

REV AUTHORED BY S. LOWMAN	DATE 06/23/20	 	
REV DRAFTED BY S. LOWMAN	DATE 06/23/20		
PROPRIETARY: This document contains proprietary data of Hologic, Inc. No disclosure, reproduction or use of any part thereof may be made except by written permission from Hologic.	TITLE PI, CE-IVD, APTIMA SARS-COV-2 ASSAY, PANTHER SYSTEM DUTCH	DOCUMENT NUMBER AW-21491-1501	REV 002
REV. RELEASE DATE: 06/25/2020		SIZE A	SHEET 1 OF 1

Aptima™ SARS-CoV-2 assay (Panther™ systeem)

Voor *in-vitro* diagnostiek.

Uitsluitend voor export uit de VS

INHOUD

Algemene informatie	2
Beoogd gebruik	2
Samenvatting en uitleg van de test	2
Uitgangspunten van de procedure	3
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen	4
Eisen voor opslag en verwerking van reagentia	5
Afname en opslag van specimens	6
Vervoer van specimens	9
Panther systeem	10
Geleverde reagentia en materialen	10
Benodigde en apart geleverde materialen	11
Testprocedure voor het Panther systeem	12
Procedurele opmerkingen	15
Kwaliteitscontrole	16
Interpretatie van resultaten	17
Beperkingen	17
Prestaties Panther SARS-CoV-2 assay	18
Literatuur	23

Algemene informatie

Beoogd gebruik

De Aptima™ SARS-CoV-2 assay is een test voor *in-vitro*diagnostiek met amplificatie van nucleïnezuur voor de kwalitatieve detectie van RNA uit SARS-CoV-2 dat is geïsoleerd en gezuiverd uit nasofaryngeale (NP), nasale, middelste neusschelp- en orofaryngeale (OP) uitstrijkjes, nasofaryngeale spoeling/aspiraats of nasale aspiraten verkregen van personen die voldoen aan de klinische en/of epidemiologische criteria voor COVID-19.

De resultaten worden gebruikt voor het identificeren van RNA van SARS-CoV-2. Het RNA van SARS-CoV-2 kan doorgaans worden gedetecteerd in specimens van de bovenste luchtwegen tijdens de acute fase van infectie. Positieve resultaten zijn een indicatie van de aanwezigheid van RNA van SARS-CoV-2, klinische correlatie met de voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnose-informatie is nodig om de infectiestatus van de patiënt te bepalen. Positieve resultaten sluiten een bacteriële infectie of co-infectie met andere virussen niet uit.

Negatieve resultaten sluiten infecties met SARS-CoV-2 niet uit en mogen niet worden gebruikt als enige basis voor beslissingen over het patiëntbeheer. Negatieve resultaten moeten worden gecombineerd met klinische waarnemingen, voorgeschiedenis van de patiënt en epidemiologische informatie.

De Aptima SARS-CoV-2 assay voor het Panther™ en Panther Fusion™ systeem is bedoeld voor gebruik door klinisch laboratoriumpersoneel dat opgeleid is in de bediening van het Panther en Panther Fusion systeem en *in-vitro* diagnostische procedures.

Samenvatting en uitleg van de test

Coronavirussen zijn een grote familie van virussen die kunnen leiden tot ziekte bij dieren en mensen. Bij mensen veroorzaken verscheidene coronavirussen luchtweginfecties, die gaan van een gewone verkoudheid tot ernstigere aandoeningen zoals Middle East Respiratory Syndrome (MERS) en Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS). Het recent ontdekte coronavirus SARS-CoV-2 veroorzaakt de besmettelijke luchtwegaandoening COVID-19. Dit nieuwe virus en de aandoening waren nog onbekend voor de uitbraak in Wuhan (China) in december 2019.¹

De meest voorkomende symptomen van COVID-19 zijn koorts, vermoeidheid en een droge hoest. Sommige patiënten hebben spier-, keel- of hoofdpijn, neusverstopping, loopneus, verlies van geur of smaak of diarree. Deze symptomen zijn doorgaans mild en beginnen geleidelijk. Sommige personen raken besmet maar ontwikkelen geen symptomen en voelen zich ook niet ziek. De aandoening kan zich verspreiden via vochtdruppels wanneer een besmette persoon hoest of niest. Deze druppels kunnen in de mond of neus terechtkomen van mensen in de buurt of ingeademd worden in de longen.² De druppels kunnen ook landen op voorwerpen en oppervlakken rond de persoon. Andere personen kunnen SARS-CoV-2 opdoen door in contact te komen met deze voorwerpen of oppervlakken en vervolgens hun ogen, neus of mond aan te raken.

Het virus dat COVID-19 veroorzaakt, infecteert mensen en wordt eenvoudig overgedragen van mens op mens.³ Op 11 maart 2020 werd de COVID-19-uitbraak door de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) gekarakteriseerd als pandemie.^{4,5}

Uitgangspunten van de procedure

De Aptima SARS-CoV-2 assay combineert de technologieën van target capture, Transcription-Mediated Amplification (TMA) en Dual Kinetic assay (DKA).

Er worden specimens afgenomen; deze worden overgebracht naar de geschikte monstertransportbuisjes. De transportoplossingen in deze buisjes geeft de RNA target af en beschermt deze tegen degradatie tijdens opslag. Als de Aptima SARS-CoV-2 assay wordt uitgevoerd in het laboratorium, worden de RNA-doelmoleculen geïsoleerd van specimens door gebruik van capture-oligomeren via target capture die magnetische microdeeltjes gebruikt. De capture-oligomeren bevatten sequenties die complementair zijn aan specifieke gebieden van de targetmoleculen alsook een string van deoxyadenosineresten. Voor elke target wordt een afzonderlijke capture-oligomeer gebruikt. Tijdens de hybridisatiestap binden de sequentie-specifieke gebieden van de capture-oligomeren zich aan specifieke gebieden van de targetmoleculen. De capture-oligomeer targetcomplex wordt uit de oplossing geïsoleerd door de temperatuur van de reactie te verlagen tot kamertemperatuur. Deze temperatuursverlaging zorgt voor hybridisatie tussen het deoxyadenosinegebied op de capture-oligomeer en de poly-deoxythymidinemoleculen die covalent verbonden zijn met de magnetische deeltjes. De microdeeltjes, inclusief de daaraan gebonden capturetargetmoleculen, worden door middel van magneten naar de zijkant van het reactievat getrokken en de bovendrijvende vloeistof wordt afgezogen. De deeltjes worden gewassen om resten van de monstrematrix te verwijderen die amplificatiereactie-inhibitoren kunnen bevatten. Als de targetcapturestappen zijn voltooid, zijn de specimens klaar voor amplificatie.

Targetamplificatieassays zijn gebaseerd op de mogelijkheid van complementaire oligonucleotideprimers om specifiek te binden en te zorgen voor enzymatische amplificatie van de targetnucleïnezuurstrengen. De Aptima SARS-CoV-2 assay repliceert specifieke regio's van de RNA van SARS-CoV-2 virus. Detectie van de RNA-amplificatieproductsequenties (amplicon) wordt bereikt door middel van nucleïnezuurhybridisatie. Chemiluminescerende nucleïnezuurprobes met enkele streng, die uniek en complementair zijn voor een gebied van elke targetamplicon en interne controle (IC) amplicon, zijn gelabeld met verschillende acridinium ester (AE) moleculen. De probes gelabeld met AE worden gecombineerd met amplicon om stabiele hybriden te vormen. Het selectiereagens onderscheidt gehybridiseerde van niet-gehybridiseerde probes, waardoor geen signalen worden gegenereerd door niet-gehybridiseerde probes. Tijdens de detectiestap wordt uitgestraald licht van de gelabelde hybriden gemeten als fotonsignalen in een luminometer en uitgedrukt in relatieve lichteenheden (RLU). Bij DKA maken verschillen in de kinetische profielen van de gelabelde probes het mogelijk het signaal te onderscheiden; kinetische profielen worden afgeleid van metingen van de foton-output tijdens de detectieafleestijd. De chemiluminescerende detectiereactie voor het IC-signaal heeft een zeer snelle kinetiek en wordt een kinetisch 'flasher'-type genoemd. De chemiluminescerende detectiereactie voor het SARS-CoV-2-signaal heeft een relatief tragere kinetiek en wordt een kinetisch 'glower'-type genoemd. Assayresultaten worden bepaald door een cut-off op basis van de totale RLU en het kinetische curvetype.

De Aptima SARS-CoV-2 assay amplificeert en detecteert twee geconserveerde gebieden van het ORF1ab-gen in dezelfde reactie, met behulp van hetzelfde 'glower' kinetische type. De twee gebieden worden niet onderscheiden en de amplificatie van één of beide gebieden leidt tot RLU-sigitaal. De assayresultaten worden bepaald door een cut-off op basis van de totale RLU en het kinetische curvetype.

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

- A. Voor *in-vitro*diagnostiek. Lees zorgvuldig deze volledige bijsluiter en de *Gebruikershandleiding bij het Panther/Panther Fusion systeem*.
- B. Alleen personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van deze assay en in het omgaan met potentieel besmettelijk materiaal, mag deze procedures uitvoeren. Als er materiaal is gemorst, desinfecteer dan onmiddellijk volgens de toepasselijke procedures binnen de instelling.
- C. Hanteer alle specimens alsof ze besmettelijk zijn, met behulp van veilige laboratoriumprocedures. Raadpleeg de Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with 2019-nCoV. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>.
- D. De specimens kunnen besmettelijk zijn. Gebruik universele voorzorgsmaatregelen bij het uitvoeren van deze assay. Het management van het laboratorium moet de juiste hanterings- en verwijderingsmethoden vaststellen. Alleen personeel dat afdoende is getraind in het verwerken van besmettelijke materialen, mag worden toegestaan om deze diagnostische procedure uit te voeren.⁶
- E. Indien het vermoeden van infectie met SARS-CoV-2 bestaat op basis van actuele klinische screeningcriteria aanbevolen door de volksgezondheidsinstanties, moeten de specimens worden afgenomen met de passende voorzorgsmaatregelen voor infectiebeheersing.
- F. Gebruik alleen de meegeleverde of aangegeven wegwerpartikelen voor in het laboratorium.
- G. Draag geschikte persoonlijke beschermingsmiddelen wanneer u specimens afneemt en hanteert van personen waarvan wordt vermoed dat ze besmet zijn met SARS-CoV-2, zoals beschreven in de CDC Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV).
- H. Draag poederloze wegwerphandschoenen, oogbescherming en labjassen tijdens het verwerken van specimens en reagentia. Was de handen grondig na het verwerken van specimens en reagentia.
- I. Werp alle materialen weg die in contact zijn geweest met specimens en reagentia in overeenstemming met de toepasselijke nationale, internationale en regionale regelgeving.
- J. De vervaldata vermeld op de Panther Fusion Specimen Lysis Tubes, Hologic Specimen Lysis Tubes, de Aptima Multitest Collection Kit, de Ap Unisex Specimen Collection Kit en de Aptima Specimen Transfer Kit hebben betrekking op de overdracht van een monster in het buisje en niet op het testen van het monster. Specimens die worden verzameld/overgebracht voorafgaand aan deze vervaldata zijn geldig voor tests op voorwaarde dat zij zijn getransporteerd en opgeslagen in overeenstemming met de juiste bijsluiter, zelfs als deze vervaldata zijn verstreken.
- K. Zorg dat de specimens worden verzonden onder de juiste opslagomstandigheden om hun integriteit te waarborgen. De stabiliteit van de specimens in andere dan de aanbevolen verzendingsomstandigheden is niet geëvalueerd.
- L. Voorkom kruisbesmetting tijdens de stappen waarin de specimens worden verwerkt. Specimens kunnen een extreem hoog niveau aan virussen of andere organismen bevatten.

Zorg ervoor dat specimenhouders niet met elkaar in contact komen en voer gebruikt materiaal niet af boven open houders. Vervang uw handschoenen als deze met een specimen in contact komen.

- M. Gebruik de reagentia en controles niet na de vervaldatum.
- N. Sla de assaycomponenten op volgens de aanbevolen bewaarcondities. Zie *Eisen voor opslag en verwerking van reagentia* (pagina 5) en *Testprocedure voor het Panther systeem* (pagina 12) voor meer informatie.
- O. Er mogen geen assayreagentia of vloeistoffen worden gecombineerd. Flessen voor reagentia of vloeistoffen mogen niet helemaal worden gevuld. Het Panther systeem controleert het niveau van de reagentia.
- P. Voorkom microbiële en ribonuclease verontreiniging van de reagentia.
- Q. Gebruik geen materiaal dat mogelijk guanidiumthiocyanaat bevat of enige andere guanidine bevattende materialen op het instrument. Er kunnen zich zeer reactieve en/of toxische verbindingen vormen indien gecombineerd met natriumhypochloriet.
- R. Een reagens in deze kit is geëtiketteerd met risico- en veiligheidssymbolen.

Opmerking: Gevarencommunicatie geeft de classificatie van de EU-veiligheidsgegevensbladen (SDS) weer. Raadpleeg het regio-specifieke veiligheidsinformatieblad (SDS) in de bibliotheek met veiligheidsinformatiebladen op www.hologicds.com voor informatie over specifieke gevarencommunicatie voor uw regio.

	Selectiereagens BOORZUUR 1-5% WAARSCHUWING H315 - Veroorzaakt huidirritatie.
---	--

Eisen voor opslag en verwerking van reagentia

- A. De volgende reagens zijn stabiel als ze worden bewaard bij 2 °C tot 8 °C (gekoeld):
 - Aptima SARS-CoV-2 amplificatiereagens
 - Aptima SARS-CoV-2 enzymreagens
 - Aptima SARS-CoV-2 probereagens
 - Aptima SARS-CoV-2 Interne controle
 - Aptima SARS-CoV-2 positieve controle
 - Aptima SARS-CoV-2 negatieve controle
- B. De volgende reagentia zijn stabiel als ze worden bewaard bij 2 °C tot 30 °C:
 - Aptima SARS-CoV-2 amplificatiereconstitutieoplossing
 - Aptima SARS-CoV-2 enzymreconstitutieoplossing
 - Aptima SARS-CoV-2 probereconstitutieoplossing
 - Aptima SARS-CoV-2 selectiereagens

- C. De volgende reagentia zijn stabiel als ze worden bewaard bij 15 °C tot 30 °C (kamertemperatuur):
Aptima SARS-CoV-2 Target Capture Reagent
Aptima wasoplossing
Aptima buffer voor deactiveringsvloeistof
Aptima oliereagens
- D. Working Target Capture Reagent (wTCR) is stabiel gedurende 30 dagen bij 15 °C tot 30 °C. Niet koelen.
- E. Na reconstitutie zijn het enzymreagens, het amplificatiereagens en het probereagens stabiel gedurende 30 dagen indien bewaard bij 2 °C tot 8 °C.
- F. Gooi ongebruikte gereconstitueerde reagentia en wTCR na 30 dagen weg of, indien eerder, na de uiterste houdbaarheidsdatum van de hoofdpartij.
- G. Controlemiddelen zijn stabiel tot de datum die op de flacons staat aangegeven.
- H. Reagentia in het Panther systeem blijven 72 uur stabiel.
- I. Het probereagens en het gereconstitueerde probereagens zijn lichtgevoelig. Bewaar de reagentia op een donkere plaats. De gespecificeerde gereconstitueerde stabiliteit is gebaseerd op een blootstelling van het gereconstitueerde probereagens aan twee fluorescerende lampen van 60 W gedurende 12 uur, op een afstand van 43 cm en bij een temperatuur lager dan 30 °C. Blootstelling aan licht van het gereconstitueerde probereagens moet overeenkomstig beperkt worden.
- J. Bij opwarming tot kamertemperatuur kunnen een aantal controlebuisjes troebel lijken of precipitaat bevatten. Troebelheid of precipitatie gekoppeld aan controles heeft geen invloed op de prestaties van de controles. De controles kunnen gebruikt worden ongeacht of ze helder of troebel zijn, of precipitaat bevatten. Indien heldere controles gewenst zijn, kan solubilisatie worden versneld door ze te incuberen aan de bovengrens van het bereik van de kamertemperatuur (15 °C tot 30 °C).
- K. De reagentia mogen niet worden ingevroren.**

Afname en opslag van specimens

Specimens - Klinisch materiaal afgenomen bij een patiënt geplaatst in een geschikt transportsysteem. Voor de Aptima SARS-CoV-2 assay omvat dit NP-, nasale, middelste neusschelp- en OP-uitstrijkjes, of specimens van nasofaryngeale spoeling/aspiraats en nasale aspiraats in viraal transportmedium (VTM/UTM), zoutoplossing, vloeibare Amies of monstertransportmiddel (STM).

Monsters - Een algemenere term om elk materiaal voor testen op het Panther systeem te beschrijven, waaronder specimens, en specimens die worden geplaatst in de Panther Fusion Specimen Lysis Tube en controles.

Opmerking: *Behandel alle specimens alsof ze potentieel besmettelijke stoffen bevatten. Pas universele voorzorgsmaatregelen toe.*

Opmerking: *Voorkom kruisbesmetting tijdens de stappen waarin de specimens worden verwerkt. Voer gebruikt materiaal bijvoorbeeld niet over open buizen af.*

Afnemen van de specimens

Verzamel de specimens van nasale, NP- en OP-uitstrijkjes volgens de standaard techniek met behulp van een polyester-, rayon- of nylonwattenstaafje. Plaats het specimen van het uitstrijkje onmiddellijk in 3 ml VTM of UTM. Specimens van uitstrijkjes kunnen ook geplaatst worden in zoutoplossing, vloeibare Amies of STM. De Aptima-multitestmonsterafnamekit kan gebruikt worden voor het afnemen van nasale en OP-uitstrijkjes.

Na afname kunnen specimens verzameld in VTM/UTM worden opgeslagen bij 2 °C tot 8 °C tot maximaal 96 uur voordat ze worden overgebracht naar de Specimen Lysis Tube of transportbuisjes zoals beschreven in het hoofdstuk over verwerking hieronder. De resterende specimenvolumes kunnen worden bewaard bij ≤-70 °C.

Na verzameling kunnen specimens in de Aptima Multitest Tube tot 6 dagen worden bewaard bij 2 °C tot 30 °C.

Opmerking: *Het wordt aangeraden om het specimen dat is overgebracht naar de Aptima Multitest Tube afgesloten en rechtop in een rek te bewaren.*

De volgende soorten VTM/UTM kunnen worden gebruikt.

- Remel MicroTest M4-, M4RT-, M5- of M6-samenstellingen
- Copan universeel transportmedium
- BD universeel transportmedium

Opmerking: *Gebruik geen middel dat mogelijk guanidiumthiocynaat bevat of enige andere guanidine bevattende materialen.*

Verzameling van specimens van nasofaryngeale spoeling/aspiraats en nasale aspiraats

Verzamel de specimens van nasofaryngeale spoeling/aspiraats en nasale aspiraats volgens standaardtechnieken.

Verwerking van specimens met de Panther Fusion Specimen Lysis Tube

- A. Voorafgaand aan het testen op het Panther systeem, brengt u 500 µl van het verzamelde specimen* over naar een Panther Fusion Specimen Lysis Tube.

***Opmerking:** *Laat bij het testen van ingevroren specimens, de specimens voorafgaand aan de verwerking op kamertemperatuur komen.*

Opmerking: *Bij gebruik van de Aptima SARS-CoV-2 assaysoftware voor buisjes zonder dop, bereidt u de Panther Fusion Specimen Lysis Tube voor zoals hieronder beschreven in Verwerken van specimens met de Hologic Specimen Lysis Tube met vaste dop.*

Verwerking van specimens met de Hologic Specimen Lysis Tube met vaste dop

- A. Verwijder de dop van de Specimen Lysis Tube en bewaar deze.
- B. Voorafgaand aan het testen op het Panther systeem, brengt u 500 µl van het specimen over naar de Hologic Specimen Lysis Tube
- C. Het wordt aanbevolen de dop terug te plaatsen op het buisje en het drie keer voorzichtig te kantelen om virale inactivatie en homogene menging te verzekeren.
- D. Om contact met de bovenzijde van het buisje te voorkomen, draait u de dop los en plaatst u het buisje in het monsterrek.

- E. Verwijder de dop en bewaar hem. Inspecteer het monsterbuisje. Als er luchtbellens aanwezig zijn, haalt u deze voorzichtig uit het monsterbuisje (bijvoorbeeld, gebruik het uiteinde van een steriel wattenstaafje of een vergelijkbare methode).
- F. Plaats het deksel op het monsterrek en laat het rek in het instrument.

Opmerking: *Verwerking van specimens met de Hologic Specimen Lysis Tube is alleen voor gebruik met de Aptima SARS-CoV-2 assaysoftware voor buisjes zonder dop.*

Verwerking van specimens met een aangepaste Specimen Lysis Tube

- A. Gebruik een steriel of niet-steriel buisje voor algemeen gebruik van gesiliconiseerd glas, polypropyleen plastic of vergelijkbaar materiaal met een buitendiameter van 12 tot 13 mm en een hoogte van 75 tot 100 mm, en breng 0,78 ml ± 0,07 ml bulk STM aan in het buisje met een pipet of repeteerpipet.

Opmerking: *Als de buisjes zijn voorbereid voorafgaand aan gebruik, moet de dop worden teruggeplaatst en opgeslagen bij 15 °C tot 30 °C tot ze worden gebruikt voor specimenverwerking.*

- B. Verwijder de dop van de Specimen Lysis Tube met STM en bewaar deze.
- C. Voorafgaand aan het testen op het Panther systeem, brengt u 500 µl van het specimen over naar de aangepaste Specimen Lysis Tube met STM.
- D. Het wordt aanbevolen de dop terug te plaatsen op het monsterbuisje en deze drie keer voorzichtig te kantelen om virale inactivatie en homogene menging te verzekeren.
- E. Om contact met de bovenzijde van het buisje te voorkomen, draait u de dop los en plaatst u het buisje in het monsterrek.
- F. Verwijder de dop en bewaar hem. Inspecteer het monsterbuisje. Als er luchtbellens aanwezig zijn, haalt u deze voorzichtig uit het buisje (bijvoorbeeld, gebruik het uiteinde van een steriel wattenstaafje of een vergelijkbare methode).
- G. Plaats het deksel op het monsterrek en laat het rek in het instrument.

Opmerking: *Verwerking van specimens met de aangepaste Specimen Lysis Tube is alleen voor gebruik met de Aptima SARS-CoV-2 assaysoftware voor buisjes zonder dop.*

Verwerking van specimens met de Aptima Specimen Transfer Tube

- A. Voorafgaand aan het testen op het Panther systeem, brengt u 1 ml van het verzamelde specimen* over naar een Aptima Specimen Transfer Tube**.

***Opmerking:** *Laat bij het testen van ingevroren specimens, de specimens voorafgaand aan de verwerking op kamertemperatuur komen.*

****Opmerking:** *Als alternatief kan ook een ongebruikte Aptima Multitest Tube of Aptima Unisex Tube worden gebruikt.*

- B. Draai de Aptima Specimen Transfer Tube stevig vast.
- C. Keer de buis 2 tot 3 keer om het volledige mengsel van het monster te verzekeren.

Opmerking: *De Aptima Specimen Transfer Tube kan niet getest worden op een systeem dat de Aptima SARS-CoV-2 assaysoftware voor buisjes zonder dop gebruikt.*

Verwerking van specimens verzameld met de Aptima Multitest Collection Kit

- A. Nadat het verzamelde specimens* in de Aptima Multitest Tube is geplaatst met behulp van de Aptima Multitest Collection Kit, is geen verdere verwerking vereist.

***Opmerking:** Laat bij het testen van ingevroren specimens, de specimens voorafgaand aan de verwerking op kamertemperatuur komen.

Opmerking: Op een systeem dat de Aptima SARS-CoV-2 assaysoftware voor buisjes zonder dop gebruikt, moet het verzamelde specimens overgebracht worden van de Aptima Multitest Tube naar een Hologic Specimen Lysis Tube of aangepaste Specimen Lysis Tube zoals beschreven in de hoofdstukken over verwerking hierboven.

Opslag van monsters

- A. Monsters in het Panther systeem kunnen voor aanvullend testen op een later tijdstip worden gearhiveerd.

- B. Opslag van monsters voor of na het testen

1. Monsters in de Aptima Multitest Tube, Aptima Specimen Lysis of Specimen Lysis Tube moeten rechtop in het rek en onder de volgende omstandigheden bewaard worden:
 - 2 °C tot 30 °C, maximaal 6 dagen
2. De monsters moeten worden afgedekt met een nieuwe, schone plasticfolie of foliebarrière.
3. Als geteste monsters ingevroren of vervoerd moeten worden, moet de doorprikbare dop worden verwijderd en moet een nieuwe niet-doorprikbare dop op de specimenuizen worden geplaatst. Als monsters moeten worden vervoerd voor tests op een andere locatie, dan moeten de aanbevolen temperaturen worden gehandhaafd. Voordat de doppen van de monstertransportbuizen worden verwijderd, moeten de buizen gedurende 5 minuten bij 420 RCF (relatieve centrifugale kracht) worden gecentrifugeerd om alle vloeistoffen naar de bodem van de buis te brengen. Vermijd opspatten en kruisbesmetting.

Opmerking: De Fisherbrand™ VersaClosure™ tubeafdekking mag niet gebruikt worden om tubes af te dekken tegen bevriezing of bij transport.

Vervoer van specimens

Handhaaf de voorwaarden voor de opslag van specimens zoals beschreven in het hoofdstuk *Afname en opslag van specimens* op pagina 6.

Opmerking: Specimens moeten worden vervoerd volgens de toepasselijke nationale, internationale en regionale regelgeving voor transport.

Panther systeem

Hieronder staan reagentia voor de Aptima SARS-CoV-2 assay voor het Panther systeem vermeld. Naast de naam van het reagens worden tevens de identificatiesymbolen weergegeven.

Geleverde reagentia en materialen

Aptima SARS-CoV-2 assaykit PRD-06419

250 tests (2 dozen)

Aptima SARS-CoV-2 gekoelde doos (doos 1 van 2)
(bewaren op 2 °C tot 8 °C na ontvangst)

Symbol	Component	Hoeveelheid 250 testsets
A	Aptima SARS-CoV-2 amplificatiereagens <i>Niet-besmettelijke nucleïnezuren gedroogd in gebufferde oplossing < 5% opvulmiddel.</i>	1 flacon
E	Aptima SARS-CoV-2 enzymreagens <i>Reverse-transcriptase en RNA-polymerase gedroogd in met HEPES gebufferde oplossing met < 10% opvulmiddel.</i>	1 flacon
P	Aptima SARS-CoV-2 probereagens <i>Niet-besmettelijke chemiluminescente DNA-probes gedroogd in met succinaat gebufferde oplossing met < 5% detergent.</i>	1 flacon
IC	Aptima SARS-CoV-2 Interne controle	1 flacon

Aptima SARS-CoV-2 doos op kamertemperatuur (doos 2 van 2)
(bewaren op 15 °C tot 30 °C na ontvangst)

Symbol	Component	Hoeveelheid 250 testsets
AR	Aptima SARS-CoV-2 amplificatiereconstitutieoplossing <i>Waterige oplossing met conserveringsmiddelen.</i>	1 x 27,7 ml
ER	Aptima SARS-CoV-2 enzymreconstitutieoplossing <i>Met HEPES gebufferde oplossing met een surfactans en glycerol.</i>	1 x 11,1 ml
PR	Aptima SARS-CoV-2 probereconstitutieoplossing <i>Met succinaat gebufferde oplossing met < 5% detergent.</i>	1 x 35,4 ml
S	Aptima SARS-CoV-2 selectiereagens <i>600 mM in boraat gebufferde oplossing met surfactans.</i>	1 x 108 ml
TCR	Aptima SARS-CoV-2 Target Capture Reagent <i>Gebufferde zoutoplossing met vaste en capture-oligomeren.</i>	1 x 54 ml
	Reconstitutiekragen	3
	Streepjescodeblad hoofdpartij	1 blad

Benodigde en apart geleverde materialen

Opmerking: Voor materialen die bij Hologic verkrijgbaar zijn, is het catalogusnummer vermeld, tenzij ze op andere wijze zijn gespecificeerd.

	<u>Cat. nr.</u>
Panther systeem	303095
Aptima Assay Fluids Kit (vloeistoffenpakket voor de Aptima assay) <i>(bevat Aptima-wasoplossing, Aptima-buffer voor deactiveringsvloeistof en Aptima-oliereagens)</i>	303014 (1000 tests)
Aptima auto detect kit	303013 (1000 tests)
Uit meerdere buisjes bestaande eenheden (MTU's)	104772-02
Panther-afvalzakpakket	902731
Panther-afvalbakdeksel	504405
Of Panther-runkit <i>bevat MTU's, afvalzakken, afvalbakdeksels, assayvloeistof en auto detect</i>	303096 (5000 tests)
Tips, 1000 µl, geleidend, vloeistofdetectie	10612513 (Tecan)
Aptima SARS-CoV-2 controlekit <i>PC - Aptima SARS-CoV-2 positieve controle. Niet-besmettelijke nucleïneazuren in gebufferde oplossing < 5% detergent. Hoeveelheid 5 x 1,7 ml</i> <i>NC - Aptima SARS-CoV-2 negatieve controle. Een gebufferde oplossing met < 5% detergent. Hoeveelheid 5 x 1,7 ml</i>	PRD-06420
Aptima-multitestmonsterafnamekit	PRD-03546
Aptima Specimen Transfer Kit (transportkit)	301154C
Aptima Specimen Transfer Kit – afdrukbaar	PRD-05110
Aptima unisex monsterafnamekit voor endocervicale en mannelijke urethrale monsters	301041
Panther Fusion Specimen Lysis Tubes, 100 per zak <i>tube bevat 0,71 ml STM met een doorprikbare dop</i>	PRD-04339
Hologic Specimen Lysis Tube, 100 stuks <i>tube bevat 0,71 ml STM met een vaste dop</i>	PRD-06554
Hologic Specimen Lysis Tube, 1200 stuks <i>tube bevat 0,71 ml STM met een vaste dop</i>	PRD-06660
Specimentransportmiddel, 1 fles, 80 ml	PRD-04423
Specimentransportmiddel, 1 fles, 120 ml	PRD-06657
Bleekmiddel, 5% tot 7% (0,7 M tot 1,0 M) natriumhypochlorietoplossing	–
Wegwerphandschoenen	–
Vervangende niet-doorprikbare doppen	504415
Fisherbrand VersaClosure buisafdekkingen*, 1000 per pak <i>*Een buisafdekking voor eenmalig gebruik voor de Hologic Specimen Lysis Tube (alleen PRD-06554) na testen</i>	02-707

	<u>Cat. nr.</u>
Vervangende doppen voor de 250 testsets	–
<i>Reconstitutieoplossingen voor amplificatie- en probereagens</i>	<i>CL0041 (100 doppen)</i>
<i>Reconstitutieoplossing voor enzymreagens</i>	<i>501616 (100 doppen)</i>
<i>TCR en selectiereagens</i>	<i>CL0040 (100 doppen)</i>

Optionele materialen

	<u>Cat. nr.</u>
Hologic Bleach Enhancer for Cleaning	302101
<i>voor routinematige reiniging van oppervlakken en apparatuur</i>	
Schudmachine	–

Testprocedure voor het Panther systeem

Opmerking: Raadpleeg de gebruikershandleiding van het Panther/Panther systeem voor aanvullende informatie over procedures.

A. Voorbereiding werkgebied

Reinig de werkoppervlakken waar reagentia en monsters worden bereid. Veeg de werkoppervlakken af met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing. Laat de natriumhypochlorietoplossing ten minste 1 minuut intrekken en spoel de werkoppervlakken vervolgens af met water. De natriumhypochlorietoplossing mag niet opdrogen. Bedek het bankoppervlak waarop de reagentia en monsters worden bereid met schone, plastic-houdende absorberende laboratorium bankhoezen.

B. Reconstitutie van de reagens/bereiding van een nieuwe kit

Opmerking: Reagentia moeten voorafgaand aan gebruik met het Panther systeem worden gereconstitueerd.

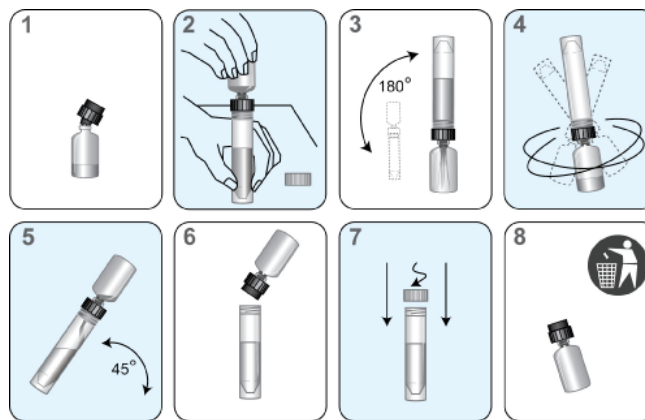
1. Om amplificatie-, enzym- en probereagentia te reconstitueren, mengt u de flessen gevriesdroogde reagens met de reconstitutieoplossing. Als de reconstitutieoplossingen in de koelkast zijn bewaard, moeten ze vóór gebruik op kamertemperatuur komen.
 - a. Voeg elke reconstitutieoplossing toe aan het bijbehorende gevriesdroogde reagens. Controleer of de reconstitutieoplossing en het reagens dezelfde labelkleuren hebben voordat de reconstitutiekraag wordt bevestigd.
 - b. Controleer de lotnummers op het streepjescodeblad van de hoofdpartij om u ervan te verzekeren dat de juiste reagentia met elkaar worden gecombineerd.
 - c. Open de gevriesdroogde reagensflacon en steek het ingekeepte einde van de reconstitutiekraag in de flaconopening (afbeelding 1, stap 1).
 - d. Open de bijbehorende reconstitutieoplossing en leg de dop op een schoon, afgedekt werkoppervlak.
 - e. Terwijl u de reconstructie-oplossingfles op de bank houdt, steekt u de andere kant van de reconstructiekraag in de flesopening (afbeelding 1, stap 2).

- f. Keer langzaam de verzamelde flessen. Laat de oplossing uit de fles afvloeien in de glazen flacon (afbeelding 1, stap 3).
- g. Meng de oplossing grondig in het glazen flesje door het rond te draaien (Afbeelding 1, stap 4).
- h. Wacht tot het gevriesdroogde reagens in oplossing gaat, keer de verzamelde flessen opnieuw en kantel ze naar een hoek van 45° om schuimen te minimaliseren (afbeelding 1, stap 5). Laat alle vloeistof terugvloeien in de plastic fles.
- i. Verwijder de reconstitutiekraag en de glazen flacon (Afbeelding 1, Stap 6).
- j. Zet de dop weer op de fles. Noteer de initialen van de gebruiker en de datum van reconstitutie op het label (afbeelding 1, stap 7).
- k. Gooi de reconstitutiekraag en het glazen flesje weg (afbeelding 1, stap 8).

Optie: De amplificatie-, enzym- of probereagentia mogen extra gemengd worden met een schudmachine. De reagentia kunnen gemengd worden door de plastic fles met dop op een schudmachine te plaatsen die is ingesteld op 20 RPM (of vergelijkbaar) voor minimaal 5 minuten.

Waarschuwing: Voorkom schuimvorming bij reconstitutie van reagentia. Schuim verstoort detectie van het vloeistofpeil in het Panther systeem.

Waarschuwing: Goed mengen van de reagentia is noodzakelijk om verwachte assayresultaten te verkrijgen.



Afbeelding 1. Reconstitutieproces Panther systeem

2. Voorbereiding Working Target Capture Reagent (wTCR)
 - a. Combineer de juiste flessen met TCR en IC.
 - b. Controleer de reagensslotnummers op het streepjescodeblad van de hoofdpartij om u ervan te verzekeren dat de juiste reagentia met elkaar worden gecombineerd in de kit.
 - c. Open de fles met TCR en leg de dop op een schoon, afgedekt werkoppervlak.
 - d. Open de fles met intern controlereagens en giet de hele inhoud in de fles met TCR. Er zal een kleine hoeveelheid vloeistof overblijven in de fles met interne controlereagens.
 - e. Plaats de dop op de fles met TCR en draai de oplossing voorzichtig rond om de inhoud te mengen. Vermijd schuimvorming tijdens deze stap.

- f. Noteer de initialen van de gebruiker en de actuele datum op het label.
 - g. Gooi de IC-fles en de dop weg.
3. Selectiereagens bereiden
- a. Controleer of het partijnummer op de reagensfles overeenkomt met het partijnummer op het streepjescodeblad van de hoofdpartij.
 - b. Noteer de initialen van de gebruiker en de actuele datum op het label.

Opmerking: *Meng grondig door alle reagentia voorzichtig om te keren voordat u het op het systeem plaatst. Vermijd schuimvorming tijdens het omkeren van reagentia.*

C. Bereiding van reagentia voor eerder gereconstitueerde reagentia

1. Eerder gereconstitueerde amplificatie-, enzym- en probereagentia moeten op kamertemperatuur (15 °C tot 30 °C) worden gebracht voorafgaand aan de aanvang van de assay.

Optie: De reagentia kunnen op kamertemperatuur gebracht worden door de gereconstitueerde amplificatie-, enzym- en probereagentia op een schudmachine te plaatsen die is ingesteld op 20 RPM (of vergelijkbaar) voor minimaal 25 minuten.

2. Als gereconstitueerde probereagens precipitaat bevat die niet terugkeert naar oplossing op kamertemperatuur, verwarm de fles met dop dan gedurende 1 tot 2 minuten bij een temperatuur die niet hoger is dan 62 °C. Na deze verwarmingsstap kan het probereagens worden gebruikt zelfs als er precipitaat achterblijft. Meng probereagentia door om te keren voorafgaand aan plaatsing op het systeem, zorg er hierbij voor dat er geen schuimvorming optreedt.
3. Meng grondig alle reagentia voorzichtig door omkering, voordat u het op het systeem plaatst. Vermijd schuimvorming tijdens het omkeren van reagentia. Deze stap is niet vereist als reagentia direct na mengen met de schudmachine op het systeem worden geplaatst.
4. Flessen met reagentia mogen niet helemaal worden gevuld. Het Panther systeem herkent flessen die te vol zijn gemaakt en verwerpt deze.
5. *Goed mengen van de reagentia is noodzakelijk om verwachte assayresultaten te verkrijgen.*

D. Verwerking van specimens met de Panther Fusion Specimen Lysis Tube of Aptima Specimen Transfer Tube.

Opmerking: *Prepareer de specimens volgens de instructies voor Verwerking van specimens in het hoofdstuk Afname en opslag van specimens voordat u de specimens op het Panther systeem plaatst.*

1. Inspecteer monsterbuizen voordat u deze in het monsterrek plaatst. Indien een monsterbuis bellen bevat of een lager volume dan normaal gesproken waargenomen wordt, tik dan voorzichtig op de onderkant van de buis om de inhoud naar de bodem te brengen.

Opmerking: *Voor monsters overgebracht naar de Panther Fusion Specimen Lysis Tube of Aptima Specimen Transfer Tube dient een geschikt specimenvolume te worden toegevoegd aan de buis om een verwerkingsfout te vermijden. Wanneer een geschikt afgenomen specimen wordt toegevoegd aan de buis, is er voldoende volume om 3 nucleïnezuurextracties uit te voeren.*

E. Verwerking van specimens met de Hologic Specimen Lysis Tube of aangepaste Specimen Lysis Tube

1. Prepareer de specimens volgens de instructies voor Verwerking van specimens in het hoofdstuk Afname en opslag van specimens.

Opmerking: Voor monsters overgebracht naar de Hologic Specimen Lysis Tube of een aangepaste Specimen Lysis Tube, dient een geschikt specimenvolume te worden toegevoegd aan de buis om een verwerkingsfout te vermijden. Wanneer een geschikt afgenomen specimen wordt toegevoegd aan de buis, is er voldoende volume om 2 nucleïnezuurextracties uit te voeren

Opmerking: Bij gebruik van de Aptima SARS-CoV-2 assaysoftware voor buizen zonder dop, moet de dop verwijderd worden van de positieve en negatieve controle voor ze in het Panther systeem geladen worden.

F. Voorbereiding van het systeem

1. Stel het systeem in volgens de instructies in de *gebruikershandleiding bij het Panther/ Panther systeem* en *Procedurele opmerkingen*. Zorg ervoor dat u reagensrekken en TCR-adapters van het juiste formaat gebruikt.
2. Monsters laden

Procedurele opmerkingen

A. Controles

1. Om de Aptima assaysoftware voor het Panther systeem goed te gebruiken, is één paar controles vereist. De Aptima SARS-CoV-2 positieve en negatieve controlebuizen kunnen in elke rekpositie en in elke rij van het monstercompartiment op het Panther systeem worden geplaatst. Patiëntmonsters worden gepipetteerd wanneer aan een van de volgende twee voorwaarden is voldaan:
 - a. Een paar controles wordt momenteel verwerkt door het systeem.
 - b. Geldige resultaten voor de controles worden in het systeem geregistreerd.
2. Wanneer de controlebuizen zijn gepipetteerd en voor een specifieke reagenskit worden verwerkt, kunnen patiëntmonsters tot maximaal 24 uur met de bijbehorende kit worden getest, behalve in de volgende gevallen:
 - a. Controleresultaten zijn niet geldig.
 - b. de bijbehorende assay-reagenskit is uit het systeem verwijderd.
 - c. De bijbehorende assay-reagenskit heeft de stabiliteitsgrenzen overschreden.
3. Elk Aptima-controlebuisje kan slechts één keer worden getest. Als vaker dan één keer wordt geprobeerd uit de monsterbuis te pipetteren, dan kan dit leiden tot verwerkingsfouten.
4. Specimens van patiënten kunnen worden gepipetteerd wanneer aan een van de volgende twee voorwaarden is voldaan:
 - a. Geldige resultaten voor de controles worden in het systeem geregistreerd.
 - b. Op het systeem worden op dit moment een paar controles verwerkt.

B. Temperatuur

Kamertemperatuur wordt gedefinieerd als 15 °C tot 30 °C.

C. Handschoenpoeder

Net als bij elk reagenssysteem kan overmatig poeder van sommige handschoenen geopende buizen vervuilen. Poederloze handschoenen worden daarom aanbevolen.

D. Protocol verontreinigingscontrole laboratorium voor het Panther systeem

Er zijn veel laboratoriumspecifieke factoren die kunnen bijdragen aan verontreiniging, waaronder testvolume, workflow, ziekteprevalentie en andere laboratoriumactiviteiten. Bij het vaststellen van de frequentie van verontreinigingscontrole dient rekening te worden gehouden met deze factoren. Intervallen voor verontreinigingscontroles moeten vastgesteld worden op basis van de praktijken en procedures van het laboratorium.

Om verontreiniging van het laboratorium te controleren, kan de volgende procedure uitgevoerd worden met de Aptima-unisex monsterafnamekit voor endocervicale en plasbuisuitstrijkjes:

1. Label transportbuizen met nummers die overeenkomen met de gebieden die getest moeten worden.
2. Verwijder het staafje (blauw wattenstaafje met groene bedrukking) uit de verpakking, maak het nat in het monstertransportmiddel (STM) en neem met een draaiende beweging een uitstrijkje van het gebied.
3. Plaats het uitstrijkje onmiddellijk in de transportbuis.
4. Breek het stokje van het wattenstaafje af bij de lijn; wees voorzichtig om te zorgen dat de inhoud niet opspat.
5. Zet de dop stevig terug op de transportbuis.
6. Herhaal stap 2 tot 5 voor alle gebieden.

E. Raadpleeg *Interpretatie van resultaten* als de resultaten positief zijn. Neem contact op met de technische ondersteuning van Hologic voor aanvullende verontreinigingscontrole-informatie die specifiek is voor het Panther systeem.

Kwaliteitscontrole

Een run of specimenresultaat kan door het Panther systeem ongeldig verklaard worden als er zich problemen voordoen tijdens het uitvoeren van de assay. Specimens die in eerste instantie ongeldig zijn, moeten opnieuw worden getest.

Negatieve en positieve controles

Voor geldige resultaten moet een set assaycontroles worden getest. Een herhaling van de negatieve assaycontrole en positieve assaycontrole moet worden getest elke keer dat een nieuwe set in het Panther systeem wordt geladen of wanneer de vervaldatum van de huidige set van geldige controles is verstreken.

Het Panther systeem is geconfigureerd om assaycontroles uit te voeren op een door de beheerder gespecificeerde interval met een maximum van 24 uur. De software op het Panther systeem waarschuwt de gebruiker wanneer er assaycontroles nodig zijn en start geen nieuwe tests voordat de assaycontroles geladen zijn en de verwerking ervan is begonnen.

Bij verwerking worden criteria voor het accepteren van assaycontroles automatisch geverifieerd door de software op het Panther systeem. Voor het genereren van geldige resultaten, moeten de assaycontroles een aantal geldigheidscontroles doorstaan die door het Panther systeem worden uitgevoerd.

Als de assaycontroles alle geldigheidscontroles doorstaan, worden deze geldig beschouwd voor het door de beheerder opgegeven tijdsinterval. Wanneer het tijdsinterval is verstreken, worden de assaycontroles door het Panther systeem als verlopen verklaard en vraagt het systeem om het testen van een nieuwe set assaycontroles voorafgaand aan het starten van nieuwe monsters.

Als een van de assaycontroles niet voor de geldigheidscontroles slaagt, verklaart het Panther systeem automatisch de aangetaste monsters ongeldig en vereist het systeem het testen van een nieuwe set assaycontroles voorafgaand aan het starten van nieuwe monsters.

Interne controle

Aan elk monster met de wTCR wordt een interne controle toegevoegd. Tijdens de verwerking worden de acceptatiecriteria voor interne controle automatisch door de software van het Panther systeem gecontroleerd. Detectie van de interne controle is voor monsters die positief zijn voor SARS-CoV-2 geen vereiste. De interne controle moet in alle monsters worden gedetecteerd die negatief zijn voor SARS-CoV-2-targets; monsters die niet aan deze criteria voldoen zullen als ongeldig gerapporteerd worden. Elk monster met een ongeldig resultaat moet opnieuw worden getest.

Het Panther systeem is ontworpen om processen nauwkeurig te verifiëren wanneer procedures worden uitgevoerd volgens de instructies in de bijsluiter en de *Gebruikershandleiding bij het Panther/Panther Fusion systeem*.

Interpretatie van resultaten

Het Panther systeem bepaalt automatisch de testresultaten voor specimens en controles. Een testresultaat kan negatief, positief of ongeldig zijn.

Tabel 1 toont de mogelijke resultaten gerapporteerd in een geldige run en de interpretatie van resultaten.

Tabel 1: Interpretatie van resultaten

Resultaat SARS-CoV-2	IC-resultaat	Interpretatie
Neg	Geldig	SARS-CoV-2 niet gedetecteerd.
POS	Geldig	SARS-CoV-2 gedetecteerd.
Ongeldig	Ongeldig	Ongeldig. Er is een fout opgetreden bij het genereren van het resultaat; test het monster nogmaals.

Opmerking: Detectie van de interne controle is voor monsters die positief zijn voor SARS-CoV-2 geen vereiste.

Beperkingen

- A. Deze assay mag alleen gebruikt worden door getraind personeel in de procedure. Het niet naleven van deze instructies kan tot foutieve resultaten leiden.
- B. Betrouwbare resultaten zijn afhankelijk van een adequate afname, transport, opslag en verwerking van specimens.
- C. Vervuiling kan worden voorkomen door naleving van goede laboratoriumpraktijken en de procedures die in deze bijsluiter staan aangegeven.
- D. Een positief resultaat geeft de detectie van nucleïnezuur van het betreffende virus aan. Er kan nucleïnezuur aanwezig blijven zelfs nadat het virus niet langer levensvatbaar is.

Prestaties Panther SARS-CoV-2 assay

Analytische sensitiviteit

De analytische sensitiviteit (detectielimiet of LoD) van de Aptima SARS-CoV-2 assay werd bepaald door het testen van seriële verdunningen van samengevoegde negatieve nasofaryngeale uitstrijkjes verrijkt met geïnactiveerd gekweekt SARS-CoV-2 virus (USA-WA1/2020; BEI Resources; NR-52281). Tien herhalingen van elke seriële verdunning werden geëvalueerd met behulp van twee partijen van assayreagentia in twee Panther systemen. De LoD werd vastgelegd op 0,01 TCID₅₀/ml en geverifieerd door nogmaals 20 herhalingen te testen met één partij van assayreagentia. De LoD werd ook bevestigd met media voor monsterafname met zoutoplossing, vloeibare Amies en monstertransportmiddel (STM).

De analytische sensitiviteit van de Aptima SARS-CoV-2 assay is verder beoordeeld met referentiemateriaal van drie commerciële leveranciers. Seriële verdunningen van het referentiemateriaal werden uitgevoerd voor STM en 20 of meer replica's op elk niveau werden getest met elk van de twee assayreagenslots op twee Panther systemen. Het referentiemateriaal en de laagste verdunningsniveaus die leiden tot een detectie van $\geq 95\%$, worden weergegeven in tabel 2.

Tabel 2: Beoordeling analytische sensitiviteit van commercieel referentiemateriaal

Leverancier	Naam	Referentienummer	Lotnummer	Analytische sensitiviteit
ZeptoMetrix	SARS-CoV-2 controle externe run	NATSARS(COV2)-ERC	324332	83 kopieën/ml
SeraCare	AccuPlex SARS-Cov-2 referentiemateriaal	0505-0126	10483977	83 kopieën/ml
Exact Diagnostic	SARS-CoV-2 standaard	COV019	20033001	83 kopieën/ml

Workflow analytische sensitiviteit met de Aptima Specimen Transfer Tube

De op 0,01 TCID₅₀/ml vastgelegde analytische sensitiviteit (detectielimiet) van de Aptima SARS-CoV-2 assay werd bevestigd met behulp van de workflow voor specimenvoorbereiding met de Aptima Specimen Transfer Tube. De bevestiging werd uitgevoerd met geïnactiveerd gekweekt SARS-CoV-2 virus (USA-QA1/2020; BEI Resources; NR-52281) in media voor monsterafname met negatief klinisch nasofaryngeaal (NP) uitstrijkje, zoutoplossing, vloeibare Amies en monstertransportmiddel (STM) door 20 herhalingen met één reagenspartij te testen (tabel 3).

Tabel 3: Workflow bevestiging LoD met Aptima Specimen Transfer

Target	Matrix	N-Geldig	N-Positief	% positief	Avg kRLU	StdDev kRLU	%CV
Geïnactiveerd SARS-CoV-2 virus	NP-uitstrijkje	20	20	100%	1063	61	5,8%
	STM	20	20	100%	1064	116	10,9%
	Zoutoplossing	20	20	100%	1102	60	5,4%
	Vloeibare Amies	20	20	100%	1101	51	4,7%

Inclusiviteit

De inclusiviteit van de Aptima SARS-CoV-2 assay werd geëvalueerd met behulp van *in-silico*analyse van de capture-oligomeren van de assaytarget, amplificatieprimers en detectieprobes met betrekking tot 9.896 SARS-CoV-2 sequenties beschikbaar in NCBI- en GISAID-gendatabanken. Sequenties met ontbrekende of dubbelzinnige sequentie-informatie werden verwijderd uit de analyse, wat resulteerde in 9.879 sequenties die werden geëvalueerd voor het eerste targetgebied van de assay en 9.880 voor het tweede. De *in-silico*analyse toonde 100% homologie met de assay-oligomeren van beide targetsystemen voor 9.749 (98,5%) van de geëvalueerde sequenties en 100% homologie met de assay-oligomeren van minstens één targetsysteem voor alle 9.896 sequenties. Er waren geen geëvalueerde sequenties met geïdentificeerde discrepanties waarvan wordt voorspeld dat ze de binding of prestaties van beide targetsystemen beïnvloeden.

Analytische specificiteit en microbiële interferentie

De analytische specificiteit van de Aptima SARS-CoV-2 assay werd geëvalueerd door het testen van 30 micro-organismen die vaak voorkomende respiratoire pathogenen of nauw verwante soorten voorstellen (tabel 4). Bacteriën werden getest bij 10^6 CFU/ml en virussen werden getest bij 10^5 TCID₅₀/ml, tenzij anders vermeld. Micro-organismen werden getest met en zonder aanwezigheid van geïnactiveerd SARS-CoV-2 virus bij 3x LoD. De analytische specificiteit van de Aptima SARS-CoV-2 assay was 100% zonder bewijs van microbiële interferentie.

Naast het testen van micro-organismen werd ook *in-silico*analyse uitgevoerd om de specificiteit van de assay met betrekking tot de micro-organismen vermeld in tabel 4 te beoordelen. De *in-silico*analyse toonde geen waarschijnlijke kruisreactiviteit met een van de 112 geëvalueerde GenBank-sequenties.

Tabel 4: Micro-organismen analytische specificiteit en microbiële interferentie Aptima SARS-CoV-2

Micro-organisme	Concentratie	Micro-organisme	Concentratie
Humaan coronavirus 229E	1E+5 TCID ₅₀ /ml	Parainfluenza virus 1	1E+5 TCID ₅₀ /ml
Humaan coronavirus OC43	1E+5 TCID ₅₀ /ml	Parainfluenza virus 2	1E+5 TCID ₅₀ /ml
Humaan coronavirus HKU1 ¹	1E+6 kopieën/ml	Parainfluenza virus 3	1E+5 TCID ₅₀ /ml
Humaan coronavirus NL63	1E+4 TCID ₅₀ /ml	Parainfluenza virus 4	1E+3 TCID ₅₀ /ml
SARS-coronavirus ¹	1E+6 kopieën/ml	Influenza A	1E+5 TCID ₅₀ /ml
MERS-coronavirus	1E+4 TCID ₅₀ /ml	Influenza B	2E+3 TCID ₅₀ /ml
Adenovirus (bijv. C1 Ad. 71)	1E+5 TCID ₅₀ /ml	Enterovirus (bijv. EV68)	1E+5 TCID ₅₀ /ml
Humaan metapneumovirus (hMPV)	1E+6 TCID ₅₀ /ml	Rhinovirus	1E+4 TCID ₅₀ /ml
Respiratoir syncytieel virus	1E+5 TCID ₅₀ /ml	<i>Legionella pneumophila</i>	1E+6 CFU/ml
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1E+6 IFU/ml	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1E+6 TCID ₅₀ /ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	1E+6 CFU/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1E+6 CFU/ml
<i>Bordetella pertussis</i>	1E+6 CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1E+6 CFU/ml
<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	1E+6 nuc/ml	<i>Streptococcus salivarius</i>	1E+6 CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	1E+6 CFU/ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1E+6 CFU/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1E+6 CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1E+6 CFU/ml
Samengevoegde humane neusspoeling ² - ter voorstelling van diverse microbiële flora in de luchtwegen van de mens	N.v.t.		

¹ Gekweekt virus en met volledig genoom gezuiverd nucleïnezuur voor humaan coronavirus HKU1 en SARS-coronavirus zijn niet onmiddellijk beschikbaar. IVT's van HKU1 en SARS-coronavirus overeenkomstig de gebieden van het ORF1ab-gen die de assay als target heeft werden gebruikt om de kruisreactiviteit en microbiële interferentie te evalueren.

² In plaats van samengevoegde humane neusspoeling te evalueren, werden 30 individuele negatieve klinische NP-uitstrijkjes getest om diverse microbiële flora in de luchtwegen van de mens voor te stellen.

Klinische prestaties

De klinische prestaties van de Aptima SARS-CoV-2 assay werden geëvalueerd in vergelijking met de Panther Fusion SARS-CoV-2 assay (Hologic, Inc.), met behulp van een paneel van resterende klinische specimens. Voor de studie werden resterende klinische nasofaryngeale specimens afgenomen bij patiënten in de VS met tekenen en symptomen van luchtweginfectie.

De positieve procentuele overeenstemming (PPA) en negatieve procentuele overeenstemming (NPA) werden berekend in verhouding tot de Panther Fusion assay als het referentieresultaat, zoals getoond in tabel 5. De Aptima SARS-CoV-2 assay toonde positieve en negatieve overeenstemmingen van respectievelijk 100% en 98,2%.

Nasofaryngeale spoeling/aspiraats, nasale aspiraten, nasale uitstrijkjes en uitstrijkjes van de middelste neusschelp zijn aanvaardbare specimens om te testen op virale luchtweginfecties. De prestaties met deze specimentypen zijn echter niet specifiek geëvalueerd met de Aptima SARS-CoV-2 assay.

Tabel 5: Klinische overeenstemming Aptima SARS-CoV-2

		Panther Fusion SARS-CoV-2 assay	
		Positief	Negatief
Aptima SARS-CoV-2 assay	Positief	50	1
	Negatief	0	54

Positieve procentuele overeenstemming: (95% BI): 100% (92,9% – 100%)

Negatieve procentuele overeenstemming: (95% BI): 98,2% (90,4% – 99,7%)

Totale overeenstemming: (95% BI): 99,0% (94,8% – 99,8%)

Klinische prestaties met samengesteld paneel

De klinische prestaties van de Aptima SARS-CoV-2 assay met behulp van de workflow voor specimenvoorbereiding met de Aptima Specimen Transfer Tube werden geëvalueerd in vergelijking met een paneel van samengestelde specimens. Voor de studie werd een paneel van 115 resterende klinische nasofaryngeale specimens getest met de workflows van Panther Fusion Specimen Lysis Tube (Specimen Lysis Tube) en Aptima Specimen Transfer Tube. Alle specimens werden afgenomen bij patiënten in de VS met tekenen en symptomen van luchtweginfectie. Het paneel bestond uit 65 SARS-CoV-2 positieve en 50 SARS-CoV-2 negatieve specimens. Van de 65 positieve specimens waren er 40 bij concentraties van 0,5-2x LoD en 25 bij concentraties van 3-5x LoD met behulp van geïnactiveerd gekweekt SARS-CoV-2 virus (USA-QA1/2020; BEI Resources; NR-52281) als target.

De positieve procentuele overeenstemming (PPA) en negatieve procentuele overeenstemming (NPA) voor beide workflows van specimenvoorbereiding werden berekend in verhouding tot het verwachte resultaat van het paneel met samengestelde specimens, zoals getoond in tabel 6 voor de Aptima Specimen Transfer Tube en tabel 7 voor de Specimen Lysis Tube. De detectiekenmerken voor de samengestelde specimens werden berekend via targetconcentratie, zoals getoond in tabel 8. Beide workflows van specimenvoorbereiding toonden 100% overeenstemming voor de geëvalueerde panelen.

Tabel 6: Prestaties van de Aptima Specimen Transfer Tube-workflow ten opzichte van verwachte resultaten

		Verwacht resultaat		
		Positief	Negatief	Totaal
Resultaat Aptima Specimen Transfer	Positief	65	0	65
	Negatief	0	50	50
Totaal		65	50	115

Totale overeenstemming: 100% (96,8% – 100%)

Positieve overeenstemming: 100% (94,4% – 100%)

Negatieve overeenstemming: 100% (92,9% – 100%)

Tabel 7: Prestaties van de Specimen Lysis Tube-workflow ten opzichte van verwachte resultaten

		Verwacht resultaat		
		Positief	Negatief	Totaal
Resultaat Specimen Lysis Tube	Positief	65	0	65
	Negatief	0	50	50
	Totaal	65	50	115

Totale overeenstemming: 100% (96,8% – 100%)

Positieve overeenstemming: 100% (94,4% – 100%)

Negatieve overeenstemming: 100% (92,9% – 100%)

Tabel 8: Detectiekenmerken voor samengestelde nasofaryngeale uitstrijkjes

Targetconc.	Workflow monsters Aptima Specimen Transfer						Workflow monsters Specimen Lysis Tube					
	n Geldig	n Positief	% Positief	Gemiddeld kRLU	St Dev kRLU	%CV	n Geldig	n Positief	% Positief	Gemiddeld kRLU	St Dev kRLU	%CV
Neg	50	0	0	299	9,7	3,2	50	0	0	300	9,3	3,1
0,5x LoD	10	10	100	1050	208,5	19,9	10	10	100	1153	113,0	9,8
1,0x LoD	10	10	100	1176	102,1	8,7	10	10	100	1205	24,3	2,0
1,5x LoD	10	10	100	1222	31,6	2,6	10	10	100	1223	21,9	1,8
2,0x LoD	10	10	100	1225	22,6	1,8	10	10	100	1237	26,0	2,1
3,0x LoD	10	10	100	1228	13,6	1,1	10	10	100	1215	25,5	2,1
4,0x LoD	5	5	100	1238	16,7	1,4	5	5	100	1212	12,5	1,0
5,0x LoD	10	10	100	1237	18,2	1,5	10	10	100	1246	28,3	2,3

Klinische prestaties met natuurlijk besmette positieve specimens

De klinische prestaties van de Aptima SARS-CoV-2 assay met behulp van de workflow voor specimenvoorbereiding met de Aptima Specimen Transfer Tube werden geëvalueerd in vergelijking met de workflow van Specimen Lysis Tube getest met zowel de Aptima als de Panther Fusion SARS-CoV-2 assays. Voor de studie werden drie verdunningen van 15 unieke SARS-CoV-2 positieve nasofaryngeale uitstrijkjes voorbereid en verwerkt met beide workflows. SARS-CoV-2 monsters werden vooraf bepaald als positief met behulp van een moleculaire assay die niet tot Hologic behoort.

De positieve procentuele overeenstemming tussen de Aptima SARS-CoV-2 assay met behulp van de Aptima Specimen Transfer Tube- en Specimen Lysis Tube-workflows bedroeg respectievelijk 97,5% (87,1% – 99,6%) en 100% (91,0% – 100%), vergeleken met de Panther Fusion SARS-CoV-2 assay met de Specimen Lysis Tube-workflow als referentie. De positieve procentuele overeenstemming van de Aptima Specimen Transfer Tube-workflow bedroeg 95,0% (83,5% – 98,6%), vergeleken met de Specimen Lysis Tube-workflow als referentie.

Literatuur

1. **Wereldgezondheidsorganisatie.** Q&A on coronaviruses (COVID-19). 9 maart 2020. Website Wereldgezondheidsorganisatie <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/q-a-coronaviruses>. Bezocht op 10 maart 2020.
2. **Centers for Disease Control and Prevention.** <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/how-covid-spreads.html> accessed June 17, 2020.
3. **Centers for Disease Control and Prevention.** Coronavirus Disease 2019-(COVID-19) in the U.S. Bijgewerkt op 10 maart 2020. Website Centers for Disease Control and Prevention <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-in-us.html>. Bezocht op 10 maart 2020.
4. **Centers for Disease Control and Prevention.** Coronavirus Disease 2019 Information for Travel. Pagina laatst herzien op 8 maart 2020. Website Centers for Disease Control and Prevention <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/travelers/index.html>. Bezocht op 10 maart 2020.
5. **Centers for Disease Control and Prevention.** Coronavirus Disease 2019-(COVID-19) Situation Summary. Bijgewerkt op 9 maart 2020. Website Centers for Disease Control and Prevention <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/summary.html>. Bezocht op 10 maart 2020.
6. **Clinical & Laboratory Standards Institute.** Document M29 Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Website CLSI <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Bezocht in september 2017.



Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 VS

Klantenservice: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Technische ondersteuning: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Ga voor meer contactinformatie naar www.hologic.com.

Hologic, Aptima en Panther en Panther Fusion zijn handelsmerken en/of gedeponeerde handelsmerken van Hologic, Inc. en/of haar dochterondernemingen in de Verenigde Staten en/of andere landen.

Alle andere handelsmerken in deze bijsluiters zijn eigendom van hun respectieve eigenaars.

Dit product is mogelijk beschermd door een of meer Amerikaanse octrooien vermeld op www.hologic.com/patents.

©2020 Hologic, Inc. Alle rechten voorbehouden.

AW-21491-1501 Herz. 002
2020-06