

David Šubík,

VÁŠ DOPIS ZN.:

ZE DNE: 04. 11. 2022

NAŠE ZN.: SZU/14975/2022

VYŘIZUJE: Karolína Šolínová

TEL./FAX .: 267 082 320

E-MAIL: karolina.solinova@szu.cz

DATUM: 14. 11. 2022

**Poskytnutí informací a o částečném odložení žádosti dle zák. č. 106/1999 Sb., o svobodném přístupu k informacím, ve znění pozdějších předpisů**

Vážení,

Státní zdravotní ústav (dále jen „SZÚ“) obdržel dne 4. listopadu 2022 Vaši žádost podle zákona č. 106/1999 Sb., o svobodném přístupu k informacím, ve znění pozdějších předpisů (dále jen „InfZ“), ve které žádáte o následující informace, ke kterým zasíláme níže uvedené odpovědi:

1. **Jakou diagnostickou sadu pro detekci SARS-CoV-2 ústav používá? Pokud používá více různých sad, prosím uveďte jaké, a žádosti o odpověď pod číslem 2-5 specifikujte ke každé soupravě zvlášť.**

CE-IVD PCR souprava Allplex SARS-Cov-2.

2. **Plní tato sada technické požadavky pro prostředky používané k in vitro diagnostice podle nařízení vlády č. 56/2015 Sb. (popř. Směrnice Evropského parlamentu a Rady 98/79/ES) a pokud ano, jaké jsou hodnoty jejich funkčních parametrů dle bodu 4.**

**Přílohy 1 – Základní požadavky:**

- citlivost k příslušnému rozboru
- citlivost pro diagnózu
- analytická specifická
- diagnostická vhodnost
- přesnost
- opakovatelnost
- reprodukovatelnost?

Výše uvedené nespadá do působnosti SZÚ. SZÚ dle § 2 odst. 1 InfZ je jako povinný subjekt povinen poskytovat informace vztahující se k jeho působnosti, která je uvedena v § 86 zákona č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví, ve znění pozdějších předpisů, a ve statutu SZÚ.

S ohledem na výše uvedené se v souladu s § 14 odst. 5 písm. c) InfZ Vaše žádost **odkládá.**

Nad rámec shora uvedeného si Vás dovoluujeme odkázat na výrobce uvedené diagnostické sady.

3. **Jaký je limit detekce této sady a jaká je mezní hranice Ct, kterou udává výrobce, do kdy je výsledek testu pozitivní a od kdy je výsledek negativní? Jak tuto hranici výrobce testu validoval z hlediska analytické a diagnostické specifické a senzitivity?**

Výše uvedené nespadá do působnosti SZÚ. SZÚ dle § 2 odst. 1 InfZ je jako povinný subjekt povinen poskytovat informace vztahující se k jeho působnosti, která je uvedena v § 86 zákona č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví, ve znění pozdějších předpisů, a ve statutu SZÚ.

S ohledem na výše uvedené se v souladu s § 14 odst. 5 písm. c) InfZ Vaše žádost **odkládá**.

Nad rámec shora uvedeného si Vás dovoluujeme odkázat na výrobce uvedené diagnostické sady.

4. **Žádáme o poskytnutí kompletního verifikačního protokolu této diagnostické sady podle ČSN ISO 15189, jak Vaše laboratoř objektivně ověřila výkonnostní charakteristiky tohoto testu před uvedením do testovací praxe.**

Jedná se o CE-IVD diagnostikum, Národní referenční laboratoř (dále jen „NRL“) verifikuje funkčnost diagnostika s každým použitím (splnění kritérií validity metody).

5. **Jaké přístrojové vybavení laboratoř používá pro izolaci RNA, pipetování a provedení RT-PCR a prosíme o doložení prohlášení o shodě výrobců jednotlivých přístrojů a zařízení, že toto Vámi používané vybavení plní technické požadavky nařízení vlády č. 56/2015 Sb. (popř. Směrnice Evropského parlamentu a Rady 98/79/ES).**

Pro izolaci RNA laboratoř používá Zybio (EU declaration of conformity) a Kingfisher (Certificate of conformance), pro pipetování automatické pipety eppendorf, bioht a provedení RT-PCR CFX 98.

6. **Organizoval/je ústav externí hodnocení kvality testování detekce viru SARS-CoV-2?**

Ano.

7. **Pokud ano, jakým způsobem jsou vzorky pro kontrolované laboratoře připravovány a jak ověřujete správnost výsledků RT-PCR diagnostiky pro jednotlivé vzorky?**

SARS-CoV-2 se známou sekvencí (WGS) izolované na permisivních buněčných kulturách VERO E6 /VERO E6 TMPRSS 2, vhodně naředěné a ověřené pomocí PCR, Správnost Ct hodnot ověřujeme sadou standardů o známé koncentraci.

**V souvislosti s postupy používanými k celogenomovému sekvenování viru SARS-CoV-2:**

8. **Uveďte, zda sekvenaci genomu SARS-CoV-2 provádíte ve své laboratoři a kdo je její odborný garant?**

Ano, provádíme. Odborným pracovníkem je RNDr. Helena Jirincová, kategorie odborný garant není pro WGS zřízena.

9. **Pokud ano, prosíme o doložení přesného laboratorního postupu, jakým při celogenomové sekvenaci laboratoř postupuje, zda se jedná o validovaný postup (nebo metodu) určitého výrobce nebo zda se jedná o in house postup/metodu Vaší laboratoře?**

Izolace RNA, příprava cDNA, příprava amplikonové sekvenční knihovny, sekvenace na přístrojích Illumina MiSeq, Genexus, nebo na chipu Oxford Nanopore MinIon.

Pro sekvenaci vybíráme pozitivní izoláty SARS-CoV-2 s t menší než 32.

Pro přípravu knihovny PRO Illumina miSeq používáme: Komerční soupravu validovanou výrobcem Paragpn, Genomics CleanPlex SARS-CoV-2 nebo protokol Artic v3: NEBNext ARTIC SARS-CoV-2 FS Library Prep.

Pro přípravu knihovny pro sekvenaci na MinIon, vycházíme z protokolu Artic V3.

Sekvenátor Genexus využíváme jako uzavřený systém.

Ve všech případech kontrolujeme kvalitu sekvencí:

Sledujeme parametry: the base quality, the nucleotide distribution, GC content distribution and the duplication rate.

Zásadní je: average or median depth and the percentage of the genome covered by the sequencing.

Dalšími parametry: Alignment to reference sequence, Variant calling.

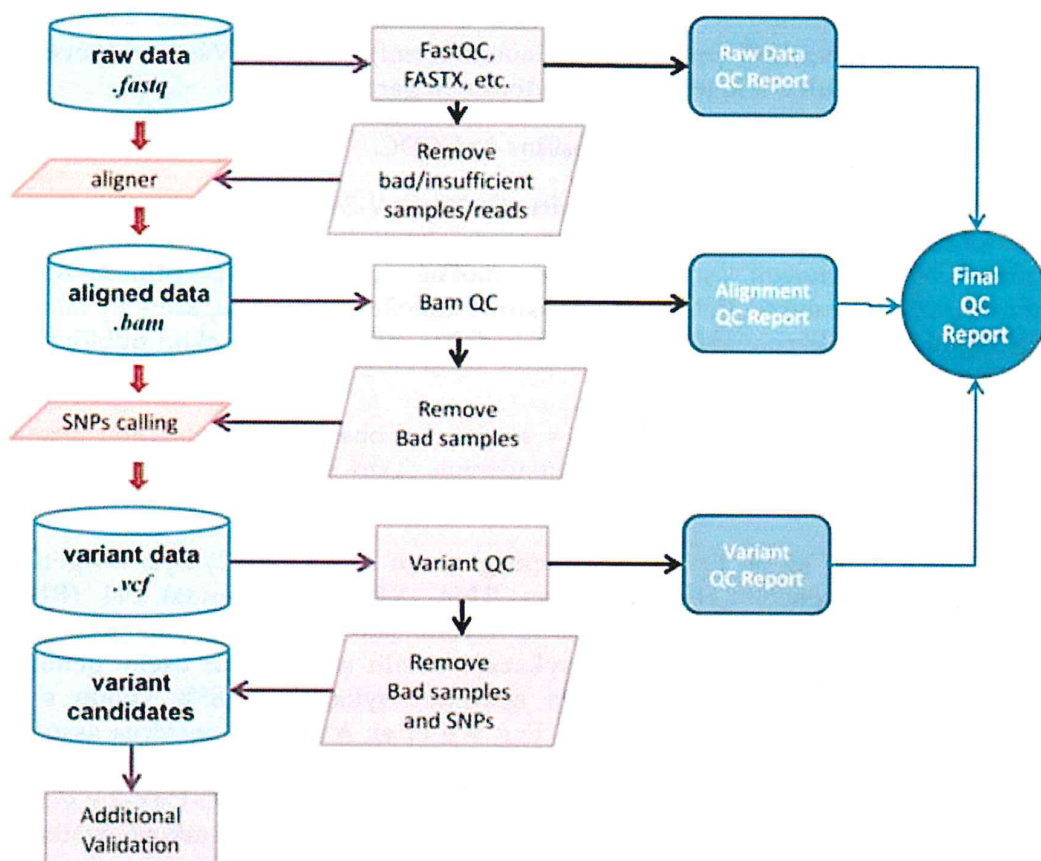
Využíváme automatické procesy:

Illumina – Paragon:Bioxsys: reference based bioinformatic analysis

Illumina NEB protocol: bioinformatical pipeline of FoS CU-BIOCEV (HERA ECDC)

Oxford Nanopore Min Ion: bioinformatical pipeline adaptovanou dle doporučení ARTIC NETWORK Group.

Celý proces získání relevantních sekvenačních dat je uveden na obrázku.



Před zveřejněním v mezinárodní databázi GISAID kontrolujeme sekvence dle aktuálních požadavků uvedených zde: Kontrolu kvality provádíme dle doporučení uveřejněných zde: Aksamentov, I., Roemer, C., Hodcroft, E. B., & Neher, R. A., (2021). Nextclade: clade assignment, mutation calling and quality control for viral genomes. *Journal of Open Source Software*, 6(67), 3773, 3

Celý proces je prováděn v souladu s mezinárodními doporučeními (Rosenthal, S.H., Gerasimova, A., Ruiz-Vega, R. et al. Development and validation of a high throughput SARS-CoV-2 whole genome sequencing workflow in a clinical laboratory. *Sci Rep* 12, 2054 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06091-0>)

**10. Jak proběhla validace tohoto postupu? Prosíme o doložení postupů a výsledků validačního procesu.**

Proces je adaptován dle aktuálních mezinárodních doporučení.

**11. Jak proběhla verifikace způsobem, který odpovídá ČSN ISO 15189? Žádáme o doložení verifikačního protokolu.**

Jedná se o neakreditovanou metodu. Výsledky verifikujeme dle postupu a parametrů uvedených v bodu 9. Některé sekvence ověříme paralelní sekvenací v ECDC.

**12. Žádáme o poskytnutí informace o veškerém vybavení, které je k celogenomovému sekvenování používáno včetně softwarového vybavení a doložení jeho shody s technickými požadavky nařízení vlády č. 56/2015 Sb. (popř. Směrnice Evropského parlamentu a Rady 98/79/ES).**

Illumina MiSeq, ThermoFisher Ion Torrent Genexus. Shodu s technickými požadavky dokládáme v Příloze č. 1 – prohlášení o shodě.

**13. Pokud SZÚ celogenomovou sekvenací viru SARS-CoV-2 neprovádí, ale nechává si ji zpracovat jinou laboratoří (resp. jinými laboratořemi), žádáme Vás o odpověď, která/é laboratoř/e to provádí a kdo je jejím/ich odborným garantem.**

NRL WGS provádí, některé vzorky jsou posílány do ECDC.

**14. Provedli jste izolaci celého genomu viru SARS-CoV-2 a jeho změření pomocí gelové elektroforézy nebo pomocí jiné přímé metody, která by doložila, že kompletní genom získaný celogenomovou sekvenací je možné detekovat i přímo bez použití bioinformatických metod? Pokud ano, žádáme o doložení materiálu, který by takové ověření celogenomového sekvenování prokázal, případně o odkaz na vědeckou publikaci, která by takový postup doložila.**

Ne. Celý genom pravidelně izolujeme, ale v současnosti obsolentní a nepřesnou metodu měření délky pomocí horizontální elektroforézy nepoužíváme. Tato metoda je vhodná pro krátké úseky DNA/případně RNA, nikoli pro celý genom viru.

**15. Dne 4.7. 2020 (tedy až po prvním sestavení genomu SARS-CoV-2) byla do genové banky přidána nová sekvence: „Homo sapiens RNA, 45S pre-ribosomal N4 (RNA45SN4), ribosomal RNA“ (GenBank: NR\_146117.1). Ověřili jste, zda tato lidská RNA, která byla dodatečně do GenBanky zařazena, nevykazuje shodu s některými úseky genomu SARS-CoV-2? Dle našeho ověření právě tato sekvence vykazuje 98,85% shodu s kontigem identifikovaným jako k141\_27232 v práci Fan Wu et al: A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. In: Nature 580.7803 (2020). DOI: 10.1038/s41586-020-2202-3, která stojí za prvními 3 kompletními sekvencemi genu SARS-CoV-2 v genové bance z ledna 2020: MN908947.1, MN908947.2 a MN908947.3. Pokud jste takové ověření provedli, žádáme Vás o písemné doložení tohoto prověření.**

Sekvence uveřejněná pod přístupovým kódem GenBank: NR\_146117 (Homo sapiens RNA, 45S pre-ribosomal N4 (RNA45SN4), ribosomal RNA“) odpovídá (GenBank: NR\_146117.1) odpovídá DNA úseku 28S ribosomal N4 (RNA28SN4) na chromosomu 22. Kratší úseky této sekvence vykazují i částečnou shodu s dalšími sekvencemi některých hominidů, např. Pan troglodytes.

Shodu u velmi krátkých úseků lze najít napříč širokým taxonomickým spektrem, po náhodném výběru 18 nukleotidů ze sekvence Homo sapiens RNA, 45S pre-ribosomal N4 (RNA45SN4), ribosomal RNA“ uveřejněné pod přístupovým kódem GenBank: NR\_146117.1, získáme částečnou shodu u mnoha taxonomicky velmi odlišných druhů, od Homo sapiens až po 100 % shodu s

Ochotona curzoniae MAPK activated protein kinase 2 (MAPKAPK2), v sekvenci uveřejněné pod přístupovým kódem XM\_040985571.

S pozdravem

STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV



Šrobárova 48

100 42 Praha 10

IČ 75010330, tel.: +420267082205

**MUDr. Barbora Macková**

ředitelka

Státní zdravotní ústav

---

# EU Declaration of Conformity

## Manufacturer

Name: Zybio Inc.  
Address: Floor 1 to Floor 5, Building 30, No. 6 of Taikang Road, Block C of Jianqiao Industrial Park, Dadukou District, 400082 Chongqing, PEOPLE'S REPUBLIC OF CHINA  
SRN: CN-MF-000003349

## Authorized Representative

Name: Lotus NL B.V.  
Address: Koningin Julianaplein 10, 1e Verd, 2595AA, The Hague, Netherlands.  
SRN: NL-AR-000000121

## Product Identification

Product Name: Nucleic Acid Isolation System  
Model: EXM3000, EXM3200  
REF: 02-14-01-0013-00, 02-14-01-0014-00  
Basic UDI-DI: 69732628600004ZE  
GMDN Code: 60528  
GMDN Term: Magnetic particle separation instrument IVD, automated  
EMDN Code: W020501  
Risk Class: Class A (according to rule <5b> Annex VIII of In vitro Diagnostic Medical Device Regulation)  
Intended Purpose: The Nucleic Acid Isolation System is an automated in vitro diagnostic instrument intended for isolation and purification of nucleic acids combining with extraction kit.

We declare that the above mentioned *in vitro* diagnostic medical device is in conformity with the following legislation(s) and carries the CE marking accordingly:

**Regulation (EU) 2017/746 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on *in vitro* diagnostic medical devices**

Conformity Route: Self-Declaration of Conformity

**Relevant Harmonized Standards:**

EN ISO 13485:2016	EN ISO15223-1:2021	EN ISO 18113-1:2011
EN ISO 18113-3:2011	EN 13612:2002	EN 62304:2006/A1:2015
IEC 61326-2-6:2012	EN ISO 14971:2019	EN 62366-1:2015
EN 61010-1:2010/A1:2019	EN 61010-2-010:2020	EN 61010-2-101:2017
IEC 61326-1:2012	EN 62471:2008	

All supporting documentation is retained under the control of Zybio Inc. and make available for review up on request.

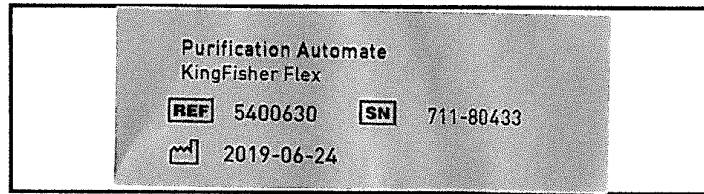
This declaration of conformity is issued under the sole responsibility of Zybio Inc.

This declaration supersedes any declaration issued previously for the same product.

Place	Chongqing, China
Signature	<i>Rui Shao</i>
Name	Rui Shao
Position	PRRC
Date of Issue	2022.4.13

thermoscientific

# Certificate of Conformance



Life Technologies Holdings Pte Ltd, hereby certify that the product being shipped with above reference number (REF) and serial number (SN) meets the following conditions:

1. Product has been tested and inspected in accordance with the quality system requirements of Life Technologies Holdings Pte Ltd.
2. The integrity of this quality system is routinely audited and certified as meeting all the applicable requirements of relevant ISO standard.

**ISO9001  
REGISTERED FACILITY**

For Research Use Only.  
Not for use in diagnostic procedures.



Life Technologies Holdings Pte Ltd  
Block 33 Marsiling Industrial Estate Road 3  
#07-06 Singapore 739256

RAHMAN  
18 JUL '19

**Quality Assurance**  
(Name, Signature & Date)







## PROHLÁŠENÍ O SHODĚ

Společnost Bio-Rad Laboratories, Inc. (1000 Alfred Nobel Drive, Hercules, Kalifornie 94547, Spojené Státy Americké) prohlašuje, že výrobek

**1845096**                    **CFX96™ Optical Reaction Module**  
**1845097**  
**1845384**                    **CFX384™ Optical Reaction Module**  
**1845385**

který je předmětem tohoto prohlášení, je ve shodě s následujícími normami a normativními dokumenty:

EN61326-1:2013, Třída A	IEC61326-1:2012
EN61326-2-6:2013	IEC61326-2-6:2012
EN61010-1:2010	IEC61010-1:2020
EN61010-2-010:2014	IEC61010-2-010:2014
EN61010-2-081:2015	IEC61010-2-081:2015
EN 50581:2012	

podle ustanovené směrnice 2014/30/EU, 2014/35/EU & 2011/65/EU.

**8. Března 2018**

Datum vydání

---

Soyini Wilson  
Manažer regulačních záležitostí



## PROHLÁŠENÍ O SHODĚ

Společnost Bio-Rad Laboratories, Inc. (1000 Alfred Nobel Drive, Hercules, Kalifornie 94547, Spojené Státy Americké) prohlašuje, že výrobek

**1841100**                      **C1000 Touch™ Thermal Cycler**

který je předmětem tohoto prohlášení, je ve shodě s následujícími normami a normativními dokumenty:

EN61326-1:2013, Třída A

EN61010-1:2010 (3. Edice)

IEC61326-1:2012, Třída A

IEC61010-1:2010 (3. Edice)

EN61010-2-081:2015 (2. Edice)

IEC61010-2-101:2015 (2. Edice)

IEC61010-2-081:2015 (2. Edice)

EN61010-2-010:2014 (3. Edice)

IEC61010-2-010:2014 (3. Edice)

EN50581:2012

podle ustanovené směrnice 2014/30/EU, 2014/35/EU & 2011/65/EU.

8. Března 2018

Datum vydání

---

Soyini Wilson

Manažer regulačních záležitostí



**BIO-RAD**

## DECLARATION OF CONFORMITY

Bio-Rad Laboratories, Inc. (1000 Alfred Nobel Drive, Hercules, California 94547, U.S.A.) declares that the product,

**1845096 CFX96™ Optical Reaction Module**

**1845097**

**1845384 CFX384™ Optical Reaction Module**

**1845385**

to which this declaration relates, is in conformity with the following standard(s) or normative document(s):

EN61326-1:2013 Class A

EN61326-2-6:2013

EN61010-1:2010

EN61010-2-010:2014

EN61010-2-081:2015

EN 50581:2012

IEC61326-1:2012

IEC61326-2-6:2012

IEC61010-1:2010

IEC61010-2-010:2014

IEC61010-2-081:2015

IEC61010-2-101:2015

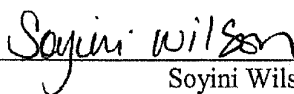
following the provisions of the

2014/30/EU, 2014/35/EU &  
2011/65/EU

directive(s).

08 March, 2018

Date of Issue



Soyini Wilson  
Regulatory Affairs Manager

D042847 Ver J (DC1845097)



**BIO-RAD**

## DECLARATION OF CONFORMITY

Bio-Rad Laboratories, Inc. (1000 Alfred Nobel Drive, Hercules, California 94547, U.S.A.) declares that the product,

**1841100 C1000 Touch™ Thermal Cycler**

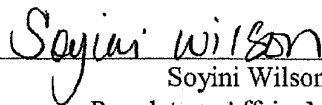
to which this declaration relates, is in conformity with the following standard(s) or normative document(s):

EN61326-1:2013, Class A  
IEC61326-1:2012, Class A  
EN61010-2-081:2015 (2nd Ed)  
IEC61010-2-081:2015 (2nd Ed)  
EN61010-2-010:2014 (3rd Ed)  
IEC61010-2-010:2014 (3rd Ed)  
EN50581:2012

EN61010-1:2010 (3rd Edition)  
IEC61010-1:2010 (3rd Edition)  
IEC61010-2-101:2015 (2<sup>nd</sup> Ed)

following the provisions of the 2014/30/EU, 2014/35/EU & 2011/65/EU directive(s).

08 March, 2018  
Date of Issue

  
Soyini Wilson

Regulatory Affairs Manager

D080281 Ver E (DC1841100P2)



## PROHLÁŠENÍ O SHODĚ

Společnost Bio-Rad Laboratories, Inc. (1000 Alfred Nobel Drive, Hercules, Kalifornie 94547, Spojené Státy Americké) prohlašuje, že výrobek

**12011319**                      **CFX Opus 96 Real-Time PCR Detection system**  
**12011319**                      **CFX Opus 384 Real-Time PCR Detection system**

který je předmětem tohoto prohlášení, je ve shodě s následujícími normami a normativními dokumenty:

EN61326-1:2013 Třída A	IEC61326-1:2012 Třída A
EN61010-1:2010	IEC61010-1:2010
EN61010-2-010:2014	IEC61010-2-010:2014
EN61010-2-081:2015	IEC61010-2-081:2015
EN 50581:2012	

podle ustanovené směrnice                      2014/30/EU, 2014/35/EU & 2011/65/EU.

25. Května 2020

Datum vydání

---

Patricia Gee  
Manažer regulačních záležitostí



**BIO-RAD**

**DECLARATION OF CONFORMITY**

Bio-Rad Laboratories, Inc. (1000 Alfred Nobel Drive, Hercules, California 94547, U.S.A.) declares that the product,

**12011319 CFX Opus 96 Real-Time PCR Detection System**  
**12011452 CFX Opus 384 Real-Time PCR Detection System**

to which this declaration relates, is in conformity with the following standard(s) or normative document(s):

EN61326-1:2013 Class A	IEC61326-1:2012 Class A
EN61010-1:2010	IEC61010-1:2010
EN61010-2-010:2014	IEC61010-2-010:2014
EN61010-2-081:2015	IEC61010-2-081:2015
EN 50581:2012	

following the provisions of the 2014/30/EU, 2014/35/EU & 2011/65/EU directives

25 May 2020  
Date of Issue

*Patricia Gee*  
\_\_\_\_\_  
Patricia Gee  
Regulatory Affairs Representative

DIR 10000129439 Ver A (12010845)

Bio-Rad is a trademark of Bio-Rad Laboratories, Inc. in certain jurisdictions.



