eluát z extrakce nukleové kyseliny) nebo 10 µl kontrol (QS1–4 nebo NTC).

**Tabulka 14:** Pipetovací schéma (nastavení reakce)

Nastavení reakce	
Master mix	20 µl
Vzorek nebo kontrola	10 µl
<b>Celkový objem</b>	<b>30 µl</b>

- Ujistěte se, že pro kvantitativní analýzu jsou použity QS1–4 a 1 NTC. Pro kvalitativní analýzu se ujistěte, že jsou použity alespoň QS4 a 1 NTC.
- Důkladně promíchejte vzorky a kontroly s master mixem pipetováním nahoru a dolů.
- Uzavřete 96jamkovou PCR destičku pomocí PCR Plate Sealing Foil (Těsnicí fólie pro PCR destičky) a reakční zkumavky vhodnými víky (viz kapitola 8.1 Požadovaný, ale nedodaný materiál a zařízení).
- Centrifugujte 96jamkovou PCR destičku v centrifuze s rotorem pro mikrotitrační destičky po dobu 30 sekund při přibližně 1 000 x g (~ 3 000 ot./min.).

Po dokončení přípravy PCR je směs PCR stabilní při pokojové teplotě (max. +30 °C) po dobu 30 minut.

#### UPOZORNĚNÍ



Nepřekračujte dobu skladování směsi PCR, protože by to mohlo ohrozit výkonnost produktu.

#### UPOZORNĚNÍ



Během nastavení PCR nebo přenosu do přístroje pro PCR nepomíchejte vzorky nebo ID vzorků. To by mohlo vést k falešně pozitivním nebo falešně negativním výsledkům v důsledku nesprávného přiřazení vzorků.

## 8.2.4 Běh PCR

### 8.2.4.1 Programování přístroje pro real-time PCR

Základní informace o nastavení a programování různých přístrojů pro real-time PCR naleznete v návodu k použití příslušného přístroje.

Podrobné pokyny k programování v souvislosti s výrobkem AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 na konkrétních přístrojích pro real-time PCR získáte od technické podpory společnosti altona Diagnostics (viz kapitola 12. Technická podpora).

### 8.2.4.2 Nastavení běhu

Definujte následující základní nastavení:

**Tabulka 15:** Nastavení běhu

Nastavení	
Objem reakce	30 µl
Rychlost nárůstu	Výchozí
Pasivní reference*	ROX™

\* Pokud je to relevantní

Definujte následující fluorescenční detektory (barviva):

**Tabulka 16:** Fluorescenční detektory

Cíl	Název detektoru	Kdo podává zprávu	Zhášec
EBV	EBV	FAM™	(Žádný)
IC	Internal Control	JOE™	(Žádný)

Definujte následující teplotní profil a získávání barviva:

**Tabulka 17:** Teplotní profil a získávání barviva

	Fáze	Opakování cyklu	Akvizice	Teplota [°C]	Čas [min:s]
Denaturace	Udržování	1	-	95	02:00
Amplifikace	Cyklení	45	-	95	00:15
			Ano	58	00:45
			-	72	00:15

### UPOZORNĚNÍ



Nepoužívejte jiné podmínky cyklování, než je uvedeno v tomto návodu k použití, protože by to mohlo ohrozit výkon výrobku.

## 8.2.5 Analýza dat

Základní informace o analýze dat na konkrétních přístrojích pro real-time PCR naleznete v návodu k použití příslušného přístroje.

Podrobné pokyny k analýze dat získaných pomocí výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 na různých přístrojích pro real-time PCR získáte od technické podpory společnosti altona Diagnostics (viz kapitola 12. Technická podpora).

Kritéria platnosti diagnostických běhů PCR a interpretace výsledků bez ohledu na přístroj pro real-time PCR jsou popsána v kapitolách 7.6.8.2 Platnost diagnostického běhu PCR (kvalitativní) až 7.6.8.4 Platnost výsledků pro vzorek, v kapitole 7.6.10.1 Ruční interpretace výsledků a v tabulkách 11 a 12.

### POZNÁMKA



Koncentrace „vzorku“ se zobrazuje v IU/μl a vztahuje se ke koncentraci v eluátu.

Pro stanovení **virové nálože původního vzorku** je třeba použít následující vzorec:

$$\text{Virová zátěž (Vzorek)} \left[ \frac{\text{IU}}{\text{ml}} \right] = \frac{\text{Objem (Eluát)} [\mu\text{l}] \cdot \text{Virová zátěž (Eluát)} [\text{IU}/\mu\text{l}]}{\text{Vstupní objem vzorku} [\text{ml}]}$$

### UPOZORNĚNÍ



Pro analýzu dat nepoužívejte jiná kontrolní nastavení, než je uvedeno v tomto návodu k použití, protože by to mohlo vést k nesprávným výsledkům IVD vyšetření.

### UPOZORNĚNÍ



Stejně jako u každého diagnostického testu se výsledky interpretují s ohledem na všechny klinické a laboratorní nálezy.

## 9. Data o výkonu

Výkonnost výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 byla hodnocena pomocí 1. mezinárodního standardu WHO pro virus Epstein-Barrův pro techniky amplifikace nukleové kyseliny (kód NIBSC: 09/260) a standardního materiálu EBV kalibrovaného podle mezinárodního standardu WHO.

### 9.1 Plazma

#### 9.1.1 Analytická citlivost

Pro stanovení meze detekce (LoD) byla vytvořena řada ředění 1. mezinárodního standardu WHO pro virus Epstein-Barrův pro techniky amplifikace nukleové kyseliny (kód NIBSC: 09/260) v plazmě v rozsahu od 1,00E+03 do 1,00E+01 IU/ml.



Každé ředění bylo testováno v 8 replikátech ve 3 různých běžích (celkem n = 24 pro každé ředění) s použitím kombinací:

- 3 šarže AltoStar® EBV PCR Kit 1.5
- 3 šarže AltoStar® Purification Kit 1.5
- 3 šarže AltoStar® Internal Control 1.5
- 3 přístroje AltoStar® AM16
- 3 přístroje CFX96™ DW Dx

Data ze všech běhů byly zkombinovány a pro stanovení hodnoty 95 % LoD byla provedena probitová analýza.

**Tabulka 18:** Výsledky PCR použité pro výpočet analytické citlivosti výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5

Koncentrace [IU/ml]	N [celkem]	N [pozitivní]	Hit rate [%]
1,00E+03	22*	22	100
5,00E+02	24	24	100
2,50E+02	24	24	100
2,00E+02	24	23	96
1,50E+02	24	23	96
1,00E+02	24	19	79
5,00E+01	24	11	46
2,00E+01	24	3	13
1,00E+01	24	4	17

\* 2 vzorky nebyly zpracovány.

LoD výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 pro detekci EBV v plazmě je 195 IU/ml (95 % interval spolehlivosti: 143–303 IU/ml).

## 9.1.2 Analytická specifická

Analytická specifická AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 je zajištěna důkladným výběrem oligonukleotidů (primerů a sond). Oligonukleotidy byly zkontrolovány analýzou porovnání sekvencí s veřejně dostupnými sekvencemi, aby se zajistilo, že budou detekovány všechny relevantní EBV genotypy.

Pro ověření analytické specifické výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 byly provedeny následující experimenty (viz kapitoly 9.1.2.1 Negativní vzorky až 9.1.2.3 Zkřížená reaktivita).

### 9.1.2.1 Negativní vzorky

Pomocí výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 bylo testováno 35 EBV negativních vzorků plazmy od individuálních dárců. 34 z 35 vzorků bylo na přítomnost specifické EBV DNA testováno negativně. Všechny vzorky (35 z 35) byly pozitivní na IC. Analytická specifická výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 pro vzorky plazmy je  $\geq 95\%$ .

### 9.1.2.2 Interferující látky

Pro vyhodnocení vlivu potenciálně interferujících endogenních a exogenních látek na výkonnost výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 byly vybrané látky přidány do vzorků plazmy. Tyto vzorky plazmy obsahovaly EBV v koncentraci 3 x LoD ( $5,85E+02$  IU/ml),  $1,00E+04$  IU/ml a žádné EBV, resp.

Výsledky získané u vzorků obsahujících potenciálně interferující látky byly porovnány s výsledky získanými u vzorků plazmy neobsahujících žádný interferent. Každý vzorek byl zpracován ve 3 replikátech.

U vzorků se zvýšeným obsahem těchto látek nebyla pozorována žádná interference:

- Endogenní látky
  - Bilirubin
  - Hemoglobin
  - Lidská genomová DNA
  - Lidský sérový albumin
  - Triglyceridy
- Exogenní látky
  - Azathioprin
  - Cyklosporin
  - Foscarnet
  - Ganciclovir

#### UPOZORNĚNÍ



Přítomnost inhibitorů PCR (např. heparinu) by mohla způsobit falešně negativní nebo neplatné výsledky.

### 9.1.2.3 Zkřížená reaktivita

Analytická specifita AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 s ohledem na zkříženou reaktivitu s jinými patogeny než EBV byla hodnocena testováním:

- Viry příbuzné EBV
- Viry způsobující podobné příznaky jako infekce EBV
- Viry pravděpodobně přítomné u pacientů trpících infekcí EBV

U AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 nebyla zjištěna zkřížená reakce s žádným z následujících patogenů:

- Adenovirus (ADV)
- BK virus (BKV)
- Cytomegalovirus (CMV)
- Virus hepatitidy A (HAV)
- Virus hepatitidy B (HBV)
- Virus hepatitidy C (HCV)
- Herpes simplex virus 1 (HSV-1)
- Herpes simplex virus 2 (HSV-2)
- Lidský herpesvirus 6A (HHV-6A)
- Lidský herpesvirus 6B (HHV-6B)
- Virus lidské imunodeficiency 1 (HIV-1)
- JC virus (JCV)
- Parvovirus B19
- Virus varicella-zoster (VZV)

### UPOZORNĚNÍ



V případě, že vzorek obsahuje jiné patogeny než EBV, může dojít ke konkurenci s cílovou amplifikací nebo ke křížové reaktivitě, což může způsobit nesprávné výsledky IVD vyšetření.

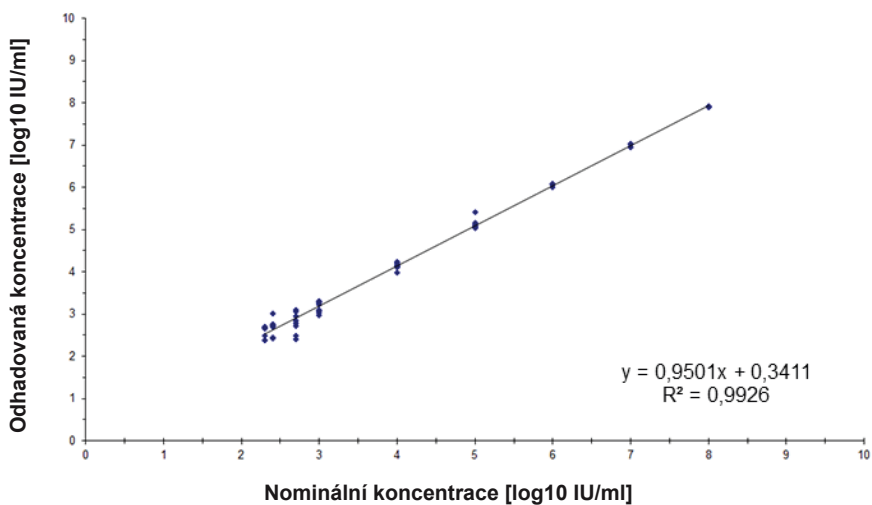
### 9.1.3 Lineární rozsah

Pro stanovení lineárního rozsahu výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 byla testována ředící řada EBV v plazmě v rozsahu od 1,00E+08 do 2,00E+02 IU/ml:

- Ředění s koncentrací mezi 1,00E+08 a 1,00E+06 IU/ml byla testována ve 4 replikátech.
- Ředění s koncentrací mezi 1,00E+05 a 2,00E+02 IU/ml byla testována v 8 replikátech.

Analýza byla provedena na základě polynomiální regrese.

Lineární rozsah výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 pro kvantifikaci EBV v plazmě je 2,00E+02–1,00E+08 IU/ml. Grafické znázornění dat je uvedeno na obrázku 16.

**log10 odhadované koncentrace vs. log10 nominální koncentrace  
AltoStar® EBV PCR Kit 1.5**

**Obrázek 16:** Lineární regresní analýza výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 se vzorky plazmy

### 9.1.4 Přesnost

Přesnost výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 byla hodnocena pomocí panelu složeného z:

- 1 EBV vysoce pozitivní ( $1,00E+04$  IU/ml) vzorek plazmy
- 1 EBV níže pozitivní [ $1,00E+03$  IU/ml (5 x dolní mez stanovitelnosti (LLoQ))] vzorek plazmy
- 1 EBV negativní vzorek plazmy

Každý člen panelu byl testován nejméně ve 4 replikátech pro každý běh.

V pěti různých dnech bylo provedeno 5 běhů s použitím kombinací:

- 3 šarže AltoStar® EBV PCR Kit 1.5
- 3 šarže AltoStar® Purification Kit 1.5
- 3 šarže AltoStar® Internal Control 1.5
- 3 přístroje AltoStar® AM16
- 3 přístroje CFX96™ DW Dx

Opakovatelnost (variabilita mezi běhy), variabilita mezi šaržemi a reprodukovatelnost (celková variabilita) byly stanoveny na základě:

- Kvantifikační hodnoty pro vzorky s vysokou a nízkou pozitivitou EBV (viz tabulka 19)
- Hodnoty prahového cyklu ( $C_q^*$ ) pro IC v EBV negativních vzorcích (viz tabulka 20)

\* Upozorňujeme, že zvolený termín  $C_q$  je ekvivalentní označení  $C_t$ , které mohou používat jiné cykléry než systém CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad).

**Tabulka 19:** Přesná data (CV % na základě log10 kvantifikace) pro EBV vysoce a níže pozitivní vzorky plazmy

	EBV vzorek s vysokou pozitivitou (1,00E+04 IU/ml)	EBV vzorek s nízkou pozitivitou (1,00E+03 IU/ml)
Variabilita mezi běhy	0,65–1,90	3,51–5,85
Variabilita mezi šaržemi	1,33	4,05
Celková variabilita	2,52	5,35

**Tabulka 20:** Přesná data (CV % na základě hodnot  $C_q$ ) pro IC v EBV negativních vzorcích plazmy

	IC
Variabilita mezi běhy	0,07–0,18
Variabilita mezi šaržemi	0,12
Celková variabilita	0,65

### 9.1.5 Celková míra selhání

Robustnost výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 byla posouzena testováním 30 EBV negativních vzorků plazmy od individuálních dárců, které byly obohaceny o EBV na konečnou koncentraci 3 x LoD (5,85E+02 IU/ml). Všechny (30 z 30) vzorky byly pozitivní v EBV specifickém fluorescenčním detekčním kanálu (FAM™).

### 9.1.6 Přenos

Přenos je většinou rizikem závislým na pracovním postupu a nezávislým na použitém PCR testu. Pro AltoStar® Workflow (Pracovní proces AltoStar®) byl jako vzorový model použit AltoStar® Parvovirus B19 PCR Kit 1.5. Potenciální křížová kontaminace přenosem z vysoce pozitivních vzorků byla hodnocena střídavým testováním vzorků s vysokou pozitivitou parvoviru B19 (1,00E+07 IU/ml) a negativních vzorků (n = 44 pro každý běh; 2 běhů) pomocí sady AltoStar® Parvovirus B19 PCR Kit 1.5. Nebyl pozorován žádný přenos, tj. všechny vzorky negativní na parvovirus B19 byly testovány jako negativní.

### 9.1.7 Klinický výkon

Výrobek AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 byl hodnocen ve srovnávací studii se soupravou EBV R-gene® (bioMérieux) s označením CE. Retrospektivně bylo paralelně testováno 98 vzorků plazmy pomocí soupravy EBV R-gene® a soupravy AltoStar® EBV PCR Kit 1.5.

Souprava EBV R-gene® (bioMérieux) byla použita v kombinaci se systémem NucliSENS® easyMAG® (bioMérieux).

Výrobek AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 byl použit v kombinaci se sadou AltoStar® Purification Kit 1.5 a interní kontrolou AltoStar® Internal Control 1.5 na systému AltoStar® AM16 a CFX96™ DW Dx.

Pro kvalitativní analýzu byly vyloučeny všechny vzorky s neplatným výsledkem pro jeden nebo oba testy a vzorky s kvantitativním výsledkem pod LoD jednoho nebo obou testů.

Výsledky pro zbývajících 89 vzorků jsou uvedeny v tabulce 21.

**Tabulka 21:** Výsledky hodnocení diagnostické citlivosti a specifčnosti pro EBV u vzorků plazmy

		Souprava EBV R-gene® (bioMérieux)	
		POZITIVNÍ	NEGATIVNÍ
AltoStar® EBV PCR Kit 1.5	POZITIVNÍ	58	0
	NEGATIVNÍ	0	31

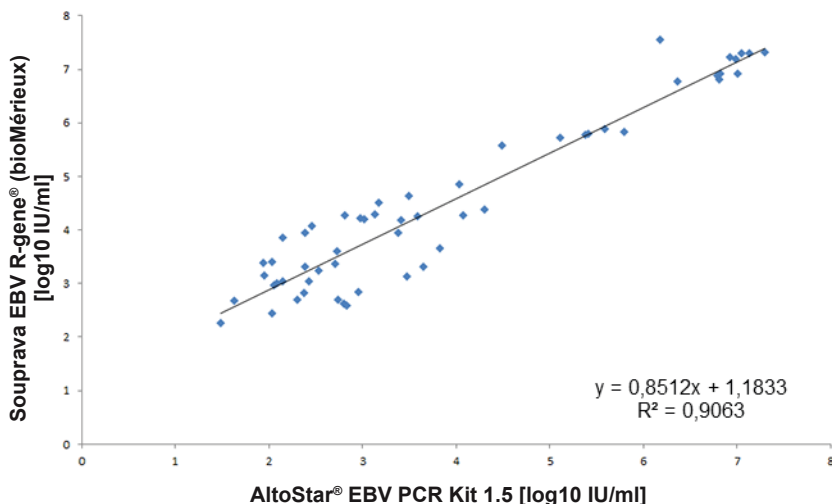
Diagnostická citlivost a specifcita výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 ve srovnání se soupravou EBV R-gene® (bioMérieux) byla 100 %.

Pro kvantitativní korelaci byly vyloučeny vzorky s negativním výsledkem jednoho nebo obou testů a vzorky s kvantitativním výsledkem pod LLoQ jednoho nebo obou testů.



Výsledky zbývajících 55 vzorků byly použity pro kvantitativní korelaci pomocí lineární regrese (viz obrázek 17).

### Souprava EBV R-gene® (bioMérieux) vs. AltoStar® EBV PCR Kit 1.5



**Obrázek 17:** Lineární regrese výsledků získaných pomocí soupravy EBV R-gene® (bioMérieux) (referenční) a pomocí výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5

Mezi kvantitativními výsledky získanými pomocí výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 a soupravy EBV R-gene® (bioMérieux) byla velmi dobrá korelace [korelační koeficient  $R = 0,95$  ( $R^2 = 0,91$ )].

## 9.2 Plná krev

### 9.2.1 Analytická citlivost

Pro stanovení LoD byla vytvořena řada ředění 1. mezinárodního standardu WHO pro virus Epstein-Barr pro techniky amplifikace nukleových kyselin (kód NIBSC: 09/260) v plné krvi v rozsahu od  $1,00E+03$  do  $5,00E+00$  IU/ml.

Každé ředění bylo testováno v 8 replikátech ve 3 různých běžích (celkem n = 24 pro každé ředění) s použitím kombinací:

- 3 šarže AltoStar® EBV PCR Kit 1.5
- 3 šarže AltoStar® Purification Kit 1.5
- 3 šarže AltoStar® Internal Control 1.5
- 3 přístroje AltoStar® AM16
- 3 přístroje CFX96™ DW Dx

Data ze všech běhů byly zkombinovány a pro stanovení hodnoty 95 % LoD byla provedena probitová analýza.

**Tabulka 22:** Výsledky PCR použité pro výpočet analytické citlivosti výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5

Koncentrace [IU/ml]	N [celkem]	N [pozitivní]	Hit rate [%]
1,00E+03	23*	23	100
7,50E+02	24	24	100
5,00E+02	21**	21	100
3,50E+02	24	23	96
2,00E+02	23*	22	96
1,00E+02	24	17	71
5,00E+01	23*	10	43
2,00E+01	24	5	21
1,00E+01	24	3	13
5,00E+00	24	3	13

\* 1 vzorek byl neplatný.

\*\*3 vzorky byly neplatné.

LoD výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 pro detekci EBV v plné krvi je 320 IU/ml (95 % interval spolehlivosti: 213–563 IU/ml).

## 9.2.2 Analytická specifická

Analytická specifická AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 je zajištěna důkladným výběrem oligonukleotidů (primerů a sond). Oligonukleotidy byly zkontrolovány analýzou porovnání sekvencí s veřejně dostupnými sekvencemi, aby se zajistilo, že budou detekovány všechny relevantní EBV genotypy.

Pro ověření analytické specifické výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 byly provedeny následující experimenty (viz kapitoly 9.2.2.1 Negativní vzorky až 9.2.2.3 Zkřížená reaktivita).

### 9.2.2.1 Negativní vzorky

Pomocí výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 bylo testováno 30 EBV negativních vzorků plné krve od individuálních dárců. 29 z 30 vzorků bylo na přítomnost specifické EBV DNA testováno negativně. Všechny vzorky (30 z 30) byly pozitivní na IC. Analytická specifická výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 pro vzorky plné krve je  $\geq 95\%$ .

### 9.2.2.2 Interferující látky

Pro vyhodnocení vlivu potenciálně interferujících endogenních a exogenních látek na výkonnost výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 byly vybrané látky přidány do vzorků plné krve. Tyto vzorky plné krve obsahovaly EBV v koncentraci 3 x LoD (9,60E+02 IU/ml), 5,00E+04 IU/ml a žádné EBV, resp.

Výsledky získané u vzorků obsahujících potenciálně interferující látky byly porovnány s výsledky získanými u vzorků plné krve, které neobsahovaly žádný interferent. Každý vzorek byl zpracován ve 3 replikátech.

U vzorků se zvýšeným obsahem těchto látek nebyla pozorována žádná interference:

- Endogenní látky
  - Bilirubin
  - Hemoglobin
  - Lidská genomová DNA
  - Lidský sérový albumin
  - Triglyceridy
- Exogenní látky
  - Azathioprin
  - Cyklosporin
  - Foscarnet
  - Ganciclovir

#### UPOZORNĚNÍ



Přítomnost inhibitorů PCR (např. heparinu) by mohla způsobit falešně negativní nebo neplatné výsledky.

### 9.2.2.3 Zkřížená reaktivita

Vzhledem k tomu, že v plazmě a plné krvi se pravděpodobně vyskytují stejné patogeny, nebyly v plné krvi testovány žádné další patogeny. Hodnocení zkřížené reaktivity viz kapitola 9.1.2.3 Zkřížená reaktivita.

#### UPOZORNĚNÍ



V případě, že vzorek obsahuje jiné patogeny než EBV, může dojít ke konkurenci s cílovou amplifikací nebo ke křížové reaktivitě, což může způsobit nesprávné výsledky IVD vyšetření.

### 9.2.3 Lineární rozsah

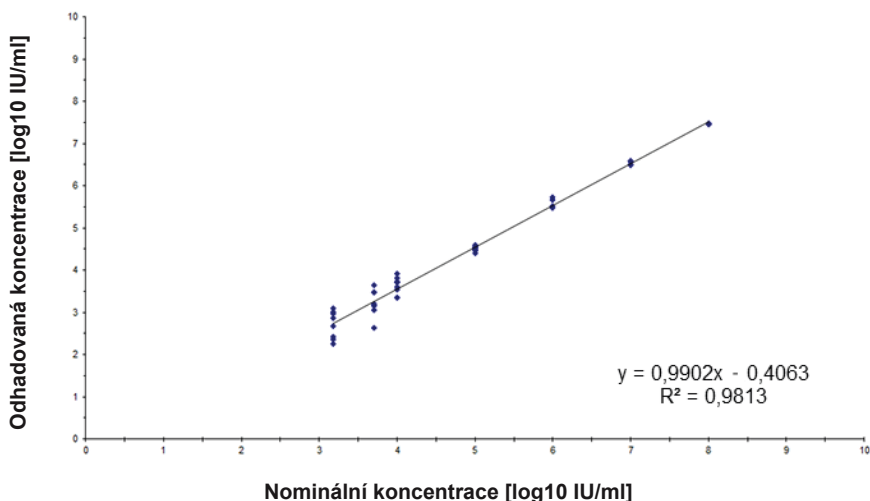
Pro stanovení lineárního rozsahu výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 byla testována ředící řada EBV v plné krvi v rozmezí od 1,00E+08 do 5,00E+02 IU/ml:

- Ředění s koncentrací mezi 1,00E+08 a 1,00E+06 IU/ml byla testována ve 4 replikátech.
- Ředění s koncentrací mezi 1,00E+05 a 5,00E+02 IU/ml byla testována v 8 replikátech.

Analýza byla provedena na základě polynomiální regrese.

Lineární rozsah výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 pro kvantifikaci EBV v plné krvi je 1,50E+03–1,00E+08 IU/ml. Grafické znázornění dat je uvedeno na obrázku 18.

#### log<sub>10</sub> odhadované koncentrace vs. log<sub>10</sub> nominální koncentrace AltoStar® EBV PCR Kit 1.5



**Obrázek 18:** Lineární regresní analýza výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 se vzorky plné krve

## 9.2.4 Přesnost

Přesnost výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 byla hodnocena pomocí panelu složeného z:

- 1 EBV vysoce pozitivní ( $5,00E+04$  IU/ml) vzorek plné krve
- 1 EBV s nízkou pozitivitou [ $7,50E+03$  IU/ml ( $5 \times$  LLoQ)] vzorek plné krve
- 1 EBV negativní vzorek plné krve

Každý člen panelu byl testován nejméně ve 4 replikátech pro každý běh.

V pěti různých dnech bylo provedeno 5 běhů s použitím kombinací:

- 3 šarže AltoStar® EBV PCR Kit 1.5
- 3 šarže AltoStar® Purification Kit 1.5
- 3 šarže AltoStar® Internal Control 1.5
- 3 přístroje AltoStar® AM16
- 3 přístroje CFX96™ DW Dx

Opakovatelnost (variabilita mezi běhy), variabilita mezi šaržemi a reprodukovatelnost (celková variabilita) byly stanoveny na základě:

- Kvantifikační hodnoty pro vzorky s vysokou a nízkou pozitivitou EBV (viz tabulka 23)
- Hodnoty prahového cyklu ( $C_q^*$ ) pro IC v EBV negativních vzorcích (viz tabulka 24)

\* Upozorňujeme, že zvolený termín  $C_q$  je ekvivalentní označení  $C_t$ , které mohou používat jiné cykléry než systém CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad).

**Tabulka 23:** Přesná data (CV % na základě log10 kvantifikace) pro vzorky plné krve s vysokou a nízkou pozitivitou EBV

	EBV vzorek s vysokou pozitivitou (5,00E+04 IU/ml)	EBV vzorek s nízkou pozitivitou (7,50E+03 IU/ml)
Variabilita mezi běhy	0,41–1,74	1,57–2,31
Variabilita mezi šaržemi	2,13	3,82
Celková variabilita	3,68	5,09

**Tabulka 24:** Přesná data (CV % na základě hodnot  $C_q$ ) pro IC v EBV negativních vzorcích plné krve

	IC
Variabilita mezi běhy	0,12–0,95
Variabilita mezi šaržemi	1,56
Celková variabilita	1,49

## 9.2.5 Celková míra selhání

Robustnost výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 byla posouzena testováním 30 EBV negativních vzorků plné krve od individuálních dárců, které byly obohaceny o EBV na konečnou koncentraci 3 x LoD (9,60E+02 IU/ml). Všechny (30 z 30) vzorky byly pozitivní v EBV specifickém fluorescenčním detekčním kanálu (FAM™).

## 9.2.6 Přenos

Viz kapitola 9.1.6 Přenos.

## 9.2.7 Klinický výkon

Výrobek AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 byl hodnocen ve srovnávací studii se soupravou EBV R-gene® (bioMérieux) s označením CE. Retrospektivně bylo paralelně testováno 97 vzorků plné krve pomocí soupravy EBV R-gene® a soupravy AltoStar® EBV PCR Kit 1.5.

Souprava EBV R-gene® (bioMérieux) byla použita v kombinaci se systémem NucliSENS® easyMAG® (bioMérieux).

Výrobek AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 byl použit v kombinaci se sadou AltoStar® Purification Kit 1.5 a interní kontrolou AltoStar® Internal Control 1.5 na systému AltoStar® AM16 a CFX96™ DW Dx.

Pro kvalitativní analýzu byly vyloučeny všechny vzorky s neplatným výsledkem pro jeden nebo oba testy a vzorky s kvantitativním výsledkem pod LoD jednoho nebo obou testů.

Výsledky pro zbývajících 81 vzorků jsou uvedeny v tabulce 25.

**Tabulka 25:** Výsledky hodnocení diagnostické citlivosti a specifity pro vzorky plné krve

		Souprava EBV R-gene® (bioMérieux)	
		POZITIVNÍ	NEGATIVNÍ
AltoStar® EBV PCR Kit 1.5	POZITIVNÍ	49	0
	NEGATIVNÍ	1	31

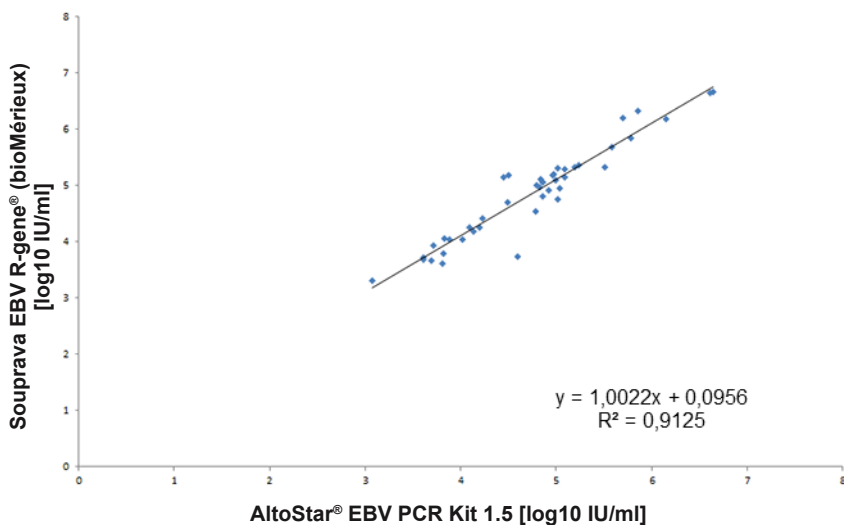
Diagnostická citlivost a specifita výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 ve srovnání se soupravou EBV R-gene® (bioMérieux) byla 98 %, resp. 100 %.

Pro kvantitativní korelaci byly vyloučeny vzorky s negativním výsledkem jednoho nebo obou testů a vzorky s kvantitativním výsledkem pod LLoQ jednoho nebo obou testů.



Výsledky zbývajících 44 vzorků byly použity pro kvantitativní korelaci pomocí lineární regresní analýzy (viz obrázek 19).

### Souprava EBV R-gene® (bioMérieux) vs. AltoStar® EBV PCR Kit 1.5



**Obrázek 19:** Lineární regresní analýza výsledků získaných pomocí soupravy EBV R-gene® (bioMérieux) (referenční) a pomocí výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5

Mezi kvantitativními výsledky získanými pomocí výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 a soupravy EBV R-gene® (bioMérieux) byla velmi dobrá korelace [korelační koeficient  $R = 0,95$  ( $R^2 = 0,91$ )].

## 10. Likvidace

Nebezpečný a biologický odpad likvidujte v souladu s místními a vnitrostátními předpisy. Zbytkové složky výrobku a odpad by se neměly dostat do kanalizace, vodních toků nebo do půdy.

### UPOZORNĚNÍ



Se vzorky vždy zacházejte jako s infekčním a (bio)nebezpečným materiálem v souladu s bezpečnostními a laboratorními postupy. Při rozlití vzorku materiálu neprodleně použijte vhodný dezinfekční prostředek. S kontaminovanými materiály nakládejte jako s biologicky nebezpečnými.

### UPOZORNĚNÍ



Při likvidaci nebezpečného a biologického odpadu je třeba dodržovat místní a vnitrostátní předpisy, aby nedošlo ke kontaminaci životního prostředí.

### POZNÁMKA



PCR destička musí být zlikvidována v zapečetěném stavu, protože PCR Plate Sealing Foil (Těsnicí fólie pro PCR destičky) nelze odstranit.

## 11. Kontrola kvality

V souladu se systémem řízení kvality společnosti altona Diagnostics GmbH certifikovaným podle normy EN ISO 13485 je každá šarže výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 testována podle předem stanovených specifikací, aby byla zajištěna stálá kvalita výrobku.

## 12. Technická podpora

Pro zákaznickou podporu kontaktujte technickou podporu společnosti Altona Diagnostics:

**e-mail:** [support@altona-diagnostics.com](mailto:support@altona-diagnostics.com)

**telefon:** +49-(0)40-5480676-0

### POZNÁMKA



Jakýkoli závažný incident, ke kterému došlo v souvislosti s tímto výrobkem, musí být nahlášen společnosti Altona Diagnostics a příslušnému orgánu ve vaší zemi.

## 13. Literatura

- [1] Cohen, Jonathan, Powderly, William G, and Steven M Opal. Infectious Diseases, Third Edition. Mosby, 2010.
- [2] Pellett PE, Roizman B. Herpesviridae. In: Knipe DM, Howley PM, et al., eds. Fields Virology, 6<sup>th</sup> ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 2013:1803-1822.
- [3] Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW, eds. Manual of Clinical Microbiology, 10<sup>th</sup> ed., American Society for Microbiology, Washington. 2011.
- [4] Fryer JF, Heath AB, Wilkinson DE, Minor PD and the collaborative study 1<sup>st</sup> group Collaborative study to evaluate the proposed WHO International Standard for Epstein-Barr virus (EBV) for nucleic acid amplification (NAT)-based assays. WHO ECBS Report 2011; WHO/BS/11.2172.

## 14. Ochranné známky a prohlášení o vyloučení odpovědnosti

4s3™ (4titude); AltoStar® (altona Diagnostics); ABI Prism®, QuantStudio™ (Applied Biosystems); easyMAG®, NucliSENS®, R-gene® (bioMérieux); CFX96™, CFX Manager™ (Bio-Rad); Rotor-Gene® (QIAGEN); LOINC® (Regenstrief Institute, Inc.); LightCycler® (Roche); FAM™, JOE™, MicroAmp™, VIC™ (Thermo Fisher Scientific).

Registrované názvy, ochranné známky atd. použité v tomto dokumentu, i když nejsou jako takové výslovně označeny, nelze považovat za nechráněné zákonem.
















AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 je diagnostická sada s označením CE podle evropské směrnice o diagnostice *in vitro* 98/79/ES.




Výrobek nemá licenci Health Canada a nemá povolení ani schválení FDA.

Není k dispozici ve všech zemích.

© 2024 altona Diagnostics GmbH; všechna práva vyhrazena.

## 15. Symboly

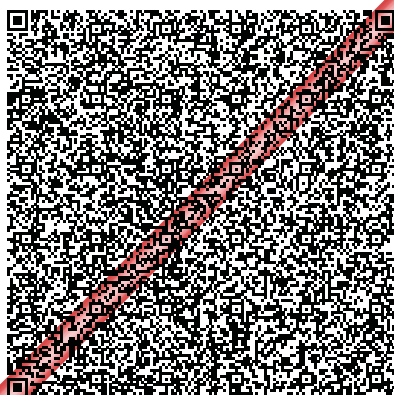
Symbol	Vysvětlení
	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>
	Global Trade Item Number
	Kód šarže
	Obsah
	Barva uzávěru
	Katalogové číslo
	Číslo
	Složka
	Přečtěte si návod k použití
	Obsahuje dostatečné množství pro „n“ testů/reakcí (rxns)
	Teplotní limit
	Datum použitelnosti
	Výrobce
	Upozornění
	Číslo materiálu

Symbol	Vysvětlení
	Verze
	Poznámka
	Obsahuje biologický materiál živočišného původu

## 16. Protokol testu pro software AltoStar® Connect a informace pro integraci LIMS

2D čárový kód na obrázku 20 slouží k instalaci nejnovějšího protokolu testu pro použití výrobku AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 na systému AltoStar® AM16. Čárový kód lze naskenovat pouze v tištěné podobě. Čárový kód můžete naskenovat přímo z příručky nebo vytisknout na samostatný list. Upozorňujeme, že velikost tisku ovlivňuje snímatelnost čárového kódu. Ujistěte se, že je velikost zvětšena na 100 %. Při skenování namiřte skener na červenou čáru na čárovém kódu. Podrobnosti o správě protokolů testů naleznete v příslušné kapitole návodu k použití softwaru AltoStar® Connect. Informace o integraci systému LIMS naleznete v tabulce 27.

AltoStar® EBV PCR Kit 1.5



**Protocol Version:**

**1**

Checksum: ECB19903CAD0B1CF5E245F972B38A6E2B2BE94D5

**Obrázek 20:** Čárový kód protokolu testu pro AltoStar® EBV PCR Kit 1.5

**Tabulka 26:** Seznam změn pro protokol testu

Verze protokolu	Aktualizace vydání
1	Původní verze

**Tabulka 27:** Informace pro integraci LIMS

Použití	Data
Pořadí testu (LIMS → AltoStar® AM16)	AltoStar EBV PCR Kit 1.5
Výsledek testu (CFX96™ DW Dx → LIMS) jednotka	IU/ml
Výsledek testu (CFX96™ DW Dx → LIMS) kanál 1	EBV
Výsledek testu (CFX96™ DW Dx → LIMS) kanál 2	Internal Control

Informace o LOINC® (Logical Observation Identifiers Names and Codes) naleznete na webových stránkách společnosti altona Diagnostics GmbH ([www.altona-diagnostics.com](http://www.altona-diagnostics.com)) nebo kontaktujte technickou podporu společnosti altona Diagnostics (viz kapitola 12. Technická podpora).



## 17. Historie revizí

**Tabulka 28:** Historie revizí

Identifikátor	Datum vydání [měsíc/rok]	Modifikace
MAN-AS0131540- CS-S01	10/2021	Úvodní vydání

**strana záměrně ponechána prázdná**



**always a drop ahead.**

altona Diagnostics GmbH  
Mörkenstr. 12  
22767 Hamburg, Germany

phone +49 40 548 0676 0  
fax +49 40 548 0676 10  
e-mail [info@altona-diagnostics.com](mailto:info@altona-diagnostics.com)

**[www.altona-diagnostics.com](http://www.altona-diagnostics.com)**

