

PROVÁDĚCÍ NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) 2022/1107**ze dne 4. července 2022,****kterým se stanoví společné specifikace pro určité diagnostické zdravotnické prostředky *in vitro* třídy D v souladu s nařízením Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/746****(Text s významem pro EHP)**

EVROPSKÁ KOMISE,

s ohledem na Smlouvu o fungování Evropské unie,

s ohledem na nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/746 ze dne 5. dubna 2017 o diagnostických zdravotnických prostředcích *in vitro* a o zrušení směrnice 98/79/ES a rozhodnutí Komise 2010/227/EU ⁽¹⁾, a zejména na čl. 9 odst. 1 uvedeného nařízení,

vzhledem k těmto důvodům:

- (1) Pro určité diagnostické zdravotnické prostředky *in vitro* třídy D spadající do oblasti působnosti nařízení (EU) 2017/746 neexistují harmonizované normy, pokud jde o některé požadavky přílohy I uvedeného nařízení, a je zapotřebí řešit obavy týkající se veřejného zdraví, jelikož riziko spojené s používáním uvedených prostředků má význam pro veřejné zdraví a bezpečnost pacientů. Je proto vhodné pro uvedené prostředky přijmout společné specifikace, pokud jde o zmíněné požadavky.
- (2) Nařízením (EU) 2017/746 se nahrazuje směrnice Evropského parlamentu a Rady 98/79/ES ⁽²⁾. Společné technické specifikace stanovené v rozhodnutí Komise 2002/364/ES ⁽³⁾ pro některé prostředky, na něž se vztahuje směrnice 98/79/ES, jsou i nadále relevantní. Uvedené společné technické specifikace byly proto zohledněny a v případě potřeby aktualizovány tak, aby odražely nejnovější vývoj.
- (3) Aby se výrobcům, jiným hospodářským subjektům, oznámeným subjektům a dalším aktérům umožnilo přizpůsobit se tomuto nařízení a aby se zajistilo jeho řádné uplatňování, je vhodné odložit jeho použitelnost. V zájmu veřejného zdraví a bezpečnosti pacientů by však výrobci měli mít možnost dobrovolně dodržovat společné specifikace stanovené v tomto nařízení ještě před datem jeho použitelnosti.
- (4) Aby se zajistila trvale vysoká úroveň bezpečnosti a funkční způsobilosti prostředků, mělo by být jako přechodné opatření stanoveno, že prostředky, které jsou ve shodě s rozhodnutím 2002/364/ES, se až do data použitelnosti tohoto nařízení považují za prostředky, které jsou ve shodě s požadavky na určité vlastnosti z hlediska funkční způsobilosti stanovenými v příloze I nařízení (EU) 2017/746.
- (5) Byla konzultována Koordinační skupina pro zdravotnické prostředky.
- (6) Opatření stanovená tímto nařízením jsou v souladu se stanoviskem Výboru pro zdravotnické prostředky,

PŘIJALA TOTO NAŘÍZENÍ:

Článek 1**Společné specifikace**

Tímto nařízením se stanoví společné specifikace pro určité diagnostické zdravotnické prostředky *in vitro* třídy D, pokud jde o požadavky týkající se vlastností z hlediska funkční způsobilosti stanovené v příloze I bodě 9.1 písm. a) a b), bodě 9.3 a bodě 9.4 písm. a) nařízení (EU) 2017/746.

⁽¹⁾ Úř. věst. L 117, 5.5.2017, s. 176.

⁽²⁾ Směrnice Evropského parlamentu a Rady 98/79/ES ze dne 27. října 1998 o diagnostických zdravotnických prostředcích *in vitro* (Úř. věst. L 331, 7.12.1998, s. 1).

⁽³⁾ Rozhodnutí Komise 2002/364/ES ze dne 7. května 2002 o společných technických specifikacích pro diagnostické zdravotnické prostředky *in vitro* (Úř. věst. L 131, 16.5.2002, s. 17).

Příloha I stanoví společné specifikace pro prostředky, na něž se vztahují přílohy II až XIII, jak je specifikováno ve zmíněné příloze.

Příloha II stanoví společné specifikace pro prostředky určené k detekci antigenů krevních skupin v systémech krevních skupin ABO, Rh, Kell, Duffy a Kidd.

Příloha III stanoví společné specifikace pro prostředky určené k detekci nebo kvantifikaci markerů infekce virem lidského imunodeficitu (HIV).

Příloha IV stanoví společné specifikace pro prostředky určené k detekci nebo kvantifikaci markerů infekce lidským T-lymfotropním virem (HTLV).

Příloha V stanoví společné specifikace pro prostředky určené k detekci nebo kvantifikaci markerů infekce virem hepatitidy C (HCV).

Příloha VI stanoví společné specifikace pro prostředky určené k detekci nebo kvantifikaci markerů infekce virem hepatitidy B (HBV).

Příloha VII stanoví společné specifikace pro prostředky určené k detekci nebo kvantifikaci markerů infekce virem hepatitidy D (HDV).

Příloha VIII stanoví společné specifikace pro prostředky určené k detekci markerů variantní Creutzfeldtovy-Jakobovy nemoci (vCJD).

Příloha IX stanoví společné specifikace pro prostředky určené k detekci nebo kvantifikaci markerů infekce cytomegalovirem (CMV).

Příloha X stanoví společné specifikace pro prostředky určené k detekci nebo kvantifikaci markerů infekce virem Epstein-Barrové (EBV).

Příloha XI stanoví společné specifikace pro prostředky určené k detekci markerů infekce bakterií *Treponema pallidum*.

Příloha XII stanoví společné specifikace pro prostředky určené k detekci nebo kvantifikaci markerů infekce parazitem *Trypanosoma cruzi*.

Příloha XIII stanoví společné specifikace pro prostředky určené k detekci nebo kvantifikaci markerů infekce koronavirem 2 způsobujícím těžký akutní respirační syndrom (SARS-CoV-2).

Článek 2

Definice

Pro účely tohoto nařízení se použijí tyto definice:

- 1) „pravdivě pozitivním“ se rozumí vzorek, o němž je známo, že je pozitivní pro cílový marker a je prostředkem správně klasifikován;
- 2) „falešně negativním“ se rozumí vzorek, o němž je známo, že je pozitivní pro cílový marker a je prostředkem nesprávně klasifikován;
- 3) „falešně pozitivním“ se rozumí vzorek, o němž je známo, že je negativní pro cílový marker a je prostředkem nesprávně klasifikován;
- 4) „mezí detekce (LOD)“ se rozumí nejmenší množství cílového markeru, které lze detekovat;
- 5) „technikami amplifikace nukleových kyselin (NAT)“ se rozumí metody detekce a/nebo kvantifikace nukleových kyselin buď amplifikační cílové sekvence, amplifikační signálu, nebo hybridizací;
- 6) „systémem NAT“ se rozumí kombinace prostředků používaných k extrakci, amplifikaci a detekci nukleových kyselin;
- 7) „rychlým testem“ se rozumí kvalitativní nebo semikvantitativní diagnostický zdravotnický prostředek *in vitro* používaný jednotlivě nebo v malé sérii, který zahrnuje neautomatizované postupy (kromě čtení výsledků) a byl navržen za účelem získání rychlého výsledku;

- 8) „hodnověrností“ se rozumí schopnost analytického postupu nenechat se ovlivnit malými, avšak záměrnými odchylkami parametrů metody a je známkou spolehlivosti postupu při běžném používání;
- 9) „křížovou reaktivitou“ se rozumí schopnost necílových analytů nebo markerů vyvolat falešně pozitivní výsledky zkoušky z důvodu podobnosti, např. schopnost nespecifických protilátek vázat se na testovaný antigen při testu na protilátky nebo schopnost necílových nukleových kyselin reagovat při zkoušce NAT;
- 10) „interferencí“ se rozumí schopnost nesouvisejících látek ovlivnit výsledky zkoušky;
- 11) „četností selhání celého systému“ se rozumí frekvence selhání v případě, kdy celý proces probíhá podle pokynů výroby;
- 12) „zkouškou první linie“ se rozumí prostředek používaný k detekci markeru nebo analytu, po jehož použití může následovat použití konfirmačního testu; prostředky určené výhradně k tomu, aby byly použity ke sledování dříve určeného markeru nebo analytu, se za zkoušky první linie nepovažují;
- 13) „potvrzující zkouškou“ se rozumí prostředek používaný pro potvrzení reaktivního výsledku zkoušky první linie;
- 14) „doplňující zkouškou“ se rozumí prostředek, který se používá k poskytnutí dalších informací pro interpretaci výsledku jiné zkoušky;
- 15) „prostředkem pro typizaci viru“ se rozumí prostředek pro typizaci s již známými pozitivními vzorky, který se nepoužívá pro primární diagnózu infekce nebo pro screening;
- 16) „95% pozitivní mezní hodnotou“ se rozumí koncentrace analytu v případě, že 95 % testů po sériových ředěních mezinárodního referenčního materiálu, pokud je k dispozici, např. podle mezinárodní normy Světové zdravotnické organizace (WHO) nebo referenčního materiálu kalibrovaného podle mezinárodní normy WHO, vykazuje pozitivní výsledky.

Článek 3

Přechodná ustanovení

1. Ode dne 25. července 2022 do dne 25. července 2024 se prostředky, které jsou ve shodě se společnými technickými specifikacemi stanovenými v rozhodnutí 2002/364/ES, považují za prostředky, které jsou ve shodě s požadavky týkajícími vlastností z hlediska funkční způsobilosti stanovenými v příloze I bodě 9.1 písm. a) a b), bodě 9.3 a bodě 9.4 písm. a) nařízení (EU) 2017/746.

Výrobci prostředků, které nejsou ve shodě se společnými technickými specifikacemi stanovenými v rozhodnutí 2002/364/ES, během uvedené doby řádně odůvodní, že přijali řešení zajišťující úroveň bezpečnosti a funkční způsobilosti, která je úrovní stanovené ve společných technických specifikacích přinejmenším rovnocenná.

2. Ode dne 25. července 2022 do dne 25. července 2024 se prostředky, které jsou ve shodě se společnými specifikacemi stanovenými tímto nařízením, považují za prostředky, které jsou ve shodě s požadavky týkajícími vlastností z hlediska funkční způsobilosti stanovenými v příloze I bodě 9.1 písm. a) a b), bodě 9.3 a bodě 9.4 písm. a) nařízení (EU) 2017/746.

Článek 4

Vstup v platnost a datum použitelnosti

Toto nařízení vstupuje v platnost dvacátým dnem po vyhlášení v *Úředním věstníku Evropské unie*.

Použije se ode dne 25. července 2024.

Článek 3 se však použije ode dne 25. července 2022.

Toto nařízení je závazné v celém rozsahu a přímo použitelné ve všech členských státech.

V Bruselu dne 4. července 2022.

Za Komisi
předsedkyně
Ursula VON DER LEYEN

OBECNÉ SPOLEČNÉ SPECIFIKACE

Část I – Požadavky na vlastnosti z hlediska funkční způsobilosti prostředků, na něž se vztahují přílohy II až XIII

Vlastnosti z hlediska funkční způsobilosti	Požadavek
Veškeré vlastnosti z hlediska funkční způsobilosti stanovené v příloze I bodě 9.1 písm. a) a b), bodě 9.3 a bodě 9.4 písm. a) nařízení (EU) 2017/746	<ol style="list-style-type: none"> 1. Určení vlastností z hlediska funkční způsobilosti se provede přímým srovnáním s prostředkem odpovídajícím současnému stavu vědeckých poznatků. Prostředek použitý pro srovnání musí být prostředek opatřený označením CE, pokud je v době hodnocení funkční způsobilosti na trhu. 2. Prostředky používané k určení statusu vzorků použitých k určení vlastností z hlediska funkční způsobilosti musí být prostředky odpovídající současnému stavu vědeckých poznatků opatřené označením CE. 3. Pokud se během určování vlastností z hlediska funkční způsobilosti vyskytnou rozporné výsledky, tyto rozpory se pokud možno odstraní jedním nebo několika z těchto způsobů: <ul style="list-style-type: none"> — rozporný vzorek se vyhodnotí v dalších prostředcích, — použije se alternativní metoda nebo marker, — přezkoumá se klinický stav a diagnóza pacienta, — provede se test vzorků pocházejících z následných odběrů. 4. Určení vlastností z hlediska funkční způsobilosti se provede na populaci odpovídající evropské populaci.
Četnost selhání celého systému	5. V rámci požadované analýzy rizik se četnost selhání celého systému vedoucí k falešně negativním výsledkům určí při opakovaných testech na slabě pozitivních vzorcích.
Analytická citlivost a analytická specifita, interference	6. U prostředků určených k použití s plazmou ověří výrobce funkční způsobilost prostředku při použití všech antikoagulantů, které výrobce uvádí pro použití s prostředkem, alespoň u 50 vzorků plazmy (v případě prostředků určených k detekci a/nebo kvantifikaci infekčních agens 25 pozitivních a 25 negativních).
Analytická a diagnostická specifita, interference a křížová reaktivita	7. Výrobce vybere látky s potenciálně vyšším rizikem interference, které mají být hodnoceny, s přihlédnutím ke složení činidel a konfiguraci prostředku.
Shoda mezi jednotlivými šaržemi	<ol style="list-style-type: none"> 8. U prostředků určených k detekci antigenů a protilátek musí kritéria výrobce pro testování šarží zajistit, aby každá šarže důsledně identifikovala příslušné antigeny, epitopy a protilátky a byla vhodná pro udávané druhy vzorků. 9. Výstupní kontrola šarží prováděná výrobcem pro testy první linie musí zahrnovat alespoň 100 vzorků negativních na příslušný analyt ⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Tento požadavek se nevztahuje na prostředky uvedené v tabulkách 1 a 2 přílohy XIII.

Část II – Požadavky na vlastnosti z hlediska funkční způsobilosti prostředků uvedených v přílohách III až XIII

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Požadavek
Analytická a diagnostická citlivost	<p>10. Prostředky určené výrobcem k testování tělních tekutin jiných než sérum nebo plazma, např. moči, slin atd., musí splňovat tytéž požadavky jako prostředky pro sérum nebo plazmu. Výrobce otestuje vzorky od stejných osob jak v prostředcích, které mají být schváleny, tak v příslušném prostředku pro sérum nebo plazmu. (1)</p> <p>11. Prostředky pro sebetestování musí splňovat tytéž požadavky jako příslušné prostředky pro profesionální použití.</p> <p>12. Pozitivní vzorky použité při hodnocení funkční způsobilosti se vyberou tak, aby odrážely různá stadia příslušného onemocnění (příslušných onemocnění), různé druhy protilátek, různé genotypy, různé subtypy, mutanty atd.</p> <p>13. Sérokonverzní panely se zahájí negativním odběrem (negativními odběry) a pokud možno musí obnášet krátké intervaly mezi odběry. Pokud to není možné, uvedou výrobci ve zprávě o hodnocení funkční způsobilosti odůvodnění.</p> <p>14. Pokud jde o prostředky určené výrobcem k použití se sérem a plazmou, musí hodnocení funkční způsobilosti prokázat ekvivalenci séra a plazmy. Ekvivalence musí být prokázána alespoň u 25 pozitivních odběrů od dárců.</p> <p>15. U prostředků, které detekují nebo kvantifikují antigeny nebo nukleové kyseliny, musí být v návodu k použití uveden cílový antigen (cílové antigeny), resp. cílový region (cílové regiony) nukleové kyseliny.</p> <p>16. U prostředků, které detekují nebo kvantifikují protilátky proti infekčnímu agens, musí být v návodu k použití uveden cílový antigen (cílové antigeny) zmíněných protilátek.</p>
Analytická a diagnostická specifčnost	<p>17. Prostředky určené výrobcem k testování tělních tekutin jiných než sérum nebo plazma, např. moči, slin atd., musí splňovat tytéž požadavky jako prostředky pro sérum nebo plazmu. Při hodnocení funkční způsobilosti se testují vzorky od stejných osob jak v prostředcích, které mají být schváleny, tak v příslušném prostředku pro sérum nebo plazmu. (1)</p> <p>18. Prostředky pro sebetestování musí splňovat tytéž požadavky jako příslušné prostředky pro profesionální použití.</p> <p>19. Negativní vzorky použité při hodnocení funkční způsobilosti musí být reprezentativní z hlediska cílové populace, pro kterou je prostředek určen, např. dárců krve, hospitalizovaných pacientů, těhotných žen atd.</p> <p>20. Specifcita musí být založena na opakovaně reaktivních falešně pozitivních výsledcích u vzorků negativních na cílový marker.</p> <p>21. Pokud jde o prostředky určené výrobcem k použití se sérem a plazmou, musí hodnocení funkční způsobilosti prokázat ekvivalenci séra a plazmy. Ekvivalence musí být prokázána alespoň u 25 negativních odběrů od dárců.</p>

Analytická a diagnostická specifita, interference a křížová reaktivita	22. Výrobce zahrne v příslušných případech např. tyto vzorky: <ul style="list-style-type: none"> — vzorky představující příbuzné infekce, — vzorky od žen, které byly těhotné více než jednou, nebo od pacientů pozitivních na revmatoidní faktor (RF), — vzorky obsahující lidské protilátky vůči komponentům expresního systému, např. proti <i>E-coli</i> nebo proti kvasinkovým antigenům.
Funkční způsobilost zjištěná laickými osobami	23. Příslušné části hodnocení funkční způsobilosti provedou (nebo zopakují) vhodné laické osoby, aby byla validována funkčnost prostředku a návod k použití. Laické osoby, které byly vybrány pro hodnocení funkční způsobilosti, musí reprezentovat zamýšlenou skupinu uživatelů.

(¹) Tento požadavek se nevztahuje na prostředky uvedené v tabulkách 4, 5 a 6 přílohy XIII.

SPOLEČNÉ SPECIFIKACE PRO PROSTŘEDKY URČENÉ K DETEKCI ANTIGENŮ KREVNÍCH SKUPIN V SYSTÉMECH KREVNÍCH SKUPIN ABO, RH, KELL, DUFFY A KIDD

Oblast působnosti

Tato příloha se použije na prostředky určené k detekci antigenů krevních skupin v systémech krevních skupin ABO, Rh, Kell, Duffy a Kidd.

Tabulka 1 se použije na hodnocení funkční způsobilosti prostředků k detekci antigenů krevních skupin v systémech krevních skupin ABO, Rh, Kell, Duffy a Kidd.

Tabulka 2 se použije na testování shody mezi jednotlivými šaržemi prováděné výrobcem u činidel a výsledků reakcí činidel pro stanovení antigenů krevních skupin v systémech krevních skupin ABO, Rh, Kell, Duffy a Kidd (testovací činidla, kontrolní materiály).

Tabulka 1. Hodnocení funkční způsobilosti prostředků k detekci antigenů krevních skupin v systémech krevních skupin ABO, Rh, Kell, Duffy a Kidd

Specificita činidla	Počet testů pro každou metodu udávaný výrobcem	Celkový počet vzorků, které mají být testovány před uvedením prostředku na trh	Celkový počet vzorků, které mají být testovány v případě nového složení nebo v případě použití dobře charakterizovaných činidel	Obecná kvalifikační kritéria	Konkrétní kvalifikační kritéria	Kritéria přijatelnosti
Anti-ABO1 (Anti-A), Anti-ABO2 (Anti-B), Anti-ABO3 (Anti-A, B)	≥ 500	≥ 3 000	≥ 1 000	Klinické vzorky: 10 % testované populace Novorozenecké vzorky: > 2 % testované populace	Vzorky ABO musí obsahovat > 40 % vzorků pozitivních na antigen A a B, které mohou obsahovat vzorky ze skupiny A, skupiny B a skupiny AB	Všechna činidla musí vykazovat srovnatelnou funkční způsobilost jako prostředky odpovídající současnému stavu vědeckých poznatků opatřené označením CE, pokud jde o udávanou reaktivitu prostředku. Pokud se u prostředků opatřených označením CE mění nebo rozšiřuje oblast jejich použití, provedou se další testy v souladu s požadavky uvedenými ve sloupci 2 výše („Počet testů pro každou metodu udávaný výrobcem“).
Anti-RH1 (Anti-D)	≥ 500	≥ 3 000	≥ 1 000		Hodnocení funkční způsobilosti činidel Anti-D musí zahrnovat testy na řadě vzorků slabého RH1 (D) a parciálního RH1 (D) v závislosti na určeném použití výrobku. Slabé a/nebo parciální buňky D musí představovat > 2 % pozitivních vzorků RH1 (D).	
Anti-RH2 (Anti-C), Anti-RH4 (Anti-c), Anti- RH3 (Anti-E)	≥ 100	≥ 1 000	≥ 200			
Anti-RH5 (Anti-e)	≥ 100	≥ 500	≥ 200			

Anti-KEL1 (Anti-K)	≥ 100	≥ 500	≥ 200		
Anti-JK1 (Jk ^a), Anti-JK2 (Jk ^b)	≥ 100	≥ 500	≥ 200		
Anti-FY1 (Fy ^a), Anti-FY2 (Fy ^b)	≥ 100	≥ 500	≥ 200		

Poznámka: Pozitivní vzorky použité při hodnocení funkční způsobilosti se vyberou tak, aby odrážely proměnlivou a slabou expresi antigenu.

Tabulka 2. Testování shody mezi jednotlivými šaržemi prováděné výrobcem u čidel a výsledků reakcí čidel pro stanovení antigenů krevních skupin v systémech krevních skupin ABO, Rh, Kell, Duffy a Kidd

1. Testovací čidla

Čidla krevních skupin	Minimální počet kontrolních buněk, které mají být testovány v rámci testování specifity				Kritéria přijatelnosti		
	Pozitivní reakce				Negativní reakce		
	A1	A2B	Ax		B	O	
Anti-ABO1 (Anti-A)	2	2	2 (!)		2	2	
	B	A1B			A1	O	
Anti-ABO2 (Anti-B)	2	2			2	2	
	A1	A2	Ax	B	O		
Anti-ABO3 (Anti-A,B)	2	2	2 (!) ¹	2	4		
	R1r	R2r	Slabé D		r'r	r''r	rr
Anti-RH1 (Anti-D)	2	2	2 (!)		1	1	1
	R1R2	R1r	r'r		R2R2	r''r	rr
Anti-RH2 (Anti-C)	2	1	1		1	1	1
	R1R2	R1r	r'r		R1R1		
Anti-RH4 (Anti-c)	1	2	1		3		
	R1R2	R2r	r''r		R1R1	r'r	rr

V souladu s výsledky získanými z údajů hodnocení funkční způsobilosti musí každá šarže čidla vykazovat u všech technik udávaných výrobcem jednoznačně pozitivní nebo negativní výsledky.

Anti-RH3 (Anti-E)	2	1	1			1	1	1
	R1R2	R2r	r''r			R2R2		
Anti-RH5 (Anti-e)	2	1	1			3		
	Kk					kk		
Anti-KEL1 (Anti-K)	4					3		
	Jk(a+b+)					Jk(a-b+)		
Anti-JK1 (Anti-Jk ^a)	4					3		
	Jk(a+b+)					Jk(a+b-)		
Anti-JK2 (Anti-Jk ^b)	4					3		
	Fy(a+b+)					Fy(a-b+)		
Anti-FY1 (Anti-Fy ^a)	4					3		
	Fy(a+b+)					Fy(a+b-)		
Anti-FY2 (Anti-Fy ^b)	4					3		

Poznámka: Polyklonální činidla musí být testována na širším panelu buněk, aby se potvrdila specifita a vyloučila přítomnost nežádoucích znečišťujících protilátek.

(¹) Pouze pokud je udávána reaktivita vůči těmto antigenům.

2. Kontrolní materiály (červené krvinky)

Fenotyp červených krvinek použitých při kontrole výše uvedených činidel pro určování krevních skupin musí být potvrzen s použitím zavedeného prostředku (zavedených prostředků).

SPOLEČNÉ SPECIFIKACE PRO PROSTŘEDKY URČENÉ K DETEKCI NEBO KVANTIFIKACI MARKERŮ INFEKCE VIREM LIDSKÉHO IMUNODEFICITU (HIV)

Oblast působnosti

1. Tato příloha se použije na prostředky určené k detekci nebo kvantifikaci markerů infekce virem lidského imunodeficitu (HIV).

Tabulka 1 se použije na testy první linie na protilátku HIV-1/2 (anti-HIV-1/2) a kombinované testy první linie na antigen/protilátku na HIV-1/2 (HIV-1/2 Ag/Ab), které nejsou rychlými testy.

Tabulka 2 se použije na testy první linie na anti-HIV-1/2 a HIV-1/2 Ag/Ab, které jsou rychlými testy.

Tabulka 3 se použije na konfirmační testy na anti-HIV-1/2.

Tabulka 4 se použije na testy na antigen na HIV-1 a HIV Ag/Ab.

Tabulka 5 se použije na kvalitativní a kvantitativní prostředky NAT pro ribonukleovou kyselinu HIV (RNA).

Tabulka 6 se použije na samotesty na HIV-1/2.

Definice

2. Pro účely této přílohy se použijí tyto definice:

(1) „sérokonzerním vzorkem HIV“ se rozumí:

- pozitivní na antigen p24 a/nebo na RNA HIV a
- zjištěný pomocí testů první linie na protilátky a
- pozitivní nebo neurčitý při konfirmačních testech;

(2) „vzorkem časné sérokonzernze HIV“ se rozumí:

- pozitivní na antigen p24 a/nebo na RNA HIV a
- nezjištěný pomocí testů první linie na protilátky a
- neurčitý nebo negativní při konfirmačních testech.

Tabulka 1. Testy první linie: anti-HIV-1/2, HIV-1/2 Ag/Ab (požadavky na detekci protilátek)

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 400 HIV-1 ≥ 100 HIV-2 včetně 40 non-B subtypů včetně 25 pozitivních vzorků čerstvého séra „z téhož dne“ (≤ 1 den po odběru vzorků)	veškeré pravdivě pozitivní vzorky se označí jako pozitivní

		veškeré dostupné subtypy HIV/1 by měly být reprezentovány nejméně 3 vzorky na jeden subtyp	
	Sérokonverzní panely	≥ 30 panelů otestuje se alespoň 40 vzorků časně sérokonverze HIV	diagnostická citlivost během sérokonverze musí odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků veškeré sérokonverzní vzorky HIV se označí jako pozitivní
Diagnostická specifita	Náhodně vybraní dárci krve (včetně prvodárců) ⁽¹⁾	≥ 5 000	≥ 99,5 %
	Hospitalizovaní pacienti	≥ 200	Určí se případná omezení specifity
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 100 celkem (např. RF+, z příbuzných virových infekcí, od těhotných žen, jedinců, kteří byli nedávno očkováni proti jakýmkoli infekčním agens)	

⁽¹⁾ Musí být zkoumána populace dárců krve nejméně ze dvou transfuzních stanic a musí se jednat o po sobě následující odběry krve, aniž byli vyloučeni prvodárci.

Tabulka 2. Rychlé testy: anti-HIV-1/2, HIV-1/2 Ag/Ab (požadavky na detekci protilátek)

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 400 HIV-1 ≥ 100 HIV-2 včetně 40 non-B subtypů veškeré dostupné subtypy HIV/1 by měly být reprezentovány nejméně 3 vzorky na jeden subtyp	veškeré pravdivě pozitivní vzorky se označí jako pozitivní
	Sérokonverzní panely	≥ 30 panelů otestuje se alespoň 40 vzorků časně sérokonverze HIV	diagnostická citlivost během sérokonverze musí odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků veškeré sérokonverzní vzorky HIV se označí jako pozitivní
Diagnostická specifita	Náhodně vybraní dárci krve (včetně prvodárců)	≥ 1 000	≥ 99 %

	Hospitalizovaní pacienti	≥ 200	Určí se případná omezení specifity
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 200 vzorků od těhotných žen ≥ 100 dalších vzorků s potenciální křížovou reaktivitou celkem (např. RF+, z příbuzných infekcí)	

Tabulka 3. Konfirmační testy: anti-HIV-1/2

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 200 HIV-1 ≥ 100 HIV-2 Včetně různých stadií infekce a odrážející různé druhy protilátek	Identifikace jako „potvrzený pozitivní“ nebo „neurčitý“, nikoli jako „negativní“
	Sérokonverzní panely	≥ 15 sérokonverzních panelů / panelů s nízkým titrem ≥ 40 vzorků časně sérokonverze HIV	Diagnostická citlivost během sérokonverze musí odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků Veškeré sérokonverzní vzorky HIV se označí jako pozitivní
Diagnostická specifita	Dárci krve	≥ 200	Žádné falešně pozitivní výsledky / žádná neutralizace
	Hospitalizovaní pacienti	≥ 200	
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 50 celkem (včetně vzorků od těhotných žen, vzorků s neurčitými výsledky v dalších konfirmačních testech)	

Tabulka 4. Testy na antigen: HIV-1, HIV Ag/Ab (požadavky na detekci antigenu)

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 50 vzorků pozitivních na antigen HIV-1 ≥ 50 supernatantů buněčné kultury, včetně různých subtypů HIV-1 a HIV-2	veškeré pravdivě pozitivní vzorky se označí jako pozitivní (v příslušných případech po neutralizaci)
	Sérokonverzní panely	≥ 20 sérokonverzních panelů / panelů s nízkým titrem ≥ 40 vzorků časně sérokonverze HIV	diagnostická citlivost během sérokonverze musí odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků veškeré sérokonverzní vzorky HIV se označí jako pozitivní

Analytická citlivost	První mezinárodní referenční činidlo HIV-1 p24 Antigen, kód NIBSC: 90/636		≤ 2 IU/ml
Diagnostická specifita	Dárci krve	≥ 200	≥ 99,5 % po neutralizaci nebo, není-li neutralizační test k dispozici, po rozlišení statusu vzorku
	Hospitalizovaní pacienti	≥ 200	Určí se případná omezení specifity
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 50	

Tabulka 5. Kvalitativní a kvantitativní prostředky NAT pro RNA HIV

1. Pokud jde o prostředky k amplifikaci cílové sekvence, musí kontrola funkčnosti každého vzorku (vnitřní kontrola) odrážet současný stav vědeckých poznatků. Tato kontrola se musí pokud možno provádět během celého procesu, tj. při extrakci, amplifikaci/hybridizaci, detekci.
2. Detekce genotypu a/nebo subtypu se prokáže vhodnou validací návrhu primeru nebo sondy a musí být rovněž validována testováním vzorků se stanoveným genotypem.
3. Potenciální křížová reaktivita nečílových sekvencí nukleových kyselin se analyzuje vhodnou validací návrhu primeru nebo sondy a musí být rovněž validována testováním vybraných vzorků.
4. Výsledky z kvantitativních prostředků NAT musí být prokazatelně získány na základě mezinárodních norem nebo kalibrovaných referenčních materiálů, pokud jsou k dispozici, a musí být vyjádřeny v mezinárodních jednotkách používaných v dané oblasti použití.
5. Kvalitativní prostředky NAT pro HIV určené k detekci přítomnosti HIV v krvi, krevních složkách, buňkách, tkáních nebo orgánech nebo v jakémkoli z jejich derivátů, aby bylo možné posoudit jejich vhodnost pro transfuzi, transplantaci nebo podávání buněk, musí být navrženy tak, aby umožňovaly detekci HIV-1 i HIV-2.
6. Kvalitativní prostředky NAT pro HIV jiné než prostředky pro typizaci viru musí být navrženy tak, aby kompenzovaly potenciální selhání cílového regionu NAT pro HIV-1, a sice použitím dvou nezávislých cílových regionů.

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Analytická citlivost	mezinárodní norma WHO HIV-1 RNA; mezinárodní norma WHO HIV-2 RNA; nebo kalibrované referenční materiály	Citlivost NAT a mez detekce (LOD) NAT se validují sériovým ředěním referenčních materiálů, testováním replikátů (minimálně 24) při různých koncentracích analytu, včetně koncentrací s přechodem z pozitivních na negativní výsledky s příslušným prostředkem NAT.	Podle současného stavu vědeckých poznatků

		<p>LOD se vyjádří jako 95% pozitivní mezní hodnota (IU/ml) po statistické analýze (např. Probit). (1)</p> <p>Kvantitativní NAT: definice dolní a horní meze kvantifikace, přesnost, správnost, „lineární“ rozsah měření, „dynamický rozsah“.</p> <p>Reprodukovatelnost při různých stupních koncentrace</p>	
Citlivost na genotyp/subtyp HIV	<p>veškeré relevantní genotypy/subtypy, pokud možno z mezinárodních referenčních materiálů</p> <p>možné náhrady za vzácné subtypy HIV (musí být kvantifikováno vhodnými metodami): supernatanty buněčné kultury; transkripty <i>in vitro</i>; plasmidy</p>	<p>Kvalitativní NAT: nejméně 10 vzorků na jeden genotyp nebo subtyp</p> <p>Kvantitativní NAT: sériové ředění k prokázání účinnosti kvantifikace</p>	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Diagnostická citlivost	<p>Pozitivní vzorky odrážející běžné podmínky uživatelů (např. bez předběžného výběru vzorků)</p>	<p>Kvantitativní NAT: ≥ 100</p> <p>Souběžně se stanoví výsledky srovnatelné s jiným systémem NAT</p>	Podle současného stavu vědeckých poznatků
	Sérokonverzní panely	<p>Kvalitativní NAT: ≥ 10 panelů</p> <p>Souběžně se stanoví výsledky srovnatelné s jiným systémem NAT</p>	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Diagnostická specifita	Vzorky dárců krve	<p>Kvalitativní NAT: ≥ 500</p> <p>Kvantitativní NAT: ≥ 100</p>	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 10 vzorků pozitivních na lidský retrovirus (např. HTLV)	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Přenos	Vysoce pozitivní na RNA HIV; negativní na RNA HIV	Během studií hodnověrnosti se provede alespoň pět řad testů střídavě s vysoce pozitivními a negativními vzorky. Titry viru u vysoce pozitivních vzorků musí být reprezentativní pro vysoké titry viru, které se vyskytují přirozeně.	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Detekce v souvislosti se statusem protilátek	pozitivní na RNA HIV; negativní na anti-HIV, pozitivní na anti-HIV	Vzorky před sérokonverzí (negativní na anti-HIV) a po sérokonverzi (pozitivní na anti-HIV)	Podle současného stavu vědeckých poznatků

Četnost selhání celého systému	Slabě pozitivní na RNA HIV	Otestuje se ≥ 100 vzorků slabě pozitivních na RNA HIV. Tyto vzorky musí obsahovat koncentraci viru rovnající se trojnásobku 95% pozitivní mezní koncentrace viru.	≥ 99 % pozitivních
--------------------------------	----------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------

(¹) Odkaz: Evropský lékopis 9.0, 2.6.21 Techniky amplifikace nukleových kyselin, validace.

Tabulka 6. Dodatečné požadavky na samotesty na HIV-1/2

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorky (¹)	Počet laických osob
Interpretace výsledků (²)	Interpretace výsledků (³) laickými osobami odrážející tento rozsah úrovní reaktivity: — nereaktivní — reaktivní — slabě reaktivní (⁴) — neplatný	≥ 100
Diagnostická citlivost	laické osoby, o nichž je známo, že jsou pozitivní	≥ 200
Diagnostická specifita	laické osoby, které neznají svůj status	≥ 400
	laické osoby, u nichž existuje vysoké riziko nákazy danou infekcí	≥ 200

(¹) Pro každou tělní tekutinu, kterou lze s prostředkem použít, např. plnou krev, moč, sliny atd.; citlivost a specifita prostředku pro sebetestování laickými osobami se definuje vzhledem k potvrzenému infekčnímu statusu pacienta.

(²) Studie interpretace výsledků musí zahrnovat čtení a interpretaci výsledků testů alespoň 100 laickými osobami, přičemž každá laická osoba musí přečíst výsledky pokrývající stanovený rozsah úrovní reaktivity výsledků. Výrobce určí shodu mezi tím, co přečetla laická osoba a profesionální uživatel.

(³) Testy se provedou před analýzou interpretace výsledků, pokud možno s použitím druhu vzorku určeného výrobcem. Testy mohou být provedeny na uměle připravených vzorcích na základě přírodní matrice příslušného druhu vzorku.

(⁴) Větší podíl vzorků musí být v rozsahu „slabě pozitivní“ blízko mezní hodnoty nebo LOD daného testu.

SPOLEČNÉ SPECIFIKACE PRO PROSTŘEDKY URČENÉ K DETEKCI NEBO KVANTIFIKACI MARKERŮ INFEKCE LIDSKÝM T-BUNĚČNÝM LYMFOTROPNÍM VIREM (HTLV)

Oblast působnosti

Tato příloha se použije na prostředky určené k detekci nebo kvantifikaci markerů infekce lidským T-buněčným lymfotropním virem (HTLV).

Tabulka 1 se použije na testy první linie na protilátky proti HTLV I nebo II (anti-HTLV I/II), které nejsou rychlými testy.

Tabulka 2 se použije na testy první linie na anti-HTLV I/II, které jsou rychlými testy.

Tabulka 3 se použije na konfirmační testy na anti-HTLV I/II.

Tabulka 4 se použije na prostředky NAT pro HTLV I/II.

Tabulka 1. Testy první linie: anti-HTLV I/II

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 300 HTLV-I ≥ 100 HTLV-II včetně 25 pozitivních vzorků čerstvého séra „z téhož dne“ (≤ 1 den po odběru vzorků)	veškeré pravdivě pozitivní vzorky se označí jako pozitivní
	Sérokonverzní panely	Nutno stanovit, jakmile budou k dispozici	diagnostická citlivost během sérokonverze musí v příslušných případech odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků
Diagnostická specifčnost	Náhodně vybraní dárce krve (včetně prvodárců) ⁽¹⁾	≥ 5 000	≥ 99,5 %
	Hospitalizovaní pacienti	≥ 200	Určí se případná omezení specifčnosti
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 100 celkem (např. RF+, z příbuzných virových infekcí, od těhotných žen)	

⁽¹⁾ Musí být zkoumána populace dárců krve nejméně ze dvou transfuzních stanic a musí se jednat o po sobě následující odběry krve, aniž byli vyloučeni prvodárci.

Tabulka 2. Rychlé testy: anti-HTLV I/II

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 300 HTLV-I ≥ 100 HTLV-II	veškeré pravdivě pozitivní vzorky se označí jako pozitivní
	Sérokonverzní panely	Nutno stanovit, jakmile budou k dispozici	diagnostická citlivost během sérokonverze musí v příslušných případech odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků
Diagnostická specifita	Náhodně vybraní dárci krve (včetně prvodárců)	≥ 1 000	≥ 99 %
	Hospitalizovaní pacienti	≥ 200	Určí se případná omezení specifity
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 200 vzorků od těhotných žen ≥ 100 dalších vzorků s potenciální křížovou reaktivitou celkem (např. RF+, z příbuzných infekcí)	

Tabulka 3. Konfirmační testy: anti-HTLV I/II

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 200 HTLV I ≥ 100 HTLV II	Identifikace jako „potvrzený pozitivní“ nebo „neurčitý“, nikoli jako „negativní“
	Sérokonverzní panely	Nutno stanovit, jakmile budou k dispozici	diagnostická citlivost během sérokonverze musí v příslušných případech odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků
Diagnostická specifita	Dárci krve	≥ 200	Žádné falešně pozitivní výsledky
	Hospitalizovaní pacienti	≥ 200	
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 50 celkem (včetně vzorků od těhotných žen, vzorků s neurčitými výsledky v dalších konfirmačních testech)	

Tabulka 4. Prostředky NAT pro HTLV I/II

1. Pokud jde o prostředky k amplifikaci cílové sekvence, musí kontrola funkčnosti každého vzorku (vnitřní kontrola) odrážet současný stav vědeckých poznatků. Tato kontrola se musí pokud možno provádět během celého procesu, tj. při extrakci, amplifikaci/hybridizaci, detekci.
2. Detekce genotypu a/nebo subtypu se prokáže vhodnou validací návrhu primeru nebo sondy a musí být rovněž validována testováním vzorků se stanoveným genotypem.
3. Potenciální křížová reaktivita necílových sekvencí nukleových kyselin se analyzuje vhodnou validací návrhu primeru nebo sondy a musí být rovněž validována testováním vybraných vzorků.
4. Výsledky z kvantitativních prostředků NAT musí být prokazatelně získány na základě mezinárodních norem nebo kalibrovaných referenčních materiálů, pokud jsou k dispozici, a musí být vyjádřeny v mezinárodních jednotkách používaných v dané oblasti použití.

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Analytická citlivost	Mezinárodní referenční přípravky	Citlivost NAT a mez detekce (LOD) NAT se validují sériovým řaděním referenčních materiálů, testováním replikátů (minimálně 24) při různých koncentracích analytu, včetně koncentrací s přechodem z pozitivních na negativní výsledky s příslušným prostředkem NAT. LOD se vyjádří jako 95% pozitivní mezní hodnota (IU/ml) po statistické analýze (např. Probit). (1) Kvantitativní NAT: definice dolní a horní meze kvantifikace, přesnost, správnost, „lineární“ rozsah měření, „dynamický rozsah“. Reprodukovatelnost při různých stupních koncentrace	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Citlivost na genotyp HTLV I a HTLV II	veškeré relevantní genotypy, pokud možno z mezinárodních referenčních materiálů možné náhrady za vzácné genotypy HTLV (musí být kvantifikováno vhodnými metodami): supernatanty buněčné kultury; transkripty <i>in vitro</i> ; plasmidy	Kvalitativní NAT: nejméně 10 vzorků na jeden genotyp nebo subtyp Kvantitativní NAT: sériové ředění k prokázání účinnosti kvantifikace	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Diagnostická specifita	Vzorky dárců krve	Kvalitativní NAT: ≥ 500 Kvantitativní NAT: ≥ 100	Podle současného stavu vědeckých poznatků

Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 10 vzorků pozitivních na lidský retrovirus (např. HIV-1, HIV-2)	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Přenos	Vysoce pozitivní na RNA HTLV; negativní na RNA HTLV	Během studií hodnověrnosti se provede alespoň pět řad testů střídavě s vysoce pozitivními a negativními vzorky. Titry viru u vysoce pozitivních vzorků musí být reprezentativní pro vysoké titry viru, které se vyskytují přirozeně.	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Detekce v souvislosti se statusem protilátek	pozitivní na RNA HTLV; negativní na anti-HTLV, pozitivní na anti-HTLV	Vzorky před sérokonverzí (negativní na anti-HTLV) a po sérokonverzi (pozitivní na anti-HTLV)	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Četnost selhání celého systému	Slabě pozitivní na RNA HTLV	Otestuje se ≥ 100 vzorků slabě pozitivních na RNA HTLV. Tyto vzorky musí obsahovat koncentraci viru rovnající se trojnásobku 95% pozitivní mezní koncentrace viru.	≥ 99 % pozitivních

(¹) Odkaz: Evropský lékopis 9.0, 2.6.21 Techniky amplifikace nukleových kyselin, validace.

SPOLEČNÉ SPECIFIKACE PRO PROSTŘEDKY URČENÉ K DETEKCI NEBO KVANTIFIKACI MARKERŮ INFEKCE VIREM HEPATITIDY C (HCV)

Oblast působnosti

Tato příloha se použije na prostředky určené k detekci nebo kvantifikaci markerů infekce virem hepatitidy C (HCV).

Tabulka 1 se použije na testy první linie na protilátky anti-HCV (anti-HCV) a kombinované testy na antigen/protilátku na HCV (HCV Ag/Ab), které nejsou rychlými testy.

Tabulka 2 se použije na testy první linie na anti-HCV a HCV Ag/Ab, které jsou rychlými testy.

Tabulka 3 se použije na konfirmační a doplňkové testy na anti-HCV.

Tabulka 4 se použije na testy na antigen HCV a HCV Ag/Ab.

Tabulka 5 se použije na kvalitativní a kvantitativní prostředky NAT pro RNA HCV.

Tabulka 6 se použije na samotesty na HCV.

Tabulka 1. Testy první linie: anti-HCV, HCV Ag/Ab (požadavky na detekci protilátek)

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	<p>≥ 400</p> <p>Včetně vzorků z různých stadií infekce a odrážejících různé druhy protilátek genotyp HCV 1–4: > 20 vzorků na jeden genotyp (včetně subtypů non-a genotypu 4); genotypy HCV 5 a 6: > 5 vzorků pro každý genotyp; včetně 25 pozitivních vzorků čerstvého séra „z téhož dne“ (≤ 1 den po odběru vzorků)</p>	veškeré pravdivě pozitivní vzorky se označí jako pozitivní
	Sérokonverzní panely	<p>≥ 30 panelů</p> <p>Sérokonverzní panely HCV k vyhodnocení kombinovaných testů na antigen a protilátku HCV (HCV Ag/Ab) se zahájí jedním nebo několika negativními odběry a zahrnují součásti panelu z časné infekce HCV (nukleokapsidový vnitřní (core) antigen HCV a/nebo pozitivní na RNA HCV, ale negativní na anti-HCV).</p>	<p>diagnostická citlivost během sérokonverze musí odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků</p> <p>Testy na HCV Ag/Ab musí prokázat zvýšenou citlivost při časně infekci HCV ve srovnání s testy pouze na protilátky HCV.</p>

Diagnostická specifičnost	Náhodně vybraní dárci krve (včetně prvodárců) ⁽¹⁾	≥ 5 000	≥ 99,5 %
	Hospitalizovaní pacienti	≥ 200	Určí se případná omezení specifičnosti
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 100 celkem (např. RF+, z příbuzných virových infekcí, od těhotných žen)	

(1) Musí být zkoumána populace dárců krve nejméně ze dvou transfuzních stanic a musí se jednat o po sobě následující odběry krve, aniž byli vyloučeni prvodárci.

Tabulka 2. Rychlé testy: anti-HCV, HCV Ag/Ab (požadavky na detekci protilátek)

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 400 včetně vzorků z různých stadií infekce a odrážejících různé druhy protilátek. genotyp HCV 1–4: > 20 vzorků na jeden genotyp (včetně subtypů non-a genotypu 4); genotypy HCV 5 a 6: > 5 vzorků pro každý genotyp;	veškeré pravdivě pozitivní vzorky se označí jako pozitivní
	Sérokonverzní panely	≥ 30 panelů Sérokonverzní panely HCV k vyhodnocení kombinovaných testů na antigen a protilátku HCV (HCV Ag/Ab) se zahájí jedním nebo několika negativními odběry a zahrnují součásti panelu z časné infekce HCV (nukleokapsidový vnitřní (core) antigen HCV a/nebo pozitivní na RNA HCV, ale negativní na anti-HCV).	diagnostická citlivost během sérokonverze musí odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků Testy na HCV Ag/Ab musí prokázat zvýšenou citlivost při časně infekci HCV ve srovnání s testy pouze na protilátku HCV.
Diagnostická specifičnost	Náhodně vybraní dárci krve (včetně prvodárců) ¹	≥ 1 000	≥ 99 %
	Hospitalizovaní pacienti	≥ 200	Určí se případná omezení specifičnosti
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 200 vzorků od těhotných žen ≥ 100 dalších vzorků s potenciální křížovou reaktivitou celkem (např. RF+, z příbuzných infekcí)	

Tabulka 3. Konfirmační a doplňkové testy: anti-HCV

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 300 Včetně vzorků z různých stadií infekce a odrážejících různé druhy protilátek. genotypy HCV 1–4: > 20 vzorků (včetně subtypů non-a genotypu 4); genotyp HCV 5: > 5 vzorků; genotyp HCV 6: pokud je k dispozici	identifikace jako „potvrzený pozitivní“ nebo „neurčitý“, nikoli jako „negativní“
	Sérokonverzní panely	≥ 15 sérokonverzních panelů / panelů s nízkým titrem	diagnostická citlivost během sérokonverze musí odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků
Diagnostická specifčnost	Dárci krve	≥ 200	Žádné falešně pozitivní výsledky / žádná neutralizace
	Hospitalizovaní pacienti	≥ 200	
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 50 celkem (včetně vzorků od těhotných žen, vzorků s neurčitými výsledky v dalších konfirmačních testech)	

Tabulka 4. Testy na antigen: HCV antigen, HCV Ag/Ab (požadavky na detekci antigenu)

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 25 nukleokapsidových vnitřních (core) antigenů HCV a/nebo vzorky pozitivní na RNA HCV, ale negativní na anti-HCV, včetně genotypů HCV 1–6 (není-li genotyp k dispozici, musí se uvést důvod)	veškeré pravdivě pozitivní vzorky se označí jako pozitivní
	Sérokonverzní panely	≥ 20 sérokonverzních panelů / panelů s nízkým titrem Sérokonverzní panely HCV k vyhodnocení kombinovaných testů na antigen a protilátku HCV se zahájí jedním nebo několika negativními odběry a zahrnují součásti panelu z časně infekce HCV (nukleokapsidový vnitřní (core) antigen HCV a/nebo pozitivní na RNA HCV, ale negativní na anti-HCV).	diagnostická citlivost během sérokonverze musí odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků Kombinované testy na antigen a protilátku HCV musí prokázat zvýšenou citlivost při časně infekci HCV ve srovnání s testy pouze na protilátku HCV.

Analytická citlivost	Mezinárodní norma WHO HCV core (PEI 129096/12)	Sériové ředění	
Diagnostická specifičnost	Dárci krve	≥ 200	≥ 99,5 % po neutralizaci nebo, není-li neutralizační test k dispozici, po rozlišení statusu vzorku
	Hospitalizovaní pacienti	≥ 200	Určí se případná omezení specifičnosti
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 50	

Tabulka 5. Kvalitativní a kvantitativní prostředky NAT pro RNA HCV

1. Pokud jde o prostředky k amplifikaci cílové sekvence, musí kontrola funkčnosti každého vzorku (vnitřní kontrola) odrážet současný stav vědeckých poznatků. Tato kontrola se musí pokud možno provádět během celého procesu, tj. při extrakci, amplifikaci/hybridizaci, detekci.
2. Detekce genotypu a/nebo subtypu se prokáže vhodnou validací návrhu primeru nebo sondy a musí být rovněž validována testováním vzorků se stanoveným genotypem.
3. Potenciální křížová reaktivita necílových sekvencí nukleových kyselin se analyzuje vhodnou validací návrhu primeru nebo sondy a musí být rovněž validována testováním vybraných vzorků.
4. Výsledky z kvantitativních prostředků NAT musí být prokazatelně získány na základě mezinárodních norem nebo kalibrovaných referenčních materiálů, pokud jsou k dispozici, a musí být vyjádřeny v mezinárodních jednotkách používaných v dané oblasti použití.

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Analytická citlivost	Mezinárodní norma WHO HCV RNA (nebo kalibrované referenční materiály)	Citlivost NAT a mez detekce (LOD) NAT se validují sériovým ředěním referenčních materiálů, testováním replikátů (minimálně 24) při různých koncentracích analytu, včetně koncentrací s přechodem z pozitivních na negativní výsledky s příslušným prostředkem NAT. LOD se vyjádří jako 95% pozitivní mezní hodnota (IU/ml) po statistické analýze (např. Probit). (1) Kvantitativní NAT: definice dolní a horní meze kvantifikace, přesnost, správnost, „lineární“ rozsah měření, „dynamický rozsah“. Reprodukovatelnost při různých stupních koncentrace	Podle současného stavu vědeckých poznatků

Citlivost na genotyp HCV	veškeré relevantní genotypy/subtypy, pokud možno z mezinárodních referenčních materiálů možné náhrady za vzácné genotypy HCV (musí být kvantifikováno vhodnými metodami): transkripty <i>in vitro</i> ; plasmidy	Kvalitativní NAT: ≥ 10 vzorků na jeden genotyp nebo subtyp Kvantitativní NAT: sériové ředění k prokázání účinnosti kvantifikace	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky odrážející běžné podmínky uživatelů (např. bez předběžného výběru vzorků)	Kvantitativní NAT: ≥ 100 Souběžně se stanoví výsledky srovnatelné s jiným systémem NAT	Podle současného stavu vědeckých poznatků
	Sérokonverzní panely	Kvalitativní NAT: ≥ 10 panelů Souběžně se stanoví výsledky srovnatelné s jiným systémem NAT	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Diagnostická specifčnost	Vzorky dárců krve	Kvalitativní NAT: ≥ 500 Kvantitativní NAT: ≥ 100	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	> 10 vzorků pozitivních na lidský flavivirus (např. HGV, YFV)	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Přenos	Vysoce pozitivní na RNA HCV; negativní na RNA HCV	Během studií hodnověrnosti se provede alespoň pět řad testů střídavě s vysoce pozitivními a negativními vzorky. Titry viru u vysoce pozitivních vzorků musí být reprezentativní pro vysoké titry viru, které se vyskytují přirozeně.	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Detekce v souvislosti se statusem protilátek	pozitivní na RNA HCV; negativní na anti-HCV, pozitivní na anti-HCV	Vzorky před sérokonverzí (negativní na anti-HCV) a po sérokonverzi (pozitivní na anti-HCV)	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Četnost selhání celého systému	Slabě pozitivní na RNA HCV	Otestuje se ≥ 100 vzorků slabě pozitivních na RNA HCV. Tyto vzorky musí obsahovat koncentraci viru rovnající se trojnásobku 95% pozitivní mezní koncentrace viru.	≥ 99 % pozitivních

(¹) Odkaz: Evropský lékopis 9.0, 2.6.21 Techniky amplifikace nukleových kyselin, validace.

Tabulka 6. Dodatečné požadavky na samotesty na HCV

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorky ⁽¹⁾	Počet laických osob
Interpretace výsledků ⁽²⁾	Interpretace výsledků ⁽³⁾ laickými osobami odrážející tento rozsah úrovní reaktivity: — nereaktivní — reaktivní — slabě reaktivní ⁽⁴⁾ — neplatný	≥ 100
Diagnostická citlivost	laické osoby, o nichž je známo, že jsou pozitivní	≥ 200
Diagnostická specifita	laické osoby, které neznají svůj status	≥ 400
	laické osoby, u nichž existuje vysoké riziko nákazy danou infekcí	≥ 200

⁽¹⁾ Pro každou tělní tekutinu, kterou lze s prostředkem použít, např. plnou krev, moč, sliny atd.; citlivost a specifita prostředku pro sebetestování laickými osobami se definuje vzhledem k potvrzenému infekčnímu statusu pacienta.

⁽²⁾ Studie interpretace výsledků musí zahrnovat čtení a interpretaci výsledků testů alespoň 100 laickými osobami, přičemž každá laická osoba musí přečíst výsledky pokrývající stanovený rozsah úrovní reaktivity výsledků. Výrobce určí shodu mezi tím, co přečetla laická osoba a profesionální uživatel.

⁽³⁾ Testy se provedou před analýzou interpretace výsledků, pokud možno s použitím druhu vzorku určeného výrobcem. Testy mohou být provedeny na uměle připravených vzorcích na základě přírodní matrice příslušného druhu vzorku.

⁽⁴⁾ Větší podíl vzorků musí být v rozsahu „slabě pozitivní“ blízko mezní hodnoty nebo LOD daného testu.

SPOLEČNÉ SPECIFIKACE PRO PROSTŘEDKY URČENÉ K DETEKCI NEBO KVANTIFIKACI MARKERŮ INFEKCE VIREM HEPATITIDY B (HBV)

Oblast působnosti

Tato příloha se použije na prostředky určené k detekci nebo kvantifikaci markerů infekce virem hepatitidy B (HBV).

Tabulka 1 se použije na testy první linie na povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg) a na protilátky proti nukleokapsidovému vnitřnímu (core) antigenu hepatitidy B (anti-HBc), které nejsou rychlými testy.

Tabulka 2 se použije na testy první linie na HBsAg a anti-HBc, které jsou rychlými testy.

Tabulka 3 se použije na konfirmační testy na HBsAg.

Tabulka 4 se použije na testy na markery viru hepatitidy B: povrchové protilátky proti hepatitidě B (anti-HBs), protilátka IgM proti nukleokapsidovému vnitřnímu (core) antigenu hepatitidy B (anti-HBc IgM), protilátky proti antigenu hepatitidy Be (anti-HBe) a antigen hepatitidy Be (HBeAg).

Tabulka 5 se použije na kvalitativní a kvantitativní prostředky NAT pro deoxyribonukleovou kyselinu (DNA) HBV.

Tabulka 6 se použije na samotesty na HBV.

Tabulka 1. Testy první linie: HBsAg, anti-HBc

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	<p>≥ 400</p> <p>anti-HBc: včetně hodnocení různých markerů HBV</p> <p>HBsAg: včetně různých genotypů/podtypů/mutantů HBV</p> <p>anti-HBc nebo HBsAg: včetně 25 pozitivních vzorků čerstvého séra „z téhož dne“ (≤ 1 den po odběru vzorků)</p>	Celková funkční způsobilost musí být přinejmenším rovnocenná srovnávacímu prostředku
	Sérokonverzní panely	<p>Testy na HBsAg: ≥ 30 panelů</p> <p>Testy na anti-HBc: nutno stanovit, jakmile budou k dispozici</p>	diagnostická citlivost během sérokonverze musí odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků (pro anti-HBc v příslušných případech)
Analytická citlivost	Třetí mezinárodní norma WHO HBsAg (podtypy ayw1/adw2, HBV genotyp B4, kód NIBSC: 12/226)		Pro testy na HBsAg: < 0,130 IU/ml

Diagnostická specifčnost	Náhodně vybraní dárci krve (včetně prvodárců) (1)	≥ 5 000	≥ 99,5 %
	Hospitalizovaní pacienti	≥ 200	Určí se případná omezení specifčnosti
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 100 celkem (např. RF+, z příbuzných virových infekcí, od těhotných žen)	

(1) Musí být zkoumána populace dárců krve nejméně ze dvou transfuzních stanic a musí se jednat o po sobě následující odběry krve, aniž byl vyloučen prvodárce.

Tabulka 2. Rychlé testy: HBsAg, anti-HBc

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 400 včetně hodnocení různých markerů HBV včetně různých genotypů/podtypů/mutantů HBV	Celková funkční způsobilost musí být přinejmenším rovnocenná funkční způsobilosti srovnávacího prostředku
	Sérokonverzní panely	Testy na HBsAg: ≥ 30 panelů Testy na anti-HBc: nutno stanovit, jakmile budou k dispozici	Diagnostická citlivost během sérokonverze musí odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků (pro anti-HBc v příslušných případech)
Diagnostická specifčnost	Náhodně vybraní dárci krve (včetně prvodárců)	≥ 1 000	Testy na HBsAg: ≥ 99 % Testy na anti-HBc: ≥ 99 %
	Hospitalizovaní pacienti	≥ 200	Určí se případná omezení specifčnosti
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 200 vzorků od těhotných žen ≥ 100 dalších vzorků s potenciální křížovou reaktivitou celkem (např. RF+, z příbuzných infekcí)	

Tabulka 3. Konfirmační testy: HBsAg

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 300 Včetně vzorků z různých stadií infekce Včetně 20 „vysoce pozitivních“ vzorků (> 26 IU/ml); 20 vzorků v rozmezí mezní hodnoty	Správná identifikace jako pozitivní (nebo neurčitý), nikoli negativní
	Sérokonverzní panely	≥ 15 sérokonverzních panelů / panelů s nízkým titrem	Diagnostická citlivost během sérokonverze musí odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků
Analytická citlivost	Třetí mezinárodní norma WHO pro HBsAg, podtyp ayw1/adw2, HBV genotyp B4, kód NIBSC: 12/226		
Diagnostická specifita	Negativní vzorky	≥ 10 falešně pozitivních výsledků, které jsou k dispozici po provedení hodnocení funkční způsobilosti testu první linie	Žádné falešně pozitivní výsledky / žádná neutralizace
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 50	

Tabulka 4. Testy na markery HBV: anti-HBs, anti-HBc IgM, anti-HBe, HBeAg

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti		anti-HBs	anti-HBc IgM	anti-HBe	HBeAg	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 100 očkováných ≥ 100 přirozeně infikovaných osob	≥ 200 Včetně vzorků z různých stadií infekce (akutní/chronické atd.)	≥ 200 Včetně vzorků z různých stadií infekce (akutní/chronické atd.)	≥ 200 Včetně vzorků z různých stadií infekce (akutní/chronické atd.)	≥ 98 % (pro anti-HBc IgM: použitelné pouze na vzorky ze stadia akutní infekce)
	Sérokonverzní panely	10 sérokonverzních panelů anti-HBs nebo následných sérií	Pokud jsou k dispozici	Pokud jsou k dispozici	Pokud jsou k dispozici	Diagnostická citlivost během sérokonverze musí odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků (pro anti-HBc IgM, anti-HBe, HBeAg v příslušných případech)

Analytická citlivost	Normy	Druhá mezinárodní norma WHO pro lidský imunoglobulin povrchového antigenu proti hepatitidě B (anti-HBs), kód NIBSC: 07/164		První mezinárodní norma WHO pro e-antigen proti viru hepatitidy B (anti-HBe), kód PEI 129095/12	První mezinárodní norma WHO pro e-antigen viru hepatitidy B (HBeAg), kód PEI 129097/12 HBe	anti-HBs: < 10 mIU/ml
Diagnostická specifita	Negativní vzorky	≥ 500 Včetně klinických vzorků ≥ 50 vzorků s potenciálně vyšším rizikem interference	≥ 200 odběrů od dárců ≥ 200 klinických vzorků ≥ 50 vzorků s potenciálně vyšším rizikem interference	≥ 200 odběrů od dárců ≥ 200 klinických vzorků ≥ 50 vzorků s potenciálně vyšším rizikem interference	≥ 200 odběrů od dárců ≥ 200 klinických vzorků ≥ 50 vzorků s potenciálně vyšším rizikem interference	≥ 98 %

Tabulka 5. Kvalitativní a kvantitativní prostředky NAT pro DNA HBV

1. Pokud jde o prostředky k amplifikaci cílové sekvence, musí kontrola funkčnosti každého vzorku (vnitřní kontrola) odrážet současný stav vědeckých poznatků. Tato kontrola se musí pokud možno provádět během celého procesu, tj. při extrakci, amplifikaci/hybridizaci, detekci.
2. Detekce genotypu a/nebo subtypu se prokáže vhodnou validací návrhu primeru nebo sondy a musí být rovněž validována testováním vzorků se stanoveným genotypem.
3. Potenciální křížová reaktivita necílových sekvencí nukleových kyselin se analyzuje vhodnou validací návrhu primeru nebo sondy a musí být rovněž validována testováním vybraných vzorků.
4. Výsledky z kvantitativních prostředků NAT musí být prokazatelně získány na základě mezinárodních norem nebo kalibrovaných referenčních materiálů, pokud jsou k dispozici, a musí být vyjádřeny v mezinárodních jednotkách používaných v dané oblasti použití.

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Analytická citlivost	Mezinárodní norma WHO pro DNA HBV (nebo kalibrované referenční materiály)	Citlivost NAT a mez detekce (LOD) NAT se validují sériovým ředěním referenčních materiálů, testováním replikátů (minimálně 24) při různých koncentracích analytu, včetně koncentrací s přechodem z pozitivních na negativní výsledky s příslušným prostředkem NAT. LOD se vyjádří jako 95% pozitivní mezní hodnota (IU/ml) po statistické analýze (např. Probit). (1) Kvantitativní NAT: definice dolní a horní meze kvantifikace, přesnost, správnost, „lineární“ rozsah měření, „dynamický rozsah“. Reprodukovatelnost při různých stupních koncentrace	Podle současného stavu vědeckých poznatků

Citlivost na genotyp HBV	Mezinárodní referenční panel WHO pro DNA HBV (genotypy HBV) veškeré relevantní genotypy/subtypy, pokud možno z mezinárodních referenčních materiálů možné náhrady za vzácné genotypy HBV (musí být kvantifikováno vhodnými metodami): plasmidy; syntetická DNA	Kvalitativní NAT: nejméně 10 vzorků na jeden genotyp nebo subtyp Kvantitativní NAT: sériové ředění k prokázání účinnosti kvantifikace	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky odrážející běžné podmínky uživatelů (bez předběžného výběru vzorků)	Kvantitativní NAT: ≥ 100 Souběžně se stanoví výsledky srovnatelné s jiným systémem NAT	Podle současného stavu vědeckých poznatků
	Sérokonverzní panely	Kvalitativní NAT: ≥ 10 panelů Souběžně se stanoví výsledky srovnatelné s jiným systémem NAT	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Diagnostická specifita	Vzorky dárců krve	Kvalitativní NAT: ≥ 500 Kvantitativní NAT: ≥ 100	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou		Podle současného stavu vědeckých poznatků
Přenos	Vysoce pozitivní na DNA HBV; negativní na DNA HBV	Během studií hodnověrnosti se provede alespoň pět řad testů střídavě s vysoce pozitivními a negativními vzorky. Titry viru u vysoce pozitivních vzorků musí být reprezentativní pro vysoké titry viru, které se vyskytují přirozeně.	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Detekce v souvislosti se statusem protilátek	pozitivní na DNA HBV; negativní na anti-HBV, pozitivní na anti-HBV	Vzorky před sérokonverzí (negativní na anti-HBV) a po sérokonverzi (pozitivní na anti-HBV)	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Četnost selhání celého systému	Slabě pozitivní na DNA HBV	Otestuje se ≥ 100 vzorků slabě pozitivních na DNA HBV. Tyto vzorky musí obsahovat koncentraci viru rovnající se trojnásobku 95% pozitivní mezní koncentrace viru.	≥ 99 % pozitivních

(¹) Odkaz: Evropský lékopis 9.0, 2.6.21 Techniky amplifikace nukleových kyselin, validace.

Tabulka 6. Dodatečné požadavky na samotesty na HBV

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorky ⁽¹⁾	Počet laických osob
Interpretace výsledků ⁽²⁾	Interpretace výsledků ⁽³⁾ laickými osobami odrážející tento rozsah úrovní reaktivity: — nereaktivní — reaktivní — slabě reaktivní ⁽⁴⁾ — neplatný	≥ 100
Diagnostická citlivost	laické osoby, o nichž je známo, že jsou pozitivní	≥ 200
Diagnostická specifita	laické osoby, které neznají svůj status	≥ 400
	laické osoby, u nichž existuje vysoké riziko nákazy danou infekcí	≥ 200

⁽¹⁾ Pro každou tělní tekutinu, kterou lze s prostředkem použít, např. plnou krev, moč, sliny atd.; citlivost a specifita prostředku pro sebetestování laickými osobami se definuje vzhledem k potvrzenému infekčnímu statusu pacienta.

⁽²⁾ Studie interpretace výsledků musí zahrnovat čtení a interpretaci výsledků testů alespoň 100 laickými osobami, přičemž každá laická osoba musí přečíst výsledky pokrývající stanovený rozsah úrovní reaktivity výsledků. Výrobce určí shodu mezi tím, co přečetla laická osoba a profesionální uživatel.

⁽³⁾ Testy se provedou před analýzou interpretace výsledků, pokud možno s použitím druhu vzorku určeného výrobcem. Testy mohou být provedeny na uměle připravených vzorcích na základě přírodní matrice příslušného druhu vzorku.

⁽⁴⁾ Větší podíl vzorků musí být v rozsahu „slabě pozitivní“ blízko mezní hodnoty nebo LOD daného testu.

SPOLEČNÉ SPECIFIKACE PRO PROSTŘEDKY URČENÉ K DETEKCI NEBO KVANTIFIKACI MARKERŮ INFEKCE VIREM HEPATITIDY D (HDV)

Oblast působnosti

Tato příloha se použije na prostředky určené k detekci nebo kvantifikaci markerů infekce virem hepatitidy D (HDV).

Tabulka 1 se použije na prostředky určené k detekci (včetně potvrzení) nebo kvantifikaci těchto markerů viru hepatitidy D: protilátky proti viru hepatitidy D (anti-HDV), protilátky IgM proti viru hepatitidy D (anti-HDV IgM), antigen delta.

Tabulka 2 se použije na kvalitativní a kvantitativní prostředky NAT pro RNA HDV.

Tabulka 1. Testy na markery HDV: anti-HDV, anti-HDV IgM, antigen delta

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti		anti-HDV	anti-HDV IgM	Antigen delta	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 100 Markery specifické pro souběžnou infekci HBV	≥ 50 Markery specifické pro souběžnou infekci HBV	≥ 10 Markery specifické pro souběžnou infekci HBV	≥ 98 %
Diagnostická specifita	Negativní vzorky	≥ 200 Včetně klinických vzorků ≥ 50 vzorků s potenciálně vyšším rizikem interference	≥ 200 Včetně klinických vzorků ≥ 50 vzorků s potenciálně vyšším rizikem interference	≥ 200 Včetně klinických vzorků ≥ 50 vzorků s potenciálně vyšším rizikem interference	≥ 98 %

Tabulka 2. Kvalitativní a kvantitativní prostředky NAT pro RNA HDV

1. Pokud jde o prostředky k amplifikaci cílové sekvence, musí kontrola funkčnosti každého vzorku (vnitřní kontrola) odrážet současný stav vědeckých poznatků. Tato kontrola se musí pokud možno provádět během celého procesu, tj. při extrakci, amplifikaci/hybridizaci, detekci.
2. Detekce genotypu a/nebo subtypu se prokáže vhodnou validací návrhu primeru nebo sondy a musí být rovněž validována testováním vzorků se stanoveným genotypem.
3. Potenciální křížová reaktivita necílových sekvencí nukleových kyselin se analyzuje vhodnou validací návrhu primeru nebo sondy a musí být rovněž validována testováním vybraných vzorků.
4. Výsledky z kvantitativních prostředků NAT musí být prokazatelně získány na základě mezinárodních norem nebo kalibrovaných referenčních materiálů, pokud jsou k dispozici, a musí být vyjádřeny v mezinárodních jednotkách používaných v dané oblasti použití.

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Analytická citlivost	První mezinárodní norma WHO HDV RNA, kód PEI 7657/12	Citlivost NAT a mez detekce (LOD) NAT se validují sériovým ředěním referenčních materiálů, testováním replikátů (minimálně 24) při různých koncentracích analytu, včetně koncentrací s přechodem z pozitivních na negativní výsledky s příslušným prostředkem NAT. LOD se vyjádří jako 95% pozitivní mezní hodnota (IU/ml) po statistické analýze (např. Probit). (1) Kvantitativní NAT: definice dolní a horní meze kvantifikace, přesnost, správnost, „lineární“ rozsah měření, „dynamický rozsah“. Reprodukovatelnost při různých stupních koncentrace	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Citlivost na genotyp HDV	veškeré relevantní genotypy/subtypy, pokud možno z mezinárodních referenčních materiálů možné náhrady za vzácné genotypy HDV (musí být kvantifikováno vhodnými metodami): plasmidy; syntetická RNA	Kvantitativní NAT: sériové ředění k prokázání účinnosti kvantifikace	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Diagnostická specifčnost	Vzorky dárců krve	Kvalitativní NAT: ≥ 100 Kvantitativní NAT: ≥ 100	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou		Podle současného stavu vědeckých poznatků
Přenos	Vysoce pozitivní na RNA HDV; negativní na RNA HDV	Během studií hodnověrnosti se provede alespoň pět řad testů střídavě s vysoce pozitivními a negativními vzorky. Titry viru u vysoce pozitivních vzorků musí být reprezentativní pro vysoké titry viru, které se vyskytují přirozeně.	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Četnost selhání celého systému	Slabě pozitivní na RNA HDV	Otestuje se ≥ 100 vzorků slabě pozitivních na RNA HDV. Tyto vzorky musí obsahovat koncentraci viru rovnající se trojnásobku 95% pozitivní mezní koncentrace viru.	≥ 99 % pozitivních

(1) Odkaz: Evropský lékopis 9.0, 2.6.21 Techniky amplifikace nukleových kyselin, validace.

SPOLEČNÉ SPECIFIKACE PRO PROSTŘEDKY URČENÉ K DETEKCI MARKERŮ VARIANTNÍ CREUTZFELDTOVY-JAKOBOVY NEMOCI (vCJD)

Oblast působnosti

Tato příloha se použije na prostředky určené k detekci markerů variantní Creutzfeldtovy-Jakobovy nemoci (vCJD).

Tabulka 1 se použije na prostředky určené k detekci markerů vCJD.

Tabulka 1. Prostředky k detekci markerů vCJD

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Materiál	Počet vzorků	Kritéria přijatelnosti
Analytická citlivost	vzorek mozkové tkáně vCJD v lidské plazmě (referenční číslo WHO: NHBYO/0003)	≥ 24 replikátů u každého ze tří ředění materiálu s číslem WHO NHBYO/0003 (1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6)	23 ze 24 replikátů zjištěno při 1×10^4
	vzorek slezinné tkáně vCJD v lidské plazmě (10% homogenizovaná tkáň sleziny – referenční číslo NIBSC: NHSYO/0009)	≥ 24 replikátů u každého ze tří ředění materiálu s číslem NIBSC NHSYO/0009 (1×10^1 , 1×10^2 , 1×10^3)	23 ze 24 replikátů zjištěno při 1×10^1
Diagnostická citlivost	Vzorky z vhodných zvířecích modelů	Co možná nejvíce dostupných vzorků a ≥ 10 vzorků	90 %
	Vzorky lidské tkáně od osob s prokázanou klinickou vCJD	Co možná nejvíce dostupných vzorků a ≥ 10 vzorků	90 %
		Pouze v případech, kdy není k dispozici 10 vzorků: — počet testovaných vzorků musí být mezi 6 a 9 — musí být otestovány všechny vzorky, které jsou k dispozici	max. jeden falešně negativní výsledek
Analytická specifita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 100	
Diagnostická specifita	Vzorky běžné lidské plazmy z oblasti s nízkou expozicí bovinní spongiformní encefalopatii (BSE)	≥ 5 000	≥ 99,5 %

SPOLEČNÉ SPECIFIKACE PRO PROSTŘEDKY URČENÉ K DETEKCI NEBO KVANTIFIKACI MARKERŮ INFEKCE CYTOMEGALOVIREM (CMV)

Oblast působnosti

Tato příloha se použije na prostředky určené k detekci nebo kvantifikaci markerů infekce cytomegalovirem (CMV).

Tabulka 1 se použije na testy první linie na celkové protilátky proti CMV (total anti-CMV) a protilátky IgG proti CMV (anti-CMV IgG).

Tabulka 2 se použije na kvalitativní a kvantitativní prostředky NAT pro DNA CMV.

Tabulka 1. Testy první linie: celkové anti-CMV a anti-CMV IgG

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorky	Počet, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 400 včetně vzorků z nedávné a minulé infekce CMV, vzorky s nízkým a vysokým pozitivním titrem	≥ 99% citlivost na infekci v minulosti, kterou lze potvrdit ⁽¹⁾ ; celková citlivost včetně nedávné infekce ⁽²⁾ musí být alespoň rovnocenná srovnávacímu prostředku
	Sérokonverzní panely	Nutno otestovat, jakmile budou k dispozici	Diagnostická citlivost během sérokonverze musí odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků
Analytická citlivost	Normy	Mezinárodní norma WHO anti-CMV IgG (kód PEI 136616/17) V případě stanovení titru a údajů o kvantitě	
Diagnostická specifita	Negativní vzorky	≥ 400 ⁽³⁾ vzorků negativních na CMV od náhodně vybraných dárců ve srovnání s jiným testem na CMV.	≥ 99 %
	Hospitalizovaní pacienti ⁽⁴⁾	≥ 200	Určí se případná omezení specifity
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou ⁽⁵⁾	≥ 100 celkem (např. RF+, příbuzné viry nebo jiná infekční agens, těhotné ženy atd.)	

⁽¹⁾ Včetně testování dalších parametrů CMV (např. CMV-IgM, avidita, immunoblot) nebo předchozích/následných vzorků pro vyhodnocení skutečného statusu vzorku.

⁽²⁾ Doplnkové testování k potvrzení nedávné infekce CMV (primární infekce nebo reinfekce): např. CMV-IgM, IgG-avidita, immunoblotová analýza.

⁽³⁾ Což odpovídá počátečnímu počtu 1 000 dárců při předpokládané prevalenci CMV ve výši 60 %.

⁽⁴⁾ Včetně příjemců před transplantací.

⁽⁵⁾ Včetně příbuzných β-herpesvirů (HHV-6, HHV-7).

Tabulka 2. Kvalitativní a kvantitativní prostředky NAT pro DNA CMV

1. Pokud jde o prostředky k amplifikaci cílové sekvence, musí kontrola funkčnosti každého vzorku (vnitřní kontrola) odrážet současný stav vědeckých poznatků. Tato kontrola se musí pokud možno provádět během celého procesu, tj. při extrakci, amplifikaci/hybridizaci, detekci.
2. Detekce genotypu a/nebo subtypu se prokáže vhodnou validací návrhu primeru nebo sondy a musí být rovněž validována testováním vzorků se stanoveným genotypem.
3. Potenciální křížová reaktivita necílových sekvencí nukleových kyselin se analyzuje vhodnou validací návrhu primeru nebo sondy a musí být rovněž validována testováním vybraných vzorků.
4. Výsledky z kvantitativních prostředků NAT musí být prokazatelně získány na základě mezinárodních norem nebo kalibrovaných referenčních materiálů, pokud jsou k dispozici, a musí být vyjádřeny v mezinárodních jednotkách používaných v dané oblasti použití.

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorky	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Analytická citlivost	První mezinárodní norma WHO pro DNA lidského CMV (09/162; 5 000 000 IU na nádobku) (nebo kalibrované referenční materiály)	Citlivost NAT a mez detekce (LOD) NAT se validují sériovým ředěním referenčních materiálů, testováním replikátů (minimálně 24) při různých koncentracích analytu, včetně koncentrací s přechodem z pozitivních na negativní výsledky s příslušným prostředkem NAT. LOD se vyjádří jako 95% pozitivní mezní hodnota (IU/ml) po statistické analýze (např. Probit). (1) Kvantitativní NAT: definice dolní a horní meze kvantifikace, přesnost, správnost, „lineární“ rozsah měření, „dynamický rozsah“. Reprodukovatelnost při různých stupních koncentrace	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Diagnostická citlivost Citlivost na kmen CMV	Vzorky od pacientů určené jako pozitivní na DNA CMV pomocí srovnávacího prostředku Sériové ředění buněčných kultur pozitivních na CMV může sloužit jako potenciální náhrada	Kvalitativní NAT: ≥ 100 Kvantitativní NAT: ≥ 100 sériové ředění k prokázání účinnosti kvantifikace	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Diagnostická specifita	Vzorky dárců krve	Kvalitativní NAT: ≥ 500 Kvantitativní NAT: ≥ 100	Podle současného stavu vědeckých poznatků

Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 20 vzorků celkem Včetně lidských vzorků pozitivních na příbuzné lidské herpesviry, např. EBV, HHV6, VZV Buněčné kultury pozitivní na herpesviry mohou sloužit jako potenciální náhrada	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Přenos	Vysoce pozitivní na DNA CMV; negativní na DNA CMV	Během studií hodnověrnosti se provede alespoň pět řad testů střídavě s vysoce pozitivními a negativními vzorky. Titry viru u vysoce pozitivních vzorků musí být reprezentativní pro vysoké titry viru, které se vyskytují přirozeně.	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Četnost selhání celého systému	Slabě pozitivní na DNA CMV	Otestuje se ≥ 100 vzorků slabě pozitivních na DNA CMV. Tyto vzorky musí obsahovat koncentraci viru rovnající se trojnásobku 95% pozitivní mezní koncentrace viru.	≥ 99 % pozitivních

(¹) Odkaz: Evropský lékopis 9.0, 2.6.21 Techniky amplifikace nukleových kyselin, validace.

SPOLEČNÉ SPECIFIKACE PRO PROSTŘEDKY URČENÉ K DETEKCI NEBO KVANTIFIKACI MARKERŮ INFEKCE VIREM EPSTEIN-BARROVÉ (EBV)

Oblast působnosti

Tato příloha se použije na prostředky určené k detekci nebo kvantifikaci markerů infekce virem Epstein-Barrové (EBV).

Tabulka 1 se použije na testy první linie na protilátky IgG proti virovému kapsidovému antigenu EBV (anti-EBV VCA IgG).

Tabulka 2 se použije na kvalitativní a kvantitativní prostředky NAT pro DNA EBV.

Tabulka 1: Testy první linie: anti-EBV VCA IgG

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorky	Počet, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 400 včetně vzorků z nedávné a minulé infekce EBV, vzorky s nízkým a vysokým pozitivním titrem	≥ 99% na infekci v minulosti, kterou lze potvrdit ⁽¹⁾ ; celková citlivost včetně nedávné infekce ⁽²⁾ musí být alespoň rovnocenná srovnávacímu prostředku
	Sérokonverzní panely	Nutno otestovat, jakmile budou k dispozici	diagnostická citlivost během sérokonverze musí odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků
Analytická citlivost	Normy	Mezinárodní referenční činidla, jsou-li k dispozici	
Diagnostická specifita	Negativní vzorky	≥ 200 ⁽³⁾ výsledků negativních na EBV od náhodně vybraných dárců ve srovnání s jiným prostředkem pro EBV	≥ 99 %
	Hospitalizovaní pacienti ⁽⁴⁾	≥ 200	Určí se případná omezení specifity
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 100 celkem (např. RF+, příbuzné viry nebo jiná infekční agens, těhotné ženy atd.)	

⁽¹⁾ Včetně testování dalších markerů a parametrů EBV (např. VCA-IgM, EBNA-1 IgG, immunoblot) nebo předchozích/následných vzorků pro vyhodnocení skutečného statusu vzorku.

⁽²⁾ Doplnkové testování k potvrzení nedávné infekce EBV: např. VCA-IgM, IgG-avidita, immunoblotová analýza.

⁽³⁾ Při předpokládané prevalenci EBV ve výši 80 %, což odpovídá počátečnímu počtu 1 000 dárců.

⁽⁴⁾ Včetně příjemců před transplantací.

Tabulka 2. Kvalitativní a kvantitativní prostředky NAT pro DNA EBV

1. Pokud jde o prostředky k amplifikaci cílové sekvence, musí kontrola funkčnosti každého vzorku (vnitřní kontrola) odrážet současný stav vědeckých poznatků. Tato kontrola se musí pokud možno provádět během celého procesu, tj. při extrakci, amplifikaci/hybridizaci, detekci.
2. Detekce genotypu a/nebo subtypu se prokáže vhodnou validací návrhu primeru nebo sondy a musí být rovněž validována testováním vzorků se stanoveným genotypem.
3. Potenciální křížová reaktivita necílových sekvencí nukleových kyselin se analyzuje vhodnou validací návrhu primeru nebo sondy a musí být rovněž validována testováním vybraných vzorků.
4. Výsledky z kvantitativních prostředků NAT musí být prokazatelně získány na základě mezinárodních norem nebo kalibrovaných referenčních materiálů, pokud jsou k dispozici, a musí být vyjádřeny v mezinárodních jednotkách používaných v dané oblasti použití.

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorky	Počty, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Analytická citlivost	První mezinárodní norma WHO pro DNA lidského EBV (09/260; 5 000 000 IU na nádobku) (nebo kalibrované referenční materiály)	Citlivost NAT a mez detekce (LOD) NAT se validují sériovým ředěním referenčních materiálů, testováním replikátů (minimálně 24) při různých koncentracích analytu, včetně koncentrací s přechodem z pozitivních na negativní výsledky s příslušným prostředkem NAT. LOD se vyjádří jako 95% pozitivní mezní hodnota (IU/ml) po statistické analýze (např. Probit). (1) Kvantitativní NAT: definice dolní a horní meze kvantifikace, přesnost, správnost, „lineární“ rozsah měření, „dynamický rozsah“. Reprodukovatelnost při různých stupních koncentrace	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Diagnostická citlivost Citlivost na kmen EBV	Vzorky od pacientů určené jako pozitivní na DNA EBV pomocí srovnávacího prostředku Sériové ředění buněčných kultur pozitivních na EBV může sloužit jako potenciální náhrada	Kvalitativní NAT: ≥ 100 Kvantitativní NAT: ≥ 100 sériové ředění k prokázání účinnosti kvantifikace	
Diagnostická specifita	Negativní vzorky	Kvalitativní NAT: ≥ 500 Kvantitativní NAT: ≥ 100	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 20 vzorků celkem Včetně lidských vzorků pozitivních na příbuzné lidské herpesviry, např. CMV, HHV6, VZV Buněčné kultury pozitivní na herpesviry mohou sloužit jako potenciální náhrada	Podle současného stavu vědeckých poznatků

Přenos	Vysoce pozitivní na DNA EBV; negativní na DNA EBV	Během studií hodnověrnosti se provede alespoň pět řad testů střídavě s vysoce pozitivními a negativními vzorky. Titry viru u vysoce pozitivních vzorků musí být reprezentativní pro vysoké titry viru, které se vyskytují přirozeně.	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Četnost selhání celého systému	Slabě pozitivní na DNA EBV	Otestuje se ≥ 100 vzorků slabě pozitivních na DNA EBV. Tyto vzorky musí obsahovat koncentraci viru rovnající se trojnásobku 95% pozitivní mezní koncentrace viru.	≥ 99 % pozitivních

(¹) Odkaz: Evropský lékopis 9.0, 2.6.21 Techniky amplifikace nukleových kyselin, validace.

SPOLEČNÉ SPECIFIKACE PRO PROSTŘEDKY URČENÉ K DETEKCI MARKERŮ INFEKCE BAKTERIÍ *TREPONEMA PALLIDUM*

Oblast působnosti

Tato příloha se použije na prostředky určené k detekci markerů *Treponema pallidum* (*T. pallidum*).

Tabulka 1 se použije na testy první linie na protilátky proti *T. pallidum* (anti-*T.pallidum*).

Tabulka 2 se použije na konfirmační a doplňkové testy na anti-*T.pallidum*.

Tabulka 1. Testy první linie: anti-*T.pallidum*

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorky	Počet, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 200 pozitivních vzorků celkem, v různých stádiích infekce, jsou-li k dispozici, včetně vysoce pozitivních a slabě pozitivních vzorků, identifikovány jako pozitivní pomocí nejméně dvou různých sérologických testů (z nichž jeden je enzymatická imunoanalýza) na různé protilátky proti <i>T. pallidum</i>	≥ 99,5% celková citlivost
	Sérokonverzní panely	Nejméně 1 sérokonverzní panel, pokud možno ≥ 1, včetně jednotlivých vzorků z rané fáze infekce	Diagnostická citlivost během sérokonverze musí odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků.
Analytická citlivost	Normy	Mezinárodní normy WHO Kód NIBSC 05/132, je-li k dispozici	
Diagnostická specifičnost	Náhodně vybraní dárce krve (včetně prvodárců) ⁽¹⁾	≥ 5 000	≥ 99,5 %
	Hospitalizovaní pacienti	≥ 200	Určí se případná omezení specifičnosti
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 100 celkem včetně těchto vzorků: pozitivní na <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> potvrzený IgG immunoblotem; pozitivní na anti-HIV; RF+; další příbuzná mikrobiální/infekční agens; pacienti se systémovým onemocněním <i>lupus erythematosus</i> (SLE); pozitivní na protilátky proti fosfolipidům; těhotné ženy atd.	

⁽¹⁾ Musí být zkoumána populace dárců krve nejméně ze dvou transfúzních stanic a musí se jednat o po sobě následující odběry krve, aniž byli vyloučeni prvodárci.

Tabulka 2. Konfirmační a doplňkové testy: anti-*T.pallidum*

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorky	Počet, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 300 pozitivních vzorků v různých stádiích infekce (raná primární syfilis, sekundární stadium a v průběhu pozdní syfilidy), včetně vysoce pozitivních vzorků, 50 slabě pozitivních vzorků, pomocí nejméně dvou různých sérologických testů (z nichž jeden je enzymatická imunoanalýza) na různé protilátky proti <i>T. pallidum</i>	99 % identifikace jako „potvrzený pozitivní“ nebo „neurčitý“
	Sérokonverzní panely	Nejméně 1 sérokonverzní panel, pokud možno ≥ 1, včetně jednotlivých vzorků z rané fáze infekce	Diagnostická citlivost během sérokonverze musí odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků
Analytická citlivost	Normy	Mezinárodní normy WHO Kód NIBSC 05/1 32	
Diagnostická specifita	Dárci krve	≥ 200	≥ 99 %;
	Klinické vzorky	≥ 200	Určí se případná omezení specifity
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 50 celkem, včetně vzorků od těhotných žen a vzorků s neurčitými výsledky v dalších konfirmačních testech.	

SPOLEČNÉ SPECIFIKACE PRO PROSTŘEDKY URČENÉ K DETEKCI NEBO KVANTIFIKACI MARKERŮ INFEKCE PARAZITEM *TRYPANOSOMA CRUZI*

Oblast působnosti

Tato příloha se použije na prostředky určené k detekci nebo kvantifikaci markerů infekce parazitem *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*).

Tabulka 1 se použije na testy první linie na protilátky proti *T. cruzi* (anti-*T. cruzi*).

Tabulka 2 se použije na konfirmační a doplňkové testy na anti-*T. cruzi*.

Tabulka 3 se použije na kvalitativní a kvantitativní prostředky NAT pro DNA *T. cruzi*.

Tabulka 1. Testy první linie: anti-*T. cruzi*

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorky	Počet, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 400 pozitivních vzorků, včetně vysoce pozitivních vzorků potvrzených pomocí nejméně dvou různých sérologických testů na různé protilátky proti <i>T. cruzi</i> . Z těchto 400 je ≥ 25 vzorků pozitivních na parazity, což bylo potvrzeno přímou detekcí.	99,5% celková citlivost
	Sérokonverzní panely	Nutno stanovit, jakmile budou k dispozici	Diagnostická citlivost během sérokonverze musí odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků
Analytická citlivost	Normy	Mezinárodní normy WHO Kód NIBSC: 09/186 Kód NIBSC: 09/188	
Diagnostická specifčnost	Náhodně vybraní dárči (včetně prvodárců) ⁽¹⁾	≥ 5 000	≥ 99,5 %
	Hospitalizovaní pacienti	≥ 200	Určí se případná omezení specifcity
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 100 celkem včetně těchto vzorků: pozitivní na anti- <i>Toxoplasma gondii</i> ; nejméně 5 vzorků pozitivních na anti- <i>Leishmania</i> ; RF+; příbuzná mikrobiální agens nebo jiná infekční agens; pacienti s SLE; pacienti pozitivní na protilátky proti fosfolipidům; těhotné ženy atd.	

⁽¹⁾ Musí být zkoumána populace dárců krve nejméně ze dvou transfuzních stanic a musí se jednat o po sobě následující odběry krve, aniž byli vyloučeni prvodárci.

Tabulka 2. Konfirmační a doplňkové testy: anti-*T. cruzi*

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorky	Počet, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 300 pozitivních vzorků, včetně vysoce pozitivních vzorků potvrzených pomocí nejméně dvou různých sérologických testů na různé protilátky proti <i>T. cruzi</i> . Z těchto 300 je ≥ 25 vzorků pozitivních na parazity, což bylo potvrzeno přímou detekcí.	≥ 99 % identifikace jako „potvrzený pozitivní“ nebo „neurčitý“
	Sérokonverzní panely	Je-li k dispozici	Diagnostická citlivost během sérokonverze musí v příslušných případech odpovídat současnému stavu vědeckých poznatků
Analytická citlivost	Normy	Mezinárodní normy WHO Kód NIBSC: 09/186 Kód NIBSC: 09/188	
Diagnostická specifita	Negativní vzorky	≥ 200	≥ 99 %
	Klinické vzorky	≥ 200	Určí se případná omezení specifity
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 50 celkem, včetně vzorků od těhotných žen a vzorků s neurčitými výsledky v dalších konfirmačních testech	

Tabulka 3: Prostředky NAT pro DNA *T. cruzi*

1. Pokud jde o prostředky k amplifikaci cílové sekvence, musí kontrola funkčnosti každého vzorku (vnitřní kontrola) odrážet současný stav vědeckých poznatků. Tato kontrola se musí pokud možno provádět během celého procesu, tj. při extrakci, amplifikaci/hybridizaci, detekci.
2. Detekce genotypu a/nebo subtypu se prokáže vhodnou validací návrhu primeru nebo sondy a musí být rovněž validována testováním vzorků se stanoveným genotypem.
3. Potenciální křížová reaktivita necílových sekvencí nukleových kyselin se analyzuje vhodnou validací návrhu primeru nebo sondy a musí být rovněž validována testováním vybraných vzorků.
4. Výsledky z kvantitativních prostředků NAT musí být prokazatelně získány na základě mezinárodních norem nebo kalibrovaných referenčních materiálů, pokud jsou k dispozici, a musí být vyjádřeny v mezinárodních jednotkách používaných v dané oblasti použití.

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorky	Počet, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Analytická citlivost	Charakteristický interní referenční preparát (pokud nejsou k dispozici mezinárodní referenční materiály)	Citlivost NAT a mez detekce (LOD) NAT se validují sériovým ředěním referenčních materiálů, testováním replikátů (minimálně 24) při různých koncentracích analytu, včetně koncentrací s přechodem z pozitivních na negativní výsledky s příslušným prostředkem NAT. LOD se vyjádří jako 95% pozitivní mezní hodnota (IU/ml) po statistické analýze (např. Probit) ⁽¹⁾ .	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Diagnostická citlivost: různé kmeny/izoláty <i>T. cruzi</i>	Vzorky od pacientů z různých regionů určené jako pozitivní na DNA <i>T. cruzi</i> pomocí srovnávacího prostředku; varianty sekvencí	≥ 100 Sériové ředění buněčných kultur (izolátů) pozitivních na <i>T. cruzi</i> nebo materiálů ze zvířecích modelů pozitivních na <i>T. cruzi</i> může sloužit jako potenciální náhrada	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Diagnostická specifita	Negativní vzorky	≥ 100	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 10 lidských vzorků pozitivních na jiné parazity, např. druhy <i>Plasmodium</i> , <i>Trypanosoma brucei</i> . Pozitivní buněčné kultury mohou sloužit jako potenciální náhrada	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Přenos		Během studií hodnověrnosti se provede alespoň pět řad testů střídavě s vysoce pozitivními a negativními vzorky. Titry <i>T. cruzi</i> u vysoce pozitivních vzorků musí být reprezentativní pro vysoké titry <i>T. cruzi</i> , které se vyskytují přirozeně.	Podle současného stavu vědeckých poznatků
Četnost selhání celého systému		Otestuje se ≥ 100 vzorků slabě pozitivních na DNA <i>T. cruzi</i> . Tyto vzorky musí obsahovat koncentraci <i>T. cruzi</i> rovnající se trojnásobku 95% pozitivní mezní koncentrace <i>T. cruzi</i> .	≥ 99 % pozitivních

⁽¹⁾ Odkaz: Evropský lékopis 9.0, 2.6.21 Techniky amplifikace nukleových kyselin, validace.

SPOLEČNÉ SPECIFIKACE PRO PROSTŘEDKY URČENÉ K DETEKCI NEBO KVANTIFIKACI MARKERŮ INFEKCE KORONAVIREM 2 ZPŮSOBUJÍCÍM TĚŽKÝ AKUTNÍ RESPIRAČNÍ SYNDROM

Oblast působnosti

Tato příloha se použije na prostředky určené k detekci nebo kvantifikaci markerů infekce koronavirem 2 způsobujícím těžký akutní respirační syndrom (SARS-CoV-2).

Tabulka 1 se použije na tyto testy první linie (včetně rychlých testů) na protilátky proti SARS-CoV-2 (anti-SARS-CoV-2): celkové protilátky, pouze IgG, IgG v kombinaci s IgM a/nebo IgA.

Tabulka 2 se použije na testy první linie (včetně rychlých testů) k detekci anti-SARS-CoV-2 IgM a/nebo IgA.

Tabulka 3 se použije na konfirmační nebo doplňkové testy na anti-SARS-CoV-2.

Tabulka 4 se použije na testy na antigen SARS-CoV-2, včetně rychlých testů na antigen.

Tabulka 5 se použije na testy NAT pro RNA SARS-CoV-2.

Tabulka 6 se použije na samotesty na antigen SARS-CoV-2, které již byly podrobeny hodnocení funkční způsobilosti pro profesionální použití.

Tabulka 7 se použije na samotesty na protilátky proti SARS-CoV-2, které již byly podrobeny hodnocení funkční způsobilosti pro profesionální použití.

Tabulka 1: Testy první linie (včetně rychlých testů) na anti-SARS-CoV-2: celkové protilátky, pouze IgG, IgG v kombinaci ⁽¹⁾ s IgM a/nebo IgA

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počet, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	<p>≥ 400 včetně vzorků z rané infekce a po sérokonverzi ⁽²⁾ (během prvních 21 dnů a po 21 dnech po nástupu příznaků); včetně vzorků od asymptomatických nebo subklinických a mírně symptomatických osob (ambulantní léčba); včetně vzorků s nízkým a vysokým titrem; v příslušných případech včetně vzorků od očkovaných osob ⁽³⁾; zvážení genetických variant</p>	<p>≥ 90% citlivost ⁽⁴⁾ u vzorků odebraných > 21 dnů po nástupu příznaků ⁽⁵⁾; celková citlivost včetně rané fáze infekce musí být alespoň rovnocenná srovnávacímu prostředku ⁽⁶⁾</p>
	Sérokonverzní panely	Pokud je k dispozici	Citlivost sérokonverze srovnatelná s jinými prostředky opatřenými označením CE

Analytická citlivost	Referenční preparáty	Mezinárodní norma WHO pro anti- SARS-CoV-2 (kód NIBSC 20/136); Mezinárodní referenční panel WHO pro protilátky proti SARS-CoV-2 (kódy NIBSC 20/140, 20/142, 20/144, 20/148, 20/150)	mezinárodní norma: pro stanovení titru / kvantitativní (?) výstup; referenční panel: veškeré testy na protilátky
Diagnostická specifčnost	Negativní vzorky ⁽⁸⁾	≥ 400 vzorky od neinfikovaných a neočkovaných osob ⁽⁹⁾	> 99% specifčnost ⁽¹⁰⁾
		≥ 200 hospitalizovaní pacienti (bez infekce SARS-CoV-2)	Určí se případná omezení specifčnosti
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 100 celkem včetně RF+, těhotných žen, vzorků s protilátkami proti endemickým lidským koronaviřům 229E, OC43, NL63, HKU1 a dalším patogenům respiračních onemocnění, jako je chřipka A, B, RSV atd.	

⁽¹⁾ Tvzení o funkční způsobilosti platí pro kombinovaný celkový výsledek; pokud jde o prostředky se samostatnými údaji pro IgM a/nebo IgA, viz tabulka 2.

⁽²⁾ Uvedou se podrobnosti o časovém intervalu mezi odběrem vzorků a nástupem příznaků (nebo o době infekce, je-li k dispozici).

⁽³⁾ Výrobce poskytne odůvodnění vhodnosti a načasování hodnocení citlivosti, pokud jde o příslušné protilátky u očkovaných osob.

⁽⁴⁾ Na základě potvrzeného pozitivního výsledku NAT pro SARS-CoV-2.

⁽⁵⁾ Údaje o citlivosti musí být specifikovány ve vztahu k době mezi odběrem vzorků po nástupu příznaků nebo počáteční diagnózou PCR a testem.

⁽⁶⁾ Který je opatřen označením CE podle nařízení (EU) 2017/746 jako třída D, je-li k dispozici.

⁽⁷⁾ To platí pro kvantitativní testy, pokud se zároveň jedná i o testy první linie.

⁽⁸⁾ Negativní vzorky musí pocházet od osob, které v minulosti nebyly infikovány virem SARS-CoV-2 (pokud možno z doby před pandemií).

⁽⁹⁾ V příslušných případech mohou být zahrnuty osoby očkované proti jinému antigenu, než je antigen použitý v prostředku.

⁽¹⁰⁾ Falešně pozitivní výsledky se vyřeší opakovaným testováním pomocí jiných sérologických testů na SARS-CoV-2, v případě potřeby s odlišnou strukturou testu a odlišnou technologií nanesení antigenu (coating) v porovnání s počátečním testem, a/nebo pomocí konfirmačních testů.

Tabulka 2: Testy první linie (včetně rychlých testů) na anti-SARS-CoV-2: Detekce IgM a/nebo IgA

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počet, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 200 ⁽¹⁾ Vzorky ⁽²⁾ s významným podílem z rané fáze infekce (do 21 dnů po nástupu příznaků) ve srovnání se vzorky z minulé sérokonverze (> 21 dnů po nástupu příznaků); včetně vzorků od asymptomatických, subklinických, mírně symptomatických osob (ambulantní léčba); v příslušných případech včetně čerstvě ⁽³⁾ očkovaných osob; zvážení genetických variant	≥ 80% citlivost ⁽⁴⁾ u vzorků odebraných během prvních 21 dnů po nástupu příznaků ⁽⁵⁾ ; celková citlivost musí být alespoň rovnocenná srovnávacímu prostředku ⁽⁶⁾ stejného typu (tj. IgM a/nebo IgA)

Sérokonverzní panely	Pokud je k dispozici	Citlivost sérokonverze srovnatelná s jinými prostředky opatřenými označením CE	
Analytická citlivost	Normy	Není k dispozici	Není k dispozici
Diagnostická specifičnost	Negativní vzorky ⁽⁷⁾	≥ 200 vzorky od neinfikovaných a neočkovaných osob ⁽⁸⁾	≥ 98% specifická ⁽⁹⁾
		≥ 100 od hospitalizovaných pacientů (bez infekce SARS-CoV-2)	Určí se případná omezení specifickosti
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 100 celkem včetně RF+, těhotných žen, vzorků s protilátkami proti endemickým lidským koronaviřům 229E, OC43, NL63, HKU1 a dalším patogenům respiračních onemocnění, jako je chřipka A, B, RSV atd.	

⁽¹⁾ V případě prostředků k detekci jak IgM, tak IgA: 200 na jeden marker IgM a IgA.

⁽²⁾ Uvedou se podrobnosti o časovém intervalu mezi odběrem vzorků a nástupem příznaků (nebo o době infekce, je-li k dispozici).

⁽³⁾ Výrobce poskytne odůvodnění vhodnosti a načasování hodnocení citlivosti, pokud jde o IgM a IgA u očkovaných osob.

⁽⁴⁾ Diagnostika založena na potvrzeném pozitivním výsledku NAT pro SARS-CoV-2.

⁽⁵⁾ Údaje o citlivosti musí být specifikovány ve vztahu k době mezi odběrem vzorků po nástupu příznaků nebo počáteční diagnostikou PCR a testem.

⁽⁶⁾ Který je opatřen označením CE podle nařízení (EU) 2017/746 jako třída D, je-li k dispozici.

⁽⁷⁾ Negativní vzorky musí pocházet od osob, které v minulosti nebyly infikovány virem SARS-CoV-2 (pokud možno z doby před pandemií).

⁽⁸⁾ V příslušných případech mohou být zahrnuty osoby očkové proti jinému antigenu, než je antigen použitý v prostředku.

⁽⁹⁾ Falešně pozitivní výsledky se vyřeší opakovaným testováním pomocí jiných sérologických testů na SARS-CoV-2, v případě potřeby s odlišnou strukturou testu a odlišnou technologií nanášení antigenu (coating) v porovnání s počátečním testem, a/nebo pomocí konfirmačních testů. Objasnění falešně pozitivních výsledků může navíc zahrnovat testování na přítomnost jiných typů protilátek proti SARS-CoV-2 (IgA, IgG, celkové protilátky).

Tabulka 3: Konfirmační nebo doplňkové ⁽¹⁾ testy na anti-SARS-CoV-2

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počet, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 200 včetně vzorků před sérokonverzí a po ní (během prvních 21 dnů a po 21 dnech po nástupu příznaků)	Správné určení jako „pozitivní“ (nebo „neurčitý“)
	Sérokonverzní panely / panely s nízkým titrem	pokud je k dispozici	

Analytická citlivost	Normy	Není k dispozici	Není k dispozici
Diagnostická specifčnost	Negativní vzorky ⁽²⁾	≥ 200 od neinfikovaných / neočkovaných osob	Žádné falešně pozitivní výsledky; správné určení jako „negativní“ (nebo „neurčitý“)
		≥ 200 od hospitalizovaných pacientů (bez infekce SARS-CoV-2)	
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 50 celkem včetně vzorků s protilátkami proti endemickým lidským koronavirům 229E, OC43, NL63, HKU1 a dalším patogenům respiračních onemocnění, jako je chřipka A, B, RSV atd.; včetně vzorků s neurčitými nebo falešně pozitivními výsledky v jiných testech na anti-SARS-CoV-2	

⁽¹⁾ Např. imunoblot s antigeny odlišnými od antigenů použitých v počátečním testu na protilátky.

⁽²⁾ Negativní vzorky musí pocházet od osob, které v minulosti nebyly infikovány virem SARS-CoV-2 (pokud možno z doby před pandemií).

Tabulka 4: Testy na antigen (včetně rychlých testů): SARS-CoV-2

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	Počet, charakteristiky, použití vzorků	Kritéria přijatelnosti
Diagnostická citlivost	Pozitivní vzorky	≥ 100 ⁽¹⁾ Pozitivní vzorky z NAT ⁽²⁾ z rané infekce během prvních 7 dnů po nástupu příznaků ⁽³⁾ ; vzorky musí reprezentovat přirozeně se vyskytující virovou zátěž ⁽⁴⁾ ; zvážení genetických variant ⁽⁵⁾ ; zvážení změn v odběru vzorků a/nebo v manipulaci se vzorky ⁽⁶⁾	Detekce > 80 % (rychlé testy); detekce > 85 % (laboratorní testy ⁽⁷⁾); vztaženo k SARS-CoV-2-NAT ⁽⁸⁾ , ⁽⁹⁾
Analytická citlivost	Normy	Jakmile bude k dispozici	Stanovení LOD ⁽¹⁰⁾
Diagnostická specifčnost	Negativní vzorky	≥ 300 od neinfikovaných osob	Specifčnost > 98 % (rychlé testy) Specifčnost > 99 % (laboratorní testy ⁽⁷⁾)
		≥ 100 od hospitalizovaných pacientů	Určí se případná omezení specifčnosti
Křížová reaktivita	Vzorky s potenciální křížovou reaktivitou	≥ 50 celkem včetně vzorků pozitivních na endemické lidské koronaviry 229E, OC43, NL63, HKU1; chřipka A, B, RSV a další patogeny respiračních onemocnění, které jsou způsobilé pro diferenciální diagnostiku; včetně bakterií ⁽¹¹⁾ přítomných v oblasti odběru vzorků	

- (¹) Je-li prostředek určen k použití pro více než jeden druh vzorku, vyžaduje se pro každý druh vzorku 100 vzorků. Není-li to za výjimečných okolností možné (např. pokud je odběr vzorků velmi invazivní), musí výrobce poskytnout odůvodnění a doklad o rovnocennosti matice.
- (²) Odběr vzorků pro test na antigen a test NAT musí být vyrovnaný, např. musí být odebrány zároveň dva vzorky od každé osoby nebo pokud možno musí být proveden test NAT a test na antigen ze stejného vzorku (např. z eluátu jednoho tamponu); pufové/transportní médium musí být kompatibilní s testem na antigen; jakákoli změna objemu pufru/média pro odběr vzorků mezi testem na antigen a prostředkem NAT musí být jasně uvedena.
- (³) Nebo doba infekce, je-li známa, s přihlédnutím k inkubační době.
- (⁴) Tj. bez předběžného výběru; uvede se virová zátěž a její rozložení, např. pomocí hodnot Ct RT-PCR; případně se převede na virovou zátěž na jeden ml vzorku.
- (⁵) V závislosti na návrhu prostředku a povaze genetické varianty. Pro účely hodnocení musí být každá genetická varianta zastoupena alespoň 3 vzorky.
- (⁶) Součástí hodnocení musí být odběr a extrakce vzorků, jako jsou tampony, extrakční pufrы atd. Není-li součástí prostředku patentovaný odběr vzorků / příprava vzorku, zkoumá se funkční způsobilost prostředku pro příslušný rozsah prostředků pro odběr vzorků. Není-li vzorek testován okamžitě, např. až po určité době přepravy, zkoumá se stabilita antigenu.
- (⁷) Jiné než rychlé testy, tj. formální laboratorní prostředky, např. enzymatická imunoanalýza, automatizované testy atd.
- (⁸) Citlivost ve výši $\geq 80\%$, resp. $\geq 85\%$ musí být zajištěna pro všechny uvedené druhy vzorků. Všechny uvedené druhy vzorků se porovnávají s párovými výsledky NAT z nasofaryngeálních vzorků.
- (⁹) Musí být prokázán vztah mezi citlivostí testu na antigen a NAT; citlivost může být prokázána ve vztahu k různým rozmezím virové zátěže a různému prahu infekčnosti. Je třeba popsat použitou metodu NAT a metodu extrakce.
- (¹⁰) Není-li k dispozici mezinárodní norma, lze analytickou citlivost testovat pomocí sériového ředění interních virových preparátů, a to ve srovnání s jinými testy na antigen a NAT; je-li použit inaktivovaný virus, musí být zkoumán účinek inaktivace a zmrazení/rozmrazení na antigen.
- (¹¹) Např. stafylokoky a streptokoky exprimující protein A nebo G.

Tabulka 5: Prostředky NAT pro RNA SARS-CoV-2

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorek	kvalitativní RNA SARS-CoV-2	kvantitativní RNA SARS-CoV-2
Citlivost			
Analytická citlivost: LOD	První mezinárodní norma WHO SARS-CoV-2 RNA (kód NIBSC 20/146; 7,70 Log ₁₀ IU/mL) Sekundární normy kalibrované podle mezinárodní normy WHO	Podle pokynů Evropského lékopisu pro validaci NAT: několik sériových ředění až po hraniční koncentraci; statistická analýza (např. analýza Probit) na základě alespoň 24 replikátů; výpočet 95% mezní hodnoty	Podle pokynů Evropského lékopisu pro validaci NAT: několik sériových ředění kalibrovaných referenčních preparátů až po hraniční koncentraci; statistická analýza (např. analýza Probit) na základě alespoň 24 replikátů; výpočet 95% mezní hodnoty jako LOD
Mez kvantifikace; charakteristiky kvantifikace	První mezinárodní norma WHO SARS-CoV-2 RNA (kód NIBSC 20/146; 7,70 Log ₁₀ IU/mL) Sekundární normy kalibrované podle mezinárodní normy WHO		Ředění (polovina log ₁₀ nebo méně) kalibrovaných referenčních preparátů; stanovení dolní a horní meze kvantifikace, LOD, přesnost, správnost, „lineární“ rozsah měření, „dynamický rozsah“. Syntetickou cílovou nukleovou kyselinu lze použít jako sekundární standard pro dosažení vyšších stupňů koncentrace. Musí být prokázána reprodukovatelnost při různých stupních koncentrace

Diagnostická citlivost: různé kmeny RNA SARS-CoV-2	Vzorky od pacientů určené jako pozitivní na RNA SARS-CoV-2 pomocí srovnávacího prostředku z různých regionů a klastřů ohnisek; varianty sekvencí Sériové ředění buněčných kultur (izolátů) pozitivních na SARS-CoV-2 může sloužit jako potenciální náhrada	≥ 100 (¹)	
Účinnost kvantifikace	Vzorky od pacientů pozitivní na RNA SARS-CoV-2 z různých regionů a klastřů ohnisek; varianty sekvencí s kvantitativními hodnotami získanými pomocí srovnávacího prostředku Sériové ředění buněčných kultur pozitivních na RNA SARS-CoV-2 může sloužit jako potenciální náhrada		≥ 100
Inkluzivnost	Analýza <i>in silico</i> (²); alespoň dvě nezávislé oblasti cílového genu v jednom testu (dual-target design)	Důkazy o vhodnosti navrženého prostředku: sladění sekvence primeru/sondy se zveřejněnými sekvencemi SARS-CoV-2	Důkazy o vhodnosti navrženého prostředku: sladění sekvence primeru/sondy se zveřejněnými sekvencemi SARS-CoV-2

Specifická

Diagnostická specifická	Lidské vzorky negativní na RNA SARS-CoV-2	≥ 500	≥ 100
Analýza <i>in silico</i> (²)		Důkazy o vhodnosti navrženého prostředku (sladění sekvencí); pravidelná kontrola sekvencí primeru/sondy na základě záznamů o sekvencích z databází	Důkazy o vhodnosti navrženého prostředku (sladění sekvencí); pravidelná kontrola sekvencí primeru/sondy na základě záznamů o sekvencích z databází
Křížová reaktivita	Vzorky (o různé koncentraci) pozitivní na příbuzné lidské koronaviry 229E, HKU1, OC43, NL63, koronavirus MERS; SARS CoV-1, pokud je k dispozici; virus chřipky A, B; RSV; <i>Legionella pneumophila</i> ; pozitivní buněčné kultury mohou sloužit jako potenciální náhrada	≥ 20 celkem	≥ 20 celkem

Hodnověrnost

Přenos		Nejméně 5 řad testů s použitím střídavě vysoce pozitivních a negativních vzorků. Titry viru u vysoce pozitivních vzorků musí být reprezentativní pro vysoké titry viru, které se vyskytují přirozeně.	Nejméně 5 řad testů s použitím vysoce pozitivních (s prokázaným přirozeným výskytem) a negativních vzorků
--------	--	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------

Inhibice		Vnitřní kontrola nejlépe v průběhu celého procesu NAT	Vnitřní kontrola nejlépe v průběhu celého procesu NAT
Četnost selhání celého systému vedoucí k falešně negativním výsledkům: 99/100 pozitivních testů		≥ 100 vzorků infikovaných virem s trojnásobnou 95% pozitivní mezní koncentrací (3 x LOD)	≥ 100 vzorků infikovaných virem s trojnásobnou 95% pozitivní mezní koncentrací (3 x LOD)

(¹) Je-li prostředek určen k použití pro více než jeden druh vzorku, vyžaduje se pro každý druh vzorku 100 vzorků. Není-li to za výjimečných okolností možné (např. pokud je odběr vzorků velmi invazivní), musí výrobce poskytnout odůvodnění a doklad o rovnocennosti matice.

(²) Výrobce ve zprávě o sledování funkční způsobilosti po uvedení na trh zdokumentuje důkazy o proaktivních pravidelných kontrolách dozoru na základě záznamů z aktualizovaných databází.

Tabulka 6: Dodatečné požadavky na samotesty na antigen proti SARS-CoV-2 (¹)

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorky (²)	Počet laických osob
Interpretace výsledků (³)	Interpretace výsledků (⁴) laickými osobami odrážející tento rozsah úrovní reaktivity: — nereaktivní — reaktivní — slabě reaktivní (⁵) — neplatný	≥ 100
Diagnostická citlivost (⁶)	Laické osoby, o nichž je známo, že jsou pozitivní na antigen (⁷): (⁸)	≥ 30
Diagnostická specifita (⁹)	Laické osoby, které neznají svůj status (⁹)	≥ 60

(¹) Předpokládá se, že základní funkční způsobilost samotestu byla již dříve prokázána hodnocením/posouzením profesionálního testu stejného uspořádání jako příslušný samotest, který je předmětem hodnocení. Pokud u dotčených vzorků pro vlastní použití neexistuje žádná odpovídající varianta profesionálního testu, provede se srovnání se standardním typem vzorku (např. nasofaryngeální výtěry pro test na antigen, sérum nebo plazma pro test na protilátky) odpovídajícího profesionálního testu.

(²) Pro každý druh vzorku pro vlastní použití, který lze s prostředkem použít (např. vzorek z nosu, sputum, sliny, plná krev atd.).

(³) Studie interpretace výsledků musí zahrnovat čtení a interpretaci výsledků testů alespoň 100 laickými osobami, přičemž každá laická osoba musí přečíst výsledky pokrývající stanovený rozsah úrovní reaktivity výsledků. Výrobce určí shodu mezi tím, co přečetla laická osoba a profesionální uživatel.

(⁴) Testy se provedou před analýzou interpretace výsledků, pokud možno s použitím druhu vzorku určeného výrobcem. Testy mohou být provedeny na uměle připravených vzorcích na základě přírodní matrice příslušného druhu vzorku.

(⁵) Větší podíl vzorků musí být v rozsahu „slabě pozitivní“ blízko mezní hodnoty nebo LOD daného testu.

(⁶) Ve srovnání s RT-PCR. Výrobce určí shodu mezi tím, co přečetla laická osoba a profesionální uživatel.

(⁷) Osoby, které před provedením samotestu nejsou obeznámeny s profesionálním diagnostickým výsledkem a provedou celý postup testování od odběru a předběžné úpravy vzorku (stěr, extrakce pufry atd.) až po přečtení výsledku.

(⁸) Subjekty do zhruba 7 dnů po nástupu příznaků.

(⁹) Výrobce určí shodu mezi tím, co přečetla laická osoba a profesionální uživatel.

Tabulka 7: Dodatečné požadavky na samotesty na protilátky proti SARS-CoV-2 ⁽¹⁾

Vlastnost z hlediska funkční způsobilosti	Vzorky ⁽²⁾	Počet laických osob
Interpretace výsledků ⁽³⁾	Interpretace výsledků ⁽⁴⁾ laickými osobami odrážející tento rozsah úrovní reaktivity: — nereaktivní — reaktivní — slabě reaktivní ⁽⁵⁾ — neplatný	≥ 100
Diagnostická citlivost ⁽⁶⁾	Laické osoby, o nichž je známo, že jsou pozitivní na protilátky ⁽⁷⁾	≥ 100
Diagnostická specifčnost ⁽⁸⁾	Laické osoby, které neznají svůj status ⁽³⁾	≥ 100

⁽¹⁾ Předpokládá se, že základní funkční způsobilost samotestu byla již dříve prokázána hodnocením/posouzením profesionálního testu stejného uspořádání jako příslušný samotest, který je předmětem hodnocení. Pokud u dotčených vzorků pro vlastní použití neexistuje žádná odpovídající varianta profesionálního testu, provede se srovnání se standardním typem vzorku (např. nasofaryngeální výtěry pro test na antigen, sérum nebo plazma pro test na protilátky) odpovídajícího profesionálního testu.

⁽²⁾ Pro každý druh vzorku pro vlastní použití, který lze s prostředkem použít (např. vzorek z nosu, sputum, sliny, plná krev atd.).

⁽³⁾ Studie interpretace výsledků musí zahrnovat čtení a interpretaci výsledků testů alespoň 100 laickými osobami, přičemž každá laická osoba musí přečíst výsledky pokrývající stanovený rozsah úrovní reaktivity výsledků. Výrobce určí shodu mezi tím, co přečetla laická osoba a profesionální uživatel.

⁽⁴⁾ Testy se provedou před analýzou interpretace výsledků, pokud možno s použitím druhu vzorku určeného výrobcem. Testy mohou být provedeny na uměle připravených vzorcích na základě přírodní matrice příslušného druhu vzorku.

⁽⁵⁾ Větší podíl vzorků musí být v rozsahu „slabě pozitivní“ blízké mezní hodnoty nebo LOD daného testu.

⁽⁶⁾ S předchozí prvotní infekcí SARS-CoV-2 potvrzenou pomocí RT PCR; ve srovnání s předchozím potvrzeným výsledkem na protilátky. Výrobce určí shodu mezi tím, co přečetla laická osoba a profesionální uživatel.

⁽⁷⁾ Osoby, které před provedením samotestu nejsou obeznámeny s profesionálním diagnostickým výsledkem a provedou celý postup testování od odběru a předběžné úpravy vzorku (stěr, extrakce pufru atd.) až po přečtení výsledku.

⁽⁸⁾ Výrobce určí shodu mezi tím, co přečetla laická osoba a profesionální uživatel.