

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 DANISH	DOCUMENT NUMBER AW-21491-1901	REV 002
REV. RELEASE DATE: 06/29/2020		SIZE A	SHEET 1 OF 1

Aptima™ SARS-CoV-2 Assay (Panther™ System)

Til *in vitro* diagnostisk brug.

Kun til eksport fra USA.

INDHOLD

Generelle oplysninger	2
Tilsligtet anvendelse	2
Resumé og forklaring af testen	2
Procedureprincipper	3
Advarsler og forholdsregler	4
Krav til opbevaring og håndtering af reagenser	5
Udtagning og opbevaring af prøve	6
Prøvetransport	9
Panther System	10
Vedlagte reagenser og materialer	10
Nødvendige materialer og anskaffes separat	11
Testprocedure til Panther System	12
Bemærkninger til fremgangsmåden	15
Kvalitetskontrol	16
Tolkning af resultater	17
Begrænsninger	18
Præstation for Panther SARS-CoV-2 Assay	18
Bibliografi	23

Generelle oplysninger

Tilsligtet anvendelse

Aptima™ SARS-CoV-2 assay er en *in vitro* diagnostisk test med nukleinsyreampifikation, som er beregnet til kvalitativ detektion af RNA fra SARS-CoV-2, der er isoleret og rensset fra prøver fra nasopharyngeal (NP) podning, nasal podning, podning af det midterste turbinat og oropharyngeal (OP) podning, nasopharyngeal vask/sugning eller nasale sugninger opnået fra personer, som opfylder de kliniske og/eller epidemiologiske kriterier for COVID-19.

Resultaterne er for identifikationen af SARS-CoV-2 RNA. SARS-CoV-2 RNA kan generelt detekteres i prøver fra øvre luftvej under infektionens akutte fase. Positive resultater er indikation på forekomst af SARS-CoV-2 RNA. Der kræves klinisk korrelation med patientens journal og anden diagnostisk information for at bestemme patientens infektionsstatus. Positive resultater udelukker ikke bakteriel infektion eller co-infektion med andre vira.

Negative resultater forhindrer ikke forekomst af SARS-CoV-2 infektion og bør ikke anvendes som det eneste grundlag for behandlingsbeslutninger vedrørende patienten. Negative resultater skal kombineres med kliniske observationer, patientens journal og anden epidemiologisk information.

Aptima SARS-CoV-2 assay på Panther™ og Panther Fusion™ systemet er tilsligtet brug af klinisk laboratoriepersonale, som er specifikt instrueret og oplært i betjeningen af Panther og Panther Fusion-systemer og *in vitro* diagnostiske procedurer.

Resumé og forklaring af testen

Coronavira er en stor familie af vira, som kan fremkalde sygdom hos dyr og mennesker. Adskillige coronavira er kendt for at fremkalde luftvejsinfektioner hos mennesker. Disse vira strækker sig fra forkølelse til sværere lidelser som f.eks. Middle East Respiratory Syndrome (MERS) og Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) (svært akut luftvejssyndrom). Det senest opdagede coronavirus, SARS-CoV-2, fremkalder den associerede sygdom COVID-19. Det nye virus og den tilknyttede sygdom var ukendt, før udbruddet startede i Wuhan, Kina, i december 2019.¹

De mest almindelige symptomer på COVID-19 er feber, træthed og tør hoste. Nogle patienter kan få smerter, næsetilstopning, løbende næse, halsbetændelse, nyt smags- eller lugtetab eller diarré. Disse symptomer er som regel milde og begynder gradvist. Nogle personer bliver smittet, men udvikler ikke nogen symptomer og føler sig ikke utilpasse. Sygdommen kan spredes via dråber, når en smittet person hoster eller nyser. Disse dråber kan trænge ind i munden eller næsen på folk, som er i nærheden, eller muligvis blive inhaleret i lungerne.² Disse dråber kan også lægge sig på genstande og overflader omkring personen. Andre personer kan få SARS-CoV-2 ved at røre ved disse genstande eller overflader og derefter røre ved øjnene, næsen eller munden.

Det virus, som forårsager COVID-19, inficerer mennesker og spredes let fra person til person.³ Den 11. marts 2020 blev COVID-19 udbruddet betegnet som en pandemi af Verdenssundhedsorganisationen (WHO).^{4,5}

Procedureprincipper

Aptima SARS-CoV-2 assay kombinerer target capture, transkriptionsmedieret amplifikationsteknologi (Transcription Mediated Amplification (TMA)), og Dual Kinetic Assay (DKA) teknologi.

Prøver udtages og overføres til deres respektive prøvetransportrør. Transportopløsningerne i disse reagensglas frigiver RNA target og beskytter dem mod nedbrydning under opbevaring. Når Aptima SARS-CoV-2 assay udføres i laboratoriet, isoleres target RNA molekylerne fra prøver ved brug af capture-oligomere via target capture, der benytter magnetiske mikropartikler. Capture-oligomere indeholder sekvenser, som er komplementære til en specifik region i target molekylet samt en streng af deoxyadenosinrester. Der anvendes en separat capture-oligomer til hver target. Under hybridiseringstrinnet bindes de sekvensspecifikke capture-oligomerregioner til specifikke target molekyler. Capture-oligomer:target-komplekset indfanges dernæst fra opløsningen ved at bringe reaktionstemperaturen ned til stuetemperatur. Denne temperaturreduktion bevirker, at der kan forekomme hybridisering mellem deoxyadenosinregionen på capture-oligomeren og polydeoxythymidin-molekylerne, der er kovalent forbundet til de magnetiske partikler. Mikropartiklerne, inkl. de indfangede target molekyler, der er bundet til dem, trækkes til side i reaktionsbeholderen med magneter, og supernatantet aspireres. Partiklerne vaskes, så restprøvematrix, der kan indeholde amplifikationsreaktionshæmmere, fjernes. Når target capture-trinnet er afsluttet, er prøverne klar til amplifikation.

Target-amplifikationsassays er baseret på komplementære oligonukleotide primeres kapacitet til specifikt at anneale og muliggøre enzymatisk amplifikation af target nukleinsyrestrænge. Aptima SARS-CoV-2 assayet replikerer specifikke regioner af RNA fra SARS-CoV-2 virus. Detektion af RNA-amplifikationsproduktsekvenser (amplikon) opnås vha. nukleinsyrehybridisering.

Enkeltstrengskemiluminiserende nukleinsyreprober, som er unikke og komplementære med en region af hvert target amplikon og Intern kontrol (IC) amplikon, er mærket med forskellige acridiniumestermolekyler (AE). De AE-mærkede prober kombineres med amplikon og danner stabile hybrider. Selektionsreagenset skelner mellem hybridiseret og ikke-hybridiseret probe og eliminerer generering af signal fra ikke-hybridiseret probe. Under detektionstrinnet måles lyset, der udsendes fra de mærkede hybrider, som foton signaler i et luminometer og rapporteres som Relative Lysenheder (RLU). I DKA giver forskelle i de kinetiske profiler for de mærkede prober mulighed for signaldifferentiering. Kinetiske profiler udledes vha. målinger af fotonbelastningen under detektionsmålingsperioden. Den kemiluminiserende detektionsreaktion for IC-signalet har meget hurtig kinetik og har "flasher" kinetisk type. Den kemiluminiserende detektionsreaktion for SARS-CoV-2-signalet er relativt langsommere og har "glower" kinetisk type. Assayresultater bestemmes af en cutoff, baseret på RLU i alt og på bevægelseskurvetypen.

Aptima SARS-CoV-2 assay amplificerer og detekterer to konserverede regioner af ORF1ab-genet i den samme reaktion ved at bruge den samme "glower" kinetiske type. De to regioner er ikke differentierede, og amplifikation af den ene eller begge regioner fører til RLU-signal. Assayresultaterne bestemmes af en afbrydelse, baseret på RLU i alt og bevægelseskurvetypen.

Advarsler og forholdsregler

- A. Til *in vitro* diagnostisk brug. Læs hele indlægssedlen og *Brugervejledningen til Panther/Panther Fusion System* grundigt.
- B. Kun personale med tilstrækkelig uddannelse i brugen af dette assay og i håndtering af potentielt smittefarlige materialer må udføre disse procedurer. Hvis der forekommer spild, skal området straks desinficeres ved hjælp af gældende procedurer på stedet.
- C. Håndtér alle prøver, som om de var infektiøse, og anvend sikre laboratorieprocedurer. Se Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with 2019-nCoV (Midlertidige retningslinjer for laboratoriebiosikkerhed ved håndtering og behandling af prøver i forbindelse med 2019-nCoV). <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>.
- D. Prøver kan være infektiøse. Overhold de generelle forholdsregler ved udførelse af dette assay. Korrekte håndterings- og bortskaffelsesmetoder bør fastlægges af laboratorielederen. Kun medarbejdere, der har tilstrækkelig træning i håndtering af infektiøse materialer, bør have tilladelse til at udføre denne diagnostiske procedure.⁶
- E. Hvis der er mistanke om infektion med SARS-CoV-2 på grundlag af de nuværende kliniske screeningskriterier, som anbefales af de offentlige sundhedsmyndigheder, skal prøverne udtages med hensigtsmæssige forholdsregler til infektionskontrol.
- F. Brug kun medfølgende eller specificeret laboratoriemateriale til engangsbrug.
- G. Brug hensigtsmæssigt personligt sikkerhedsudstyr, når du udtager og håndterer prøver fra personer, der er under mistanke for at være smittet med SARS-CoV-2, som angivet i CDC Midlertidige retningslinjer for laboratoriebiosikkerhed ved håndtering og behandling af prøver i forbindelse med 2019 Nyt coronavirus (2019-nCoV).
- H. Brug engangshandsker uden pudder, beskyttelsesbriller og laboratoriekittler ved håndtering af prøver og reagenser. Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og reagenser.
- I. Alt materiale, der har været i kontakt med prøver og reagenser, skal bortskaffes i overensstemmelse med nationale, internationale og regionale bestemmelser.
- J. Udløbsdatoerne på Panther Fusion Specimen Lysis Tubes, Hologic Specimen Lysis Tubes, Aptima Multitest Collection Kit (Aptima Multitest prøveudtagningskit), Aptima Unisex Collection Kit (Aptima unisex-prøveudtagningskit) og Aptima Specimen Transfer Kit (Aptima prøveoverførselskit) gælder for overførslen af prøve til røret og ikke for testning af prøven. Prøver, der er indsamlet/overført forud for udløbsdatoerne, og som transporteres og opbevares i henhold til den relevante indlægsseddel, er gyldige til testning, selv hvis disse udløbsdatoer er overskredet.
- K. Under forsendelse af prøver skal korrekte opbevaringsforhold bevares for at sikre prøvens integritet. Prøvestabilitet under forsendelsesforhold, der er anderledes end de anbefalede forhold, er ikke blevet vurderet.
- L. Undgå krydskontaminering under prøvehåndteringstrinnene. Prøver kan indeholde meget høje niveauer af virus og organismer. Pas på, at prøvebeholdere ikke kommer i berøring med hinanden, og bortskaf brugte materialer uden at føre dem hen over eventuelle åbne beholdere. Skift handsker, hvis de kommer i berøring med prøver.

- M. Brug ikke reagenserne og kontrollerne efter udløbsdatoen.
- N. Opbevar assaykomponenter ved den anbefalede opbevaringsbetingelse. Se *Krav til opbevaring og håndtering af reagenser* (side 5) og *Testprocedure til Panther System* (side 12) for flere oplysninger.
- O. Kombiner ikke assayreagenser eller væsker. Påfyld ikke reagenser eller væsker. Panther systemet verificerer reagensniveauer.
- P. Undgå mikrobiel og ribonukleasekontaminering af reagenser.
- Q. Brug ikke materiale, der kan indeholde Guanidinium thiocyanat eller nogen guanidine-holdige materialer på instrumentet. Meget reaktive og/eller giftige stoffer kan dannes, hvis kombineret med natriumhypoklorit.
- R. Et reagens i dette kit er mærket med risiko- og sikkerhedssymboler.

Bemærkning: Farekommunikation afspejler EU-sikkerhedsdatabladenes (SDS) klassificering. Se det områdespecifikke sikkerhedsdatablad (SDS) i Sikkerhedsdatabladsbiblioteket på www.hologicsds.com for farekommunikationsoplysninger, som er specifikke for dit område.

	<p>Selektionsreagens BORSYRE 1-5 % ADVARSEL H315 - Forårsager hudirritation</p>
---	--

Krav til opbevaring og håndtering af reagenser

- A. De følgende reagenser er stabile, når de opbevares ved 2 °C til 8 °C (nedkølet):
 - Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reagent (Aptima SARS-CoV-2 amplifikationsreagens)
 - Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reagent (Aptima SARS-CoV-2 enzymreagens)
 - Aptima SARS-CoV-2 Probe Reagent (Aptima SARS-CoV-2 probereagens)
 - Aptima SARS-CoV-2 Internal Control (Aptima SARS-CoV-2 intern kontrol)
 - Aptima SARS-CoV-2 Positive Control (Aptima SARS-CoV-2 positiv kontrol)
 - Aptima SARS-CoV-2 Negative Control (Aptima SARS-CoV-2 negativ kontrol)
- B. De følgende reagenser er stabile, når de opbevares ved 2 °C til 30 °C:
 - Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reconstitution Solution (Aptima SARS-CoV-2 amplifikationsrekonstitutionsopløsning)
 - Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reconstitution Solution (Aptima SARS-CoV-2 enzymrekonstitutionsopløsning)
 - Aptima SARS-CoV-2 Probe Reconstitution Solution (Aptima SARS-CoV-2 proberekonstitutionsopløsning)
 - Aptima SARS-CoV-2 Selection Reagent (Aptima SARS-CoV-2 selektionsreagens)

- C. De følgende reagenser er stabile, når de opbevares ved 15 °C til 30 °C (stuetemperatur):
Aptima SARS-CoV-2 Target Capture Reagent (Aptima SARS-CoV-2 target capture reagens)
Aptima Wash Solution (Aptima vaskeopløsning)
Aptima Buffer for Deactivation Fluid (Aptima buffer til deaktiveringsvæske)
Aptima Oil Reagent (Aptima oliereagens)
- D. Target capture arbejdsreagens (wTCR) er stabilt i 30 dage, når det opbevares ved 15 °C til 30 °C. Må ikke nedkøles.
- E. Efter rekonstituering er enzymreagenset, amplifikationsreagenset og probereagenset stabile i 30 dage, når de opbevares ved 2 °C til 8 °C.
- F. Bortskaf alle ubrugte rekonstituerede reagenser og wTCR efter 30 dage eller efter hovedlottets udløbsdato, alt efter hvilket, der kommer først.
- G. Kontroller er stabile indtil den anførte dato på hætteglassene.
- H. Reagenser, der opbevares på Panther System, har 72 timers klar i systemet-stabilitet.
- I. Probereagens og rekonstitueret probereagens er lysfølsomme. Opbevar reagenserne beskyttet mod lys. Den specificerede rekonstituerede stabilitet er baseret på 12 timers udsættelse af det rekonstituerede probereagens for to 60 W fluorescerende pærer i en afstand på 43 cm (17 tommer) og temperatur mindre end 30 °C. Udsættelse for lys af det rekonstituerede probereagens bør begrænses følgerigt.
- J. Ved opvarmning til stuetemperatur kan nogle kontrolreagensglas forekomme uklare eller indeholde udfældninger. Uklarhed eller udfældning i forbindelse med kontrollerne påvirker ikke kontrolpræstationen. Kontrollerne kan anvendes, uanset om de er klare eller uklare/ udfældet. Hvis der ønskes klare kontroller, kan der fremskyndes solubilisering ved at inkubere dem i den øvre ende af stuetemperaturområdet (15 °C til 30 °C).
- K. Undlad at nedfryse reagenserne.**

Udtagning og opbevaring af prøve

Patientprøve - Klinisk materiale indsamlet fra en patient og overført til et relevant transportsystem. For Aptima SARS-CoV-2 assayet omfatter dette prøver fra NP-podning, nasal podning, podning fra midterste turbinat og OP-podning eller prøveudtagning fra nasopharyngeal vask/sugning og nasal sugning i viralt transportmedium (VTM/UTM), saltvand, flydende Amies eller prøvetransportmedium (STM).

Prøver - Er et mere generisk udtryk til beskrivelse af ethvert materiale til testning på Panther System herunder prøver, prøver, der er overført til Panther Fusion Specimen Lysis Tube og kontroller.

Bemærkning: *Håndtér alle prøver, som om de indeholder potentielt smitsomme stoffer. Overhold de generelle forholdsregler.*

Bemærkning: *Udvis forsigtighed for at undgå krydskontaminering under trinnene til prøvehåndtering. Bortskaf fx brugte materialer uden at føre dem hen over åbne rør.*

Prøveudtagning fra podning

Udtag prøver fra NP-podning, nasal podning og OP-podning i henhold til standardteknikken ved hjælp af en podedepind med polyester-, rayon-, eller nylonspids. Placér øjeblikkeligt podningsprøven i 3 ml VTM eller UTM. Podningsprøver kan alternativt tilsættes til saltvand, flydende Amies eller STM. Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit (Aptima Multitest prøveudtagningskittet til podning) kan bruges til udtagning af prøver fra OP-podning og nasal podning.

Efter udtagning kan prøverne, der er udtaget i VTM/UTM, opbevares ved 2 °C til 8 °C op til 96 timer, før de overføres til Specimen Lysis Tube eller reagensglas til prøveoverførsel, som beskrevet i prøvebehandlingsafsnittet nedenfor. Resterende prøvemængder kan opbevares ved ≤-70 °C.

Prøver i Aptima Multitest Tube kan opbevares ved 2 °C til 30 °C op til 6 dage efter udtagning.

Bemærkning: Det anbefales, at prøver, der er overført til Aptima Multitest Tube, opbevares med prop og opretstående i et stativ.

De følgende typer VTM/UTM kan bruges.

- Remel MicroTest M4, M4RT, M5 eller M6 præparater
- Copan Universal Transport Medium
- BD Universal Viral Transport Medium

Bemærkning: Brug ikke materiale, der kan indeholde Guanidium thiocyanat eller noget guanidine-holdigt materiale.

Prøveudtagning fra nasopharyngeal vask/sugning og nasal sugning

Udtag prøver fra nasopharyngeal vask/sugning og nasal sugning i henhold til standardteknikkerne.

Prøvebehandling ved brug af Panther Fusion Specimen Lysis Tube

- Overfør 500 µl af podningsprøven* til et Panther Fusion Specimen Lysis Tube før testning på Panther systemet.

***Bemærkning:** Ved testning af frosne prøver skal prøven optøes til stuetemperatur inden behandling.

Bemærkning: Når du bruger Aptima SARS-CoV-2 åbent reagensglas assaysoftware, skal du klargøre Panther Fusion Specimen Lysis Tube, som beskrevet nedenfor i Prøvebehandling, ved at bruge Hologic Specimen Lysis Tube med tæt hætte.

Prøvebehandling ved brug af Hologic Specimen Lysis Tube med tæt hætte

- Åbn Hologic Specimen Lysis Tube, og behold hættten.
- Overfør 500 µl af prøven til Hologic Specimen Lysis Tube før testning på Panther systemet
- Det anbefales at sætte hættten på reagensglasset igen og forsigtigt vende det op og ned tre gange for at sikre inaktivering af virus og en homogen blanding.
- Løsn hættten, og sæt prøvereagensglasset i prøvestativet for at undgå kontakt med reagensglassets øverste del.
- Fjern hættten, og bortskaf den. Efterse prøvereagensglasset. Hvis der er forekomst af bobler, skal du fjerne dem forsigtigt fra prøvereagensglasset (brug for eksempel spidsen af en steril podedepind eller en tilsvarende metode).

F. Sæt stativholderen på prøvestativet, og isæt prøven i instrumentet.

Bemærkning: *Prøvebehandling ved hjælp af Hologic Specimen Lysis Tube er kun til brug med Aptima SARS-CoV-2 åbent reagensglas assaysoftware.*

Prøvebehandling ved brug af et specialfremstillet Specimen Lysis Tube

A. Brug af et sterilt eller usterilt, generisk reagensglas fremstillet i silikoneret glas, polypropylenplast eller tilsvarende materiale, som er 12 til 13 mm i udvendig diameter og 75 til 100 mm i højde, alikvot 0,78 ml ± 0,07 ml bulk STM i reagensglasset ved hjælp af en pipette eller gentagelsespipette.

Bemærkning: *Sæt hættten på reagensglasset igen, og opbevar det ved 15 °C til 30 °C, indtil det skal bruges i prøvebehandlingen, hvis reagensglassene er klargjort før brug.*

B. Åbn det specialfremstillede Specimen Lysis Tube, som indeholder STM, og behold hættten.

C. Overfør 500 µl af prøven til det specialfremstillede Specimen Lysis Tube, som indeholder STM før testning på Panther systemet.

D. Det anbefales at sætte hættten på prøvereagensglasset igen og forsigtigt vende det op og ned tre gange for at sikre inaktivering af virus og en homogen blanding.

E. Løsn hættten, og sæt prøvereagensglasset i prøvestativet for at undgå kontakt med reagensglassets øverste del.

F. Fjern hættten, og bortskaf den. Eftersø prøvereagensglasset. Hvis der er forekomst af bobler, skal du fjerne dem forsigtigt fra reagensglasset (brug for eksempel spidsen af en steril podedepind eller en tilsvarende metode).

G. Sæt stativholderen på prøvestativet, og isæt prøven i instrumentet.

Bemærkning: *Prøvebehandling ved hjælp af det specialfremstillede Hologic Specimen Lysis Tube er kun til brug med Aptima SARS-CoV-2 åbent reagensglas assaysoftware.*

Prøvebehandling ved brug af Aptima Specimen Transfer Tube (Aptima-reagensglas til prøveoverførsel)

A. Overfør 1 ml af den udtagne prøve* til et Aptima-reagensglas til prøveoverførsel** før testning på Panther systemet.

***Bemærkning:** *Ved testning af frosne prøver skal prøven optøs til stuetemperatur inden behandling.*

****Bemærkning:** *Der kan bruges et ubrugt Aptima Multitest Tube (Aptima Multitestreagensglas) eller Aptima Unisex Tube (Aptima unisex-reagensglas) som alternativ.*

B. Sæt hættten stramt på Aptima-reagensglasset til prøveoverførsel igen.

C. Vend forsigtigt op og ned på reagensglasset 2 til 3 gange for at sikre, at prøven blandes helt.

Bemærkning: *Aptima-reagensglas til prøveoverførsel kan ikke testes på et system ved brug af Aptima SARS-CoV-2 åbent reagensglas assay software.*

Prøvebehandling for prøve, udtaget med Aptima Multitest Collection Kit (Aptima Multitest prøveudtagningskit)

- A. Der kræves ingen yderligere behandling efter at have placeret den udtagne prøve* i Aptima Multitest Tube ved brug af Aptima Multitest prøveudtagningskit.

***Bemærkning:** Ved testning af frosne prøver skal prøven optøs til stuetemperatur inden behandling.

Bemærkning: På et system, der bruger Aptima SARS-CoV-2 åbent reagensglas assay software, skal du overføre den udtagne prøve fra Aptima Multitest Tube til et Hologic Specimen Lysis Tube eller specialfremstillet Specimen Lysis Tube, som beskrevet i prøvebehandlingsafsnittene ovenfor.

Prøveopbevaring

- A. Panther systemet kan arkivere prøver, som er klar i systemet, til yderligere testning på et senere tidspunkt.

- B. Opbevaring af prøver før eller efter testning

1. Prøver i Aptima Multitest Tube, Aptima Specimen Tube (Aptima præparatreagensglas), eller Specimen Lysis Tube skal opbevares opretstående i stativet under den følgende betingelse:
 - 2 °C til 30 °C op til 6 dage
2. Prøverne skal dækkes med en ny, ren plastfilm eller foliebarriere.
3. Hvis de analyserede prøver skal fryses eller sendes, fjernes den gennemtrængelige hætte, og der sættes en ny uigennemtrængelig hætte på præparatreagensglassene. Hvis prøver skal sendes til testning på et andet laboratorium, skal de anbefalede temperaturer opretholdes. Inden proppen tages af, skal prøvetransportrørene centrifugeres i 5 minutter ved 420 relativ centrifugalkraft (RCF) for at bringe al væsken ned i bunden af reagensglasset. Undgå stænkning og krydskontaminering.

Bemærkning: Der må ikke anvendes Fisherbrand™ VersaClosure™ reagensglaspropper til at lukke reagensglas til frysning eller forsendelse.

Prøvetransport

Oprethold prøveopbevaringsbetingelserne, som beskrevet i afsnittet *Udtagning og opbevaring af prøve* på side 6.

Bemærkning: Prøver skal forsendes i henhold til gældende nationale, internationale og regionale transportregulativer.

Panther System

Reagenserne til Aptima SARS-CoV-2 assay er angivet herunder for Panther System. Reagensidentifikationssymbolerne er ligeledes angivet ved siden af reagensbetegnelsen.

Vedlagte reagenser og materialer

Aptima SARS-CoV-2 Assay Kit PRD-06419

250 tests (2 æsker)

Aptima SARS-CoV-2 Refrigerated Box (Aptima SARS-CoV-2 nedkølet æske) (æske 1 af 2)
(opbevares ved 2 °C til 8 °C ved modtagelsen)

Symbol	Komponent	Kvantitet 250 testkit
A	Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reagent (Aptima SARS-CoV-2 amplifikationsreagens) <i>Ikke-infektiose nukleinsyrer tørret i bufferopløsning, der indeholder <5 % volumenforøgende middel.</i>	1 hætteglas
E	Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reagent (Aptima SARS-CoV-2 enzymreagens) <i>Revers transkriptase og RNA-polymerase tørret i HEPES bufferopløsning, der indeholder <10 % volumenforøgende reagens.</i>	1 hætteglas
P	Aptima SARS-CoV-2 Probe Reagent (Aptima SARS-CoV-2 probereagens) <i>Ikke-infektiose kemiluminiserende DNA-prober tørret i succinat-bufferopløsning, der indeholder <5 % sæbe.</i>	1 hætteglas
IC	Aptima SARS-CoV-2 Internal Control (Aptima SARS-CoV-2 intern kontrol)	1 hætteglas

Aptima SARS-CoV-2 Room Temperature Box (Aptima SARS-CoV-2 æske med stuetemperatur)
(æske 2 af 2)
(opbevares ved 15 °C til 30 °C ved modtagelsen)

Symbol	Komponent	Kvantitet 250 testkit
AR	Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reconstitution Solution (Aptima SARS-CoV-2 amplifikationsrekonstitutionsopløsning) <i>Vandig opløsning, der indeholder konserveringsmidler.</i>	1 x 27,7 ml
ER	Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reconstitution Solution (Aptima SARS-CoV-2 enzymrekonstitutionsopløsning) <i>HEPES bufferopløsning, der indeholder et overfladeaktivt stof og glycerol.</i>	1 x 11,1 ml
PR	Aptima SARS-CoV-2 Probe Reconstitution Solution (Aptima SARS-CoV-2 proberekonstitutionsopløsning) <i>Succinatbufferopløsning, der indeholder <5 % sæbe.</i>	1 x 35,4 ml
S	Aptima SARS-CoV-2 Selection Reagent (Aptima SARS-CoV-2 selektionsreagens) <i>600 mM boratbufferopløsning, der indeholder overfladeaktivt stof.</i>	1 x 108 ml

Aptima SARS-CoV-2 Room Temperature Box (Aptima SARS-CoV-2 æske med stuetemperatur)
 (æske 2 af 2) (fortsat)
 (opbevares ved 15 °C til 30 °C ved modtagelsen)

Symbol	Komponent	Kvantitet 250 testkit
TCR	Aptima SARS-CoV-2 Target Capture Reagent (Aptima SARS-CoV-2 target capture reagens) <i>Buffersaltopløsning, der indeholder fastfase og capture-oligomere.</i>	1 x 54 ml
	Rekonstitueringsmanchetter	3
	Stregkodeliste for hovedlot	1 liste

Nødvendige materialer og anskaffes separat

Bemærkning: For materialer, der fås fra Hologic, er katalognummeret anført, medmindre andet er angivet.

	<u>Kat. nr.</u>
Panther System	303095
Aptima Assay Fluids Kit (Aptima Assay væskekit) <i>(Aptima Wash Solution (Aptima vaskeopløsning), Aptima Buffer for Deactivation Fluid (Aptima buffer til deaktiveringsvæske) og Aptima Oil Reagent (Aptima oliereagens))</i>	303014 (1000 tests)
Aptima Auto Detect Kit	303013 (1000 tests)
Multireagensglasenheder (Multi-tube units, MTU'er)	104772-02
Panther Waste Bag Kit (affaldsposekit)	902731
Panther Waste Bin Cover (Panther affaldsbin-afdækning)	504405
Eller Panther Run Kit (Panther kørselskit) <i>indeholder MTU'er, affaldsposer, afdækninger til affaldsbins, assayvæsker og auto detects</i>	303096 (5000 tests)
Spidser, 1000 µl ledende, væskeregistrering	10612513 (Tecan)
Aptima SARS-CoV-2 Kontrolkit <i>PC - Aptima SARS-CoV-2 Positive Control (Aptima SARS-CoV-2 positiv kontrol). Ikke-infektøs nukleinsyre i en bufferopløsning, der indeholder <5 % sæbe. Mængde 5 x 1,7 ml</i> <i>NC - Aptima SARS-CoV-2 Negative Control (Aptima SARS-CoV-2 negativ kontrol). En bufferopløsning, der indeholder <5 % sæbe. Mængde 5 x 1,7 ml</i>	PRD-06420
Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit (Aptima Multitest prøveudtagningskittet til podning)	PRD-03546
Aptima Specimen Transfer Kit (Aptima prøveoverførselskit)	301154C
Aptima Specimen Transfer Kit (Aptima prøveoverførselskit) - kan printes	PRD-05110
Aptima prøveudtagningskit til unisex-podning til prøver fra endocervikal podning og fra podning fra mandlig uretral	301041
Panther Fusion Specimen Lysis Tubes, 100 pr. pose <i>reagensglas indeholder 0,71 ml STM med en gennemtrængelig hætte</i>	PRD-04339

	<u>Kat. nr.</u>
Hologic Specimen Lysis Tube, 100 styk <i>reagensglas indeholder 0,71 ml STM med en tæt hætte</i>	PRD-06554
Hologic Specimen Lysis Tube, 1200 styk <i>reagensglas indeholder 0,71 ml STM med en tæt hætte</i>	PRD-06660
Prøvetransportmedium, 1 flaske, 80 ml	PRD-04423
Prøvetransportmedium, 1 flaske, 120 ml	PRD-06657
Blegemiddel 5 % til 7 % (0,7 M til 1,0 M) natriumhypochloritopløsning	—
Engangshandsker	—
Uigennemtrængelige udskiftningshætter	504415
Fisherbrand VersaClosure reagensglaspropper*, 1000 pr. pakke <i>*et engangs-reagensglaslæg til Hologic Specimen Lysis Tube (kun PRD-06554) efter testning</i>	02-707
Udskiftningshætter til 250-testkits <i>Amplification og Probe reagent reconstitution solutions (Amplifikations- og probereagensrekonstitutionsopløsninger) CL0041 (100 hætter) Enzyme Reagent reconstitution solution (enzymreagensrekonstitutionsopløsning) 501616 (100 hætter) TCR og Selection reagent (TCR- og selektionsreagens) CL0040 (100 hætter)</i>	—

Valgfri materialer

	<u>Kat. nr.</u>
Hologic Bleach Enhancer for Cleaning <i>til rutinemæssig rengøring af overflader og udstyr</i>	302101
Reagensglasryster	—

Testprocedure til Panther System

Bemærkning: Se Brugervejledningen til Panther/Panther System for yderligere oplysninger om proceduren.

A. Klargøring af arbejdsområde

Rengør de arbejdsoverflader, hvor reagenser og prøver skal klargøres. Tør arbejdsoverfladerne af med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypochloritopløsning. Lad natriumhypochloritopløsningen blive på overfladerne i mindst 1 minut, og skyl dernæst efter med vand. Natriumhypochloritopløsningen må ikke tørre. Dæk bordoverfladen, hvor reagenserne og prøverne skal forberedes, med rent absorberende beskyttelsespapir med plastbagside til laboratorieborde.

B. Reagensrekonstituering/klargøring af et nyt kit

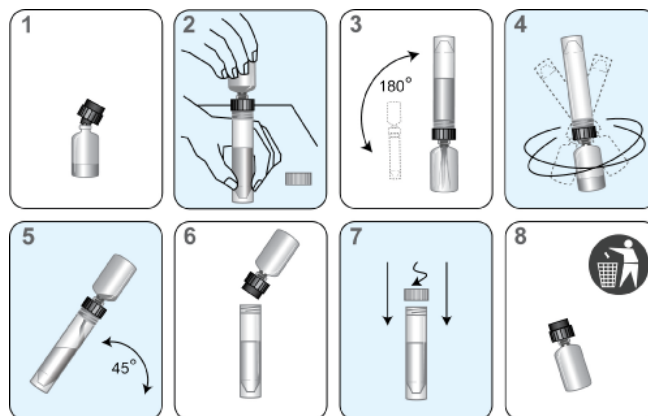
Bemærkning: Reagensrekonstituering bør udføres, inden der påbegyndes arbejde på Panther System.

1. For at rekonstituere amplifikations-, enzym- og probereagenser kombineres flaskerne med frysetørret reagens med rekonstitutionsopløsningen. Hvis rekonstitutionsopløsningerne opbevares nedkølet, skal de have stuetemperatur inden brug.
 - a. Anbring hver enkelt rekonstitutionsopløsning parvist med det tilhørende frysetørrede reagens. Sørg for, at rekonstitutionsopløsningen og reagentet har matchende etiketfarver, før du fastgør rekonstrueringsmanchetten.
 - b. Kontrollér lotnumrene på stregkodelisten for hovedlot for at sikre, at de korrekte reagenser er grupperet.
 - c. Åbn det frysetørrede reagenshætteglas, og indsæt rekonstrueringsmanchettens ende med fordybning med et fast tryk i hætteglassets åbning (figur 1, trin 1).
 - d. Åbn den tilhørende rekonstitutionsopløsning, og læg låget på et rent, afdækket arbejdsbord.
 - e. Indsæt den anden ende af rekonstrueringsmanchetten i hætteglassets åbning med et fast tryk, mens du holder flasken med rekonstitutionsopløsning på bordet (figur 1, trin 2).
 - f. Vend langsomt op og ned på de samlede flasker. Lad opløsningen løbe fra flasken ind i hætteglasset (figur 1, trin 3).
 - g. Bland opløsningen grundigt i hætteglasset ved at hvirvle den rundt (figur 1, trin 4).
 - h. Vent på, at det frysetørrede reagens går i opløsning, vend dernæst op og ned på de samlede flasker igen med en hældning på en 45° vinkel for at minimere skumdannelse (figur 1, trin 5). Lad al væsken løbe tilbage i plastflasken.
 - i. Fjern rekonstrueringsmanchetten og hætteglasset (figur 1, trin 6).
 - j. Sæt låget på plastflasken igen. Registrér operatørinitialer og rekonstrueringsdato på etiketten (figur 1, trin 7).
 - k. Bortskaf rekonstrueringsmanchetten og hætteglasset (figur 1, trin 8).

Valgmulighed: Yderligere blanding af amplifikations-, enzym- og probereagenser ved hjælp af en reagensglasryster er tilladt. Reagenserne kan blive blandet ved at anbringe plastflasken med hætte på en reagensglasryster indstillet til 20 o/m (eller tilsvarende) i mindst 5 minutter.

Advarsel: Undgå, at der dannes skum, når reagenserne rekonstrueres. Skum påvirker niveaumålingen negativt i Panther System.

Advarsel: Passende blanding af reagenserne er nødvendig for at opnå de forventede assayresultater.



Figur 1. Panther System rekonstitutionsproces

2. Klargør target capture arbejdsreagens (wTCR)
 - a. Grupper de korrekte flasker i par med TCR og IC.
 - b. Kontrollér reagenslotnumrene på stregkodelisten for hovedlot for at sikre, at de korrekte reagenser i kittet er grupperet i par.
 - c. Åbn flasken med TCR, og læg låget på en ren, afdækket arbejdsoverflade.
 - d. Åbn IC-flasken, og hæld hele indholdet i flasken med TCR. Det kan forventes, at der bliver en lille mængde væske tilbage i IC-flasken.
 - e. Sæt låg på flasken med TCR, og hvirvl forsigtigt opløsningen rundt, så indholdet blandes. Pas på, at der ikke dannes skum i dette trin.
 - f. Registrér operatørinitialer og dags dato på etiketten.
 - g. Bortskaf IC-flasken og låget.
3. Klargør selektionsreagens
 - a. Kontrollér lotnummeret på reagensflasken for at sikre, at det stemmer overens med lotnummeret på stregkodelisten for hovedlot.
 - b. Registrér operatørinitialer og dags dato på etiketten.

Bemærkning: Bland omhyggeligt ved at vende alle reagenser forsigtigt om, inden de sættes i systemet. Pas på, der ikke dannes skum, mens reagenserne vendes op og ned.

C. Klargøring af reagens for tidligere rekonstituerede reagenser

1. Tidligere rekonstituerede amplifikations-, enzym- og probereagenser skal have stuetemperatur (15 °C til 30 °C), inden assayet påbegyndes.

Valgmulighed: Reagenserne kan bringes til stuetemperatur ved at anbringe de rekonstituerede amplifikations-, enzym- og probereagenser på en reagensglasryster indstillet til 20 o/m (eller tilsvarende) i mindst 25 minutter.

2. Hvis det rekonstituerede probereagens indeholder udfældning, der ikke bliver til opløsning igen ved stuetemperatur, opvarmes flasken med hætte ved en temperatur, som ikke må overstige 62 °C i 1 til 2 minutter. Efter dette opvarmningstrin kan probereagenset anvendes, også selvom der er tiloversbleven udfældning. Bland probereagens ved at vende op og ned på det, og pas på ikke at skabe skum før isætning på systemet.

3. Bland omhyggeligt hvert reagens ved at vende forsigtigt op og ned på det, inden det sættes i systemet. Pas på, der ikke dannes skum, mens reagenserne vendes op og ned. Dette trin er ikke nødvendigt, hvis reagenserne isættes på systemet direkte efter blandingen på reagensglasrysteren.
 4. Der må ikke tilføjes reagens til reagensflaskerne. Panther System bemærker og afviser flasker, der er helt fyldt op.
 5. *Passende blanding af reagenserne er nødvendig for at opnå de forventede assayresultater.*
- D. Prøvehåndtering ved brug af Panther Fusion Specimen Lysis Tube eller Aptima-reagensglas til prøveoverførsel.

Bemærkning: *Klargør prøver i henhold til Anvisningerne til prøvebehandling i afsnittet Udtagning og opbevaring af prøve, før du isætter prøver på Panther systemet.*

1. Efterse prøvereagensglassene, inden de sættes i stativet. Hvis et prøvereagensglas indeholder bobler eller har en lavere mængde end den, der typisk iagttages, skal du banke forsigtigt på glasset for at bringe indholdet ned i bunden.

Bemærkning: *Sørg for, at der er tilsat en passende prøvemængde for prøver, der er overført til Panther Fusion Specimen Lysis Tube eller Aptima-reagensglasset til prøveoverførsel, for at undgå behandlingsfejl. Når der tilsættes en passende udtaget prøve til reagensglasset, er der tilstrækkelig mængde til at udføre 3 nukleinsyreekstraktioner.*

- E. Prøvehåndtering ved brug af Hologic Specimen Lysis Tube eller specialfremstillet Specimen Lysis Tube
1. Klargør prøver i henhold til Anvisningerne til prøvebehandling i afsnittet Udtagning og opbevaring af prøve.

Bemærkning: *Sørg for, at der er tilsat en passende prøvemængde for prøver, der er overført til Hologic Specimen Lysis Tube eller et specialfremstillet Specimen Lysis Tube, for at undgå behandlingsfejl. Når der tilsættes en passende udtaget prøve til reagensglasset, er der tilstrækkelig mængde til at udføre 2 nukleinsyreekstraktioner*

Bemærkning: *Når du bruger Aptima SARS-CoV-2 åbent reagensglas assaysoftware, skal du fjerne hæften fra den positive og negative kontrol inden isætning på Panther systemet.*

- F. Klargøring af systemet
1. Sæt systemet op ifølge anvisningerne i *brugervejledning til Panther/Panther Fusion System* og *Bemærkninger til fremgangsmåden*. Sørg for, at der anvendes reagensstativer og TCR-adaptorer af passende størrelse.
 2. Isæt prøver.

Bemærkninger til fremgangsmåden

- A. Kontroller
1. Der kræves ét par kontroller for at arbejde korrekt med Aptima assaysoftware til Panther System. Aptima SARS-CoV-2 positive og negative kontroller kan isættes i enhver position i stativet eller i enhver prøvebås på Panther System. Pipettering af patientprøver begynder, når ét af de to følgende forhold er blevet opfyldt:
 - a. Et par kontroller bliver i øjeblikket behandlet i systemet.
 - b. Der er registreret gyldige resultater for kontrollerne på systemet.

2. Når kontrolreagensglassene er blevet pipetteret og behandles for et specifikt reagenskit, kan der køres patientprøver med det tilknyttede kit op til 24 timer, medmindre:
 - a. Kontrollernes resultater er ugyldige.
 - b. Det tilknyttede assayreagenskit fjernes fra systemet.
 - c. Det tilknyttede assayreagenskit har overskredet stabilitetsgrænserne.
3. Hvert Aptima kontrolreagensglas kan testes én gang. Forsøg på at pipettere mere end én gang fra reagensglasset kan føre til procesfejl.
4. Pipettering af patientprøver begynder, når ét af de to følgende forhold opfyldes:
 - a. Der er registreret gyldige resultater for kontrollerne på systemet.
 - b. Et par kontroller bliver i øjeblikket behandlet på systemet.

B. Temperatur

Stuetemperatur defineres som 15 °C til 30 °C.

C. Handskepudder

Som i alle reagenssystemer kan for meget pudder på visse handsker forårsage kontaminering af åbnede reagensglas. Det anbefales at bruge handsker uden pudder.

D. Overvågningsprotokol for laboratoriekontaminering til Panther System

Der er mange laboratoriespecifikke faktorer, der kan bidrage til kontaminering, herunder testningsmængde, arbejdsgang, prævalens af sygdomme og forskellige andre laboratorieaktiviteter. Disse faktorer skal tages i betragtning, når kontamineringsovervågningens hyppighed fastlægges. Intervaller for kontamineringsovervågning skal fastlægges på basis af hvert laboratoriums praksis og procedurer.

For at overvåge for laboratoriekontaminering kan den følgende procedure udføres ved hjælp af Aptima Unisex Swab Specimen Collection Kit (Aptima prøveudtagningskit til unisex-podning) for prøver fra endocervikal podning og podning fra mandlig uretral:

1. Mærk transportrøret til podning med cifre, der svarer til de områder, der skal testes.
2. Fjern podepinden til prøveudtagning (podepind med blå pind med grønt tryk) fra emballagen, væd podepinden i prøvetransportmedium (STM), og pod det udpegede område med en cirkelbevægelse.
3. Placer straks podningen i transportrøret.
4. Bræk forsigtigt podepinden ved markeringslinjen. Undgå stækning af indholdet.
5. Sæt hættten godt fast på transportrøret til podning igen.
6. Gentag trin 2 til 5 for hvert område, der skal podes.

- E. Hvis resultaterne er positive, så se *Tolkning af resultater*. Kontakt Hologic teknisk support for yderligere oplysninger om Panther System-specifik kontamineringsovervågning.

Kvalitetskontrol

En kørsel eller et prøveresultat kan blive gjort ugyldigt af Panther System, hvis problemet opstår under udførelsen af assayet. Prøver med ugyldige resultater skal testes igen.

Negative og positive kontroller

For at skabe gyldige resultater er det nødvendigt at teste et sæt assaykontroller. Ét replikat af den negative assaykontrol og den positive assaykontrol skal testes hver gang, der isættes et nyt kit på Panther systemet, eller når det aktuelle sæt gyldige kontroller er udløbet.

Panther systemet er konfigureret til at kræve kørsel af assaykontroller med et administrator-specificeret interval på op til 24 timer. Software på Panther systemet advarer operatøren, når der kræves assaykontroller og starter ikke nye tests, før assaykontrollerne er isat og har startet behandlingen.

Under behandlingen verificeres kriterierne for godkendelse af assaykontrollerne automatisk af Panther systemet. For at skabe gyldige resultater skal assaykontrollerne godkendes af en række validitetskontroller, som udføres af Panther systemet.

Hvis assaykontrollerne godkendes af alle validitetskontroller, betragtes de som gyldige til det administratorspecificerede tidsinterval. Når tidsintervallet er gået, udløber assaykontrollerne af Panther systemet, som kræver, at et nyt sæt assaykontroller testes, før der startes nogle nye prøver.

Hvis nogen af assaykontrollerne ikke består validitetskontrollerne, gør Panther systemet automatisk de berørte prøver ugyldige og kræver, at et nyt sæt assaykontroller testes, før der startes nogle nye prøver.

Intern kontrol

Der tilsættes en intern kontrol til hver prøve med wTCR. Under behandlingen verificeres den interne kontrols godkendelseskriterier automatisk af Panther systemsoftware. Der kræves ikke detektion af den interne kontrol for prøver, som er positive for SARS-CoV-2. Den interne kontrol skal detekteres i alle prøver, som er negative for SARS-CoV-2-targets. Prøver, som ikke opfylder de kriterier, rapporteres som ugyldige. Hver prøve med et ugyldigt resultat skal testes igen.

Panther systemet er udviklet til at verificere processerne nøjagtigt, når procedurene udføres efter anvisningerne på denne indlægsseddel og i *Brugervejledningen til Panther/Panther Fusion System*.

Tolkning af resultater

Panther systemet bestemmer automatisk testresultaterne for prøver og kontroller. Et testresultat kan være negativt, positivt eller ugyldigt.

I tabel 1 vises de mulige resultater, der rapporteres i en gyldig kørsel med tolkning af resultater.

Tabel 1: Tolkning af resultat

SARS-CoV-2-resultat	IC resultat	Tolkning
Neg	Gyldigt	SARS-CoV-2 ikke detekteret.
POS	Gyldigt	SARS-CoV-2 detekteret.
Ugyldigt	Ugyldigt	Ugyldigt. Der opstod en fejl under udarbejdelsen af resultatet. Test prøven igen.

Bemærkning: Der kræves ikke detektion af intern kontrol for prøver, som er positive for SARS-CoV-2.

Begrænsninger

- A. Kun personale, som er oplært i fremgangsmåden, må anvende dette assay. Hvis disse anvisninger ikke følges, kan det føre til fejlagtige resultater.
- B. Pålidelige resultater er afhængige af tilstrækkelig prøvetagning og korrekt transport, opbevaring og behandling af prøver.
- C. Undgå kontaminering ved at overholde god laboratoriepraksis og de procedurer, der er beskrevet på denne indlægsseddel.
- D. Et positivt resultat angiver detektion af nukleinsyre fra det relevante virus. Nukleinsyre kan vedvare selv efter, at viruset ikke længere er levedygtigt.

Præstation for Panther SARS-CoV-2 Assay

Analytisk sensitivitet

Den analytiske sensitivitet (detektionsgrænse eller LoD) for Aptima SARS-CoV-2 assay blev bestemt ved at teste seriefortyndinger af pooled negative kliniske prøver fra nasopharyngeal podning tilsat inaktiveret, podet SARS-CoV-2-virus (USA-WA1/2020; BEI Resources; NR-52281). Ti replikater af hver seriefortynding blev vurderet ved at bruge hvert af to assayreagenslots på tværs af to Panther systemer. LoD blev bestemt til at være 0,01 TCID₅₀/ml og verificeret ved at teste yderligere 20 replikater med ét assayreagenslot. LoD blev ligeledes bekræftet ved brug af podning fra udtagingsmedier af saltvand, flydende Amies og prøvetransportmedium (STM).

Aptima SARS-CoV-2 assayets analytiske sensitivitet blev endvidere vurderet ved brug af referencemateriale fra tre forhandlere. Der blev lavet seriefortyndinger af referencematerialet i STM, og der blev testet 20 eller flere replikater på hvert niveau ved at bruge hvert af to assayreagenslots på tværs af to Panther systemer. Referencematerialerne og de laveste fortyndingsniveauer, der resulterede i ≥ 95 % detektion, er angivet i tabel 2.

Tabel 2: Analytisk sensitivitetsevaluering af kommercielt referencemateriale

Forhandler	Navn	Referencenummer	Lotnummer	Analytisk sensitivitet
ZeptoMetrix	SARS-CoV-2 ekstern kørselskontrol	NATSARS(COV2)-ERC	324332	83 copies/ml
SeraCare	AccuPlex SARS-Cov-2 referencemateriale	0505-0126	10483977	83 copies/ml
Exact Diagnostic	SARS-CoV-2 Standard	COV019	20033001	83 copies/ml

Analytisk sensitivitet med arbejdsgangen for Aptima-reagensglasset til prøveoverførsel

Den bestemte 0,01 TCID₅₀/ml analytiske sensitivitet (detektionsgrænse) for Aptima SARS-CoV-2 assay blev bekræftet ved at bruge arbejdsgangen for klargøring af prøve til Aptima-reagensglasset til prøveoverførsel. Det blev bekræftet ved brug af inaktiveret, podet SARS-CoV-2 virus (USA-QA1/2020; BEI Resources; NR-52281) af prøveudtagningsmedier fra podning i negativ klinisk nasopharyngeal (NP), saltvand, flydende Amies og prøvetransportmedium (STM) ved at teste 20 replikater med ét reagenslot (tabel 3).

Tabel 3: LoD Bekræftelse med arbejdsgangen for Aptima prøveoverførsel

Target	Matrix	N gyldigt	N positivt	% Positivt	Gns kRLU	StdDev kRLU	%CV
Inaktiveret SARS-CoV-2 virus	NP podning	20	20	100 %	1063	61	5,8 %
	STM	20	20	100 %	1064	116	10,9 %
	Saltvand	20	20	100 %	1102	60	5,4 %
	Flydende Amies	20	20	100 %	1101	51	4,7 %

Inklusivitet

Inklusiviteten for Aptima SARS-CoV-2 assay blev vurderet ved at anvende *in silico* analyse af assay target capture oligoer, amplifikationsprimere og detektionsprober i relation til 9.896 SARS-CoV-2-sekvenser, som er tilgængelige i NCBI- og GISAID-gendatabaser. Enhver sekvens med manglende eller uklar sekvensinformation blev fjernet fra analysen, hvilket resulterede i 9.879 vurderede sekvenser for assayets første target region og 9.880 for den anden target region. *In silico* analysen viste 100 % homologi med assay oligoer for begge target systemer for 9.749 (98,5 %) af de vurderede sekvenser og 100 % homologi med assay oligoer for mindst ét target system for alle 9.896 sekvenser. Der var ingen vurderede sekvenser med identificerede fejltilpasninger, der var forudset til at påvirke binding eller præstation af begge target systemer.

Analytisk specificitet og mikrobiel interferens

Den analytiske specificitet for Aptima SARS-CoV-2 assay blev vurderet ved at teste 30 mikroorganismer, som repræsenterer almindelige respiratoriske patogener eller tæt relaterede arter (tabel 4). Bakterier blev testet ved 10^6 CFU/ml, og vira blev testet ved 10^5 TCID₅₀/ml, bortset fra hvor bemærket. Mikroorganismer blev testet med og uden forekomst af SARS-CoV-2 inaktiveret virus ved 3x LoD. Analytisk specificitet for Aptima SARS-CoV-2 assay var 100 % uden noget tegn på mikrobiel interferens.

I tillæg til mikroorganismetestning blev der udført *in silico* analyse for at vurdere assayets specificitet i relation til de mikroorganismer, som er anført i tabel 4. *In silico* analysen viste ingen mulig tværreaktivitet med nogen af de vurderede 112 GenBank-sekvenser.

Tabel 4: Aptima SARS-CoV-2 Analytisk Specifitet og Mikrobiel Interferens Mikroorganismer

Mikroorganisme	Koncentration	Mikroorganisme	Koncentration
Human coronavirus 229E	1E+5 TCID ₅₀ /ml	Parainfluenzavirus 1	1E+5 TCID ₅₀ /ml
Human coronavirus OC43	1E+5 TCID ₅₀ /ml	Parainfluenzavirus 2	1E+5 TCID ₅₀ /ml
Human coronavirus HKU1 ¹	1E+6 copies/ml	Parainfluenzavirus 3	1E+5 TCID ₅₀ /ml
Human coronavirus NL63	1E+4 TCID ₅₀ /ml	Parainfluenzavirus 4	1E+3 TCID ₅₀ /ml
SARS-coronavirus ¹	1E+6 copies/ml	Influenza A	1E+5 TCID ₅₀ /ml
MERS-coronavirus	1E+4 TCID ₅₀ /ml	Influenza B	2E+3 TCID ₅₀ /ml
Adenovirus (f.eks. C1 Ad. 71)	1E+5 TCID ₅₀ /ml	Enterovirus (f.eks. EV68)	1E+5 TCID ₅₀ /ml
Human Metapneumovirus (hMPV)	1E+6 TCID ₅₀ /ml	Rhinovirus	1E+4 TCID ₅₀ /ml
Respiratorisk syncytialvirus	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
Pooled human næseskyllevæske ² - til at repræsentere forskelligartet mikrobiel flora i den humane luftvej	Ikke relevant		

¹ Dyrket virus og helgenom-renset nukleinsyre til Human coronavirus HKU1 og SARS-coronavirus er ikke frit tilgængelige. Der blev brugt HKU1 og SARS-coronavirus IVT'er, svarende til ORF1ab-genregioner, targeteret af assayet, til at vurdere krydsreaktivitet og mikrobiel interferens.

² I stedet for at vurdere pooled human næseskyllevæske blev der udført testning af 30 individuelle negative kliniske NP podningsprøver for at repræsentere forskelligartet mikrobiel flora i den humane luftvej.

Klinisk præstation

Aptima SARS-CoV-2 assayets kliniske præstation blev vurderet i sammenligning med Panther Fusion SARS-CoV-2 assay (Hologic, Inc.) ved brug af et panel med kliniske restprøver. Der blev udtaget kliniske nasopharyngeale restprøver fra amerikanske patienter med tegn og symptomer på luftvejsinfektion til undersøgelsen.

Positive Percent Agreement (PPA) (Positiv procentoverensstemmelse) og Negative Percent Agreement (NPA) (Negativ procentoverensstemmelse) blev beregnet i forhold til Panther Fusion assayet som referenceresultatet, som vist i tabel 5. Aptima SARS-CoV-2 assay viste positive og negative overensstemmelser på henholdsvis 100 % og 98,2 %.

Nasopharyngeal vask/sugning, nasale sugninger, nasale podninger og nasale podninger af det midterste turbinat er acceptable prøver til at teste for virale luftvejsinfektioner. Præstationen med disse prøvetyper er dog ikke vurderet specifikt med Aptima SARS-CoV-2 assay.

Tabel 5: Aptima SARS-CoV-2 Clinical Agreement (Aptima SARS-CoV-2 Klinisk overensstemmelse)

		Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay	
		Positivt	Negativt
Aptima SARS-CoV-2 Assay	Positivt	50	1
	Negativt	0	54

Positiv procentoverensstemmelse: (95 % CI): 100 % (92,9 % – 100 %)

Negativ procentoverensstemmelse: (95 % CI): 98,2 % (90,4 % – 99,7 %)

Overordnet overensstemmelse: (95 % CI): 99,0 % (94,8 % – 99,8 %)

Klinisk præstation med konstrueret panel

Aptima SARS-CoV-2 assayets kliniske præstation ved brug af arbejdsgangen for klargøring af prøve til Aptima-reagensglasset til prøveoverførsel blev vurderet i sammenligning med et panel med konstruerede prøver. Til undersøgelsen blev der testet et panel med 115 kliniske nasopharyngeale restprøver ved brug både med arbejdsgange for Panther Fusion Specimen Lysis Tube og Aptima-reagensglasset til prøveoverførsel. Alle prøver blev udtaget fra amerikanske patienter med tegn og symptomer på luftvejsinfektion. Panelet bestod af 65 SARS-CoV-2 positive og 50 SARS-CoV-2 negative prøver. Af de 65 positive prøver var 40 med koncentrationer 0,5-2x LoD, og 25 var med koncentrationer 3-5x LoD ved brug af inaktiveret, dyrket SARS-CoV-2 virus (USA-QA1/2020; BEI Resources; NR-52281) som target.

Den Positive Percent Agreement (PPA) (Positiv procentoverensstemmelse) og Negative Percent Agreement (NPA) (Negativ procentoverensstemmelse) for begge arbejdsgange til klargøring af prøve blev beregnet i forhold til det forventede resultat af det konstruerede prøvepanel, som vist i tabel 6 for Aptima-reagensglasset til prøveoverførsel og tabel 7 for Specimen Lysis Tube. Detektionskarakteristika for de konstruerede prøver blev beregnet med targetkoncentration, som vist i tabel 8. Begge arbejdsgange til klargøring af prøve viste 100 % overensstemmelse for de vurderede paneler.

Tabel 6: Præstation af arbejdsgangen for Aptima-reagensglasset til prøveoverførsel i forhold til forventede resultater

		Forventet resultat		
		Positivt	Negativt	I alt
Resultat for Aptima prøveoverførsel	Positivt	65	0	65
	Negativt	0	50	50
	I alt	65	50	115

Overordnet overensstemmelse: 100 % (96,8 % – 100 %)

Positiv overensstemmelse: 100 % (94,4 % – 100 %)

Negativ overensstemmelse: 100 % (92,9 % – 100 %)

Tabel 7: Præstation af arbejdsgangen for Specimen Lysis Tube i forhold til forventede resultater

		Forventet resultat		
		Positivt	Negativt	I alt
Resultat for Specimen Lysis Tube	Positivt	65	0	65
	Negativt	0	50	50
	I alt	65	50	115

Overordnet overensstemmelse: 100 % (96,8 % – 100 %)

Positiv overensstemmelse: 100 % (94,4 % – 100 %)

Negativ overensstemmelse: 100 % (92,9 % – 100 %)

Tabel 8: Detektionskarakteristika for konstruerede prøver fra Nasopharyngeal podning

Targetkonc.	Arbejdsgang for prøve til Aptima-prøveoverførsel						Arbejdsgang for Specimen Lysis Tube-prøve					
	n Gyldigt	n Positivt	% Positivt	Gennemsnit kRLU	Std. Dev. kRLU	%CV	n Gyldigt	n Positivt	% Positivt	Gennemsnit kRLU	Std. 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

Klinisk præstation med naturligt inficerede positive prøver

Den kliniske præstation for SARS-CoV-2 assayet ved brug af arbejdsgangen for klargøring af prøve til Aptima-reagensglasset til prøveoverførsel blev vurderet i sammenligning med arbejdsgangen for Specimen Lysis Tube, der blev testet med både Aptima og Panther Fusion SARS-CoV-2 assay. Til undersøgelsen blev tre fortyndinger af podning fra 15 unikke SARS-CoV-2 positive nasopharyngeale prøver klargjort og behandlet med begge arbejdsgange. SARS-CoV-2 prøver blev tidligere bestemt til at være positive ved brug af non-Hologic molecular assay (ikke-Hologic molekylært assay).

Den positive procentoverensstemmelse mellem Aptima SARS-CoV-2 Assay ved brug af arbejdsgangene for Aptima-reagensglasset til prøveoverførsel og Specimen Lysis Tube var henholdsvis 97,5 % (87,1 % – 99,6 %) og 100 % (91,0 % – 100 %) ved sammenligning med Panther Fusion SARS-CoV-2 assay ved brug af arbejdsgangen for Specimen Lysis Tube som reference. Den positive procentoverensstemmelse af arbejdsgangen for Aptima-reagensglasset til prøveoverførsel var 95,0 % (83,5 % – 98,6 %) ved sammenligning med arbejdsgangen for Specimen Lysis Tube som reference.

Bibliografi

1. **World Health Organization.** Q&A on coronaviruses (COVID-19). March 9, 2020. World Health Organization Web site <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/q-a-coronaviruses>. Accessed March 10, 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. Updated March 10, 2020. Centers for Disease Control and Prevention Web site <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-in-us.html>. Accessed March 10, 2020.
4. **Centers for Disease Control and Prevention.** Coronavirus Disease 2019 Information for Travel. Page last reviewed March 8, 2020. Centers for Disease Control and Prevention Web site <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/travelers/index.html>. Accessed March 10, 2020.
5. **Centers for Disease Control and Prevention.** Coronavirus Disease 2019-(COVID-19) Situation Summary. Updated March 9, 2020. Centers for Disease Control and Prevention Web site <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/summary.html>. Accessed March 10, 2020.
6. **Clinical & Laboratory Standards Institute.** Document M29 Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. CLSI Web site <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Accessed September 2017.



Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

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

Teknisk support: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Yderligere kontaktoplysninger findes på www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Panther og Panther Fusion er varemærker og/eller registrerede varemærker, tilhørende Hologic, Inc. og/eller dets datterselskaber i USA og/eller andre lande.

Alle andre varemærker, der måtte findes i denne indlægsseddel, tilhører deres respektive ejere.

Dette produkt kan være omfattet af et eller flere amerikanske patenter, der kan findes på www.hologic.com/patents.

©2020 Hologic, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

AW-21491-1901 Rev. 002
2020-06