

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 RUSSIAN	DOCUMENT NUMBER AW-21491-201	REV 002
REV. RELEASE DATE: 06/29/2020		SIZE A	SHEET 1 OF 1

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

Для использования при диагностике *in vitro*.

Только для экспорта в США.

СОДЕРЖАНИЕ

Общая информация	2
Назначение	2
Резюме и характеристика тест-системы	2
Принципы метода	3
Предупреждения и меры предосторожности	4
Требования к хранению и обращению с реактивами	6
Отбор и хранение образцов	7
Транспортировка образцов	10
Система Panther	11
Предоставляемые реактивы и материалы	11
Необходимые материалы, приобретаемые отдельно	12
Процедура анализа на системе Panther System	13
Замечания относительно методики	17
Контроль качества	18
Интерпретация результатов	19
Ограничения	19
Аналитические характеристики тест-системы Panther SARS-CoV-2 Assay	20
Список литературы	26

Общая информация

Назначение

Aptima™ SARS-CoV-2 assay (тест-система Aptima™ SARS-CoV-2) — это тест-система для диагностики *in vitro*, основанная на методе амплификации нуклеиновой кислоты и предназначенная для качественного обнаружения РНК вируса SARS-CoV-2, выделенного и очищенного из образцов, взятых методом мазка из носоглотки (nasopharyngeal, NP), полости носа, средней носовой раковины и ротоглотки (oropharyngeal, OP), смыва или аспирата из носоглотки, либо аспирата из полости носа у лиц, соответствующих клиническим и (или) эпидемиологическим критериям COVID-19.

Результаты анализа предназначены для идентификации РНК вируса SARS-CoV-2. РНК SARS-CoV-2 обычно обнаруживается в образцах из верхних дыхательных путей в острой фазе инфекции. Положительные результаты являются свидетельством наличия РНК SARS-CoV-2; для определения статуса инфицированности пациента необходимо оценить клиническую корреляцию этого результата с анамнезом пациента и другой диагностической информацией. Положительные результаты не исключают наличия бактериальной инфекции или коинфекции с другими вирусами.

Отрицательные результаты не исключают наличия инфекции SARS-CoV-2 и не должны использоваться в качестве единственного основания для принятия решений о ведении пациентов. Отрицательные результаты должны оцениваться совместно с результатами клинического наблюдения, анамнезом пациента и эпидемиологической информацией.

Анализ Aptima SARS-CoV-2 assay на системах Panther™ и Panther Fusion™ предназначен для использования сотрудниками клинических лабораторий, прошедшими специальный инструктаж и обучение работе на системах Panther и Panther Fusion и выполнению диагностических процедур *in vitro*.

Резюме и характеристика тест-системы

Коронавирусы - крупное семейство вирусов, способных вызывать заболевания животных и человека. Известно, что некоторые коронавирусы вызывают респираторные инфекции человека, от простудных до более тяжелых заболеваний, например, ближневосточного респираторного синдрома (MERS) или тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС). Недавно открытый коронавирус SARS-CoV-2 вызывает ассоциированное коронавирусное заболевание COVID-19. Этот новый вирус и заболевание не были известны до начала вспышки в Ухане, Китай в декабре 2019 г.¹

Наиболее частыми симптомами COVID-19 являются лихорадка, утомляемость и сухой кашель. У некоторых пациентов могут быть ломота и боли, заложенность носа, насморк, боль в горле, возникшая потеря обоняния или вкуса, или диарея. Эти симптомы обычно носят легкий характер и начинаются постепенно. Некоторые люди заражаются, но симптомы заболевания у них не развиваются, а самочувствие не ухудшается. Это заболевание может распространяться посредством респираторных капель, поступающих из дыхательных путей при кашле или чихании инфицированного человека. Эти капли могут попасть в рот или нос людей, находящихся поблизости, или их можно вдохнуть.² Эти капли также могут оседать на предметах и поверхностях вокруг больного человека. Другие люди могут инфицироваться SARS-CoV-2, прикоснувшись к этим предметам или поверхностям, а затем к своим глазам, носу или рту.

Вирус, вызывающий COVID-19, заражает людей и легко распространяется от человека к человеку.³ С 11 марта 2020 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила вспышку COVID-19 пандемией.^{4,5}

Принципы метода

Анализ Aptima SARS-CoV-2 assay объединяет методы захвата мишени, транскрипционно-опосредованную амплификацию (ТМА) и двойной кинетический анализ (ДКА).

Образцы собирают и переносят в соответствующие транспортные пробирки для образцов. Транспортный раствор в этих пробирках высвобождает РНК-мишень и защищает ее от разложения при хранении. При выполнении анализа Aptima SARS-CoV-2 assay в лаборатории молекулы РНК-мишени выделяют из образцов с помощью олигомеров, захватывающих мишени, с использованием магнитных микрочастиц. Захватывающие олигомеры содержат последовательности, комплементарные определенным областям молекул-мишеней, а также последовательность остатков дезоксиаденозина. Для каждой мишени используют отдельный захватывающий олигомер. Во время стадии гибридизации области захватывающих олигомеров, специфичные к конкретным последовательностям, связываются с этими областями молекул-мишеней. Затем комплекс «захватывающий олигомер - мишень» выделяют из раствора путем снижения температуры реакционной смеси до комнатного уровня. Это снижение температуры позволяет произойти гибридизации между дезоксиаденозиновой областью захватывающего олигомера и молекулами полидезокситимидина, которые ковалентно связаны с магнитными частицами. Микрочастицы, содержащие захваченные молекулы-мишени, собирают на стенке реакционной пробирки с использованием магнитов, а надосадочную жидкость аспирируют. Частицы промывают для удаления остаточного матрикса образца, который может содержать ингибиторы реакции амплификации. После завершения этапов захвата мишени можно выполнять амплификацию образцов.

Анализ амплификации мишени основан на способности комплементарных олигонуклеотидных праймеров к специфическому отжигу и возможности ферментативной амплификации нуклеотидных цепей-мишеней. Тест-система Aptima SARS-CoV-2 assay обеспечивает репликацию специфических областей РНК вируса SARS-CoV-2. Обнаружение последовательностей продукта амплификации РНК (ампликонов) производится методом гибридизации нуклеиновых кислот. Одноцепочечные хемилюминесцентные нуклеотидные зонды, уникальные и комплементарные областям каждого ампликона-мишени и ампликона внутреннего контроля (ВК), метят молекулами различных сложных эфиров акридиния (АЕ). Зонды, меченые АЕ, объединяются с ампликонами с образованием стабильных гибридов. Реагент выделения отделяет гибридизованные зонды от негибридизованных, исключая образование сигнала за счет негибридизованных зондов. На этапе обнаружения свет, излучаемый мечеными гибридизованными молекулами, измеряют как фотонные сигналы на люминометре и регистрируют в относительных световых единицах (RLU). В ДКА различия кинетических профилей меченых зондов позволяют дифференцировать сигнал. Кинетические профили получают из результатов измерений выхода фотонов в период считывания этапа обнаружения. Реакция обнаружения хемилюминесцентного сигнала ВК характеризуется очень быстрой кинетикой и относится к «быстрозатухающему» кинетическому типу. Реакция обнаружения хемилюминесцентного сигнала SARS-CoV-2 является сравнительно более медленной и относится к «медленнозатухающему» кинетическому типу. Результаты анализа определяют по пороговому значению, учитывая общее значение RLU и тип кинетической кривой.

В анализе Aptima SARS-CoV-2 assay выполняется амплификация и обнаружение двух консервативных регионов гена ORF1ab в одной реакции, с одним типом кинетики «медленнозатухающего сигнала». Два региона не дифференцируются, амплификация любого из них или обоих приведет к получению сигнала, измеряемого в относительных световых единицах (RLU). Результаты анализа определяют по пороговому значению, учитывая общее значение RLU и тип кинетической кривой.

Предупреждения и меры предосторожности

- A. Для использования при диагностике *in vitro*. Внимательно прочтите весь листок-вкладыш и *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (руководство оператора системы Panther/Panther Fusion).
- B. Эти процедуры должен выполнять только персонал, получивший соответствующую подготовку по применению данного анализа и обращению с потенциально инфицированными материалами. В случае разлива немедленно выполните дезинфекцию, следуя соответствующим методикам, принятым в учреждении.
- C. Обращайтесь со всеми образцами как с инфицированными, используя методики безопасной лабораторной деятельности. См. временное руководство по биологической безопасности в лабораториях при обращении и работе с образцами, ассоциированными с 2019-nCoV. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>.
- D. Образцы могут быть инфицированными. При выполнении этого анализа применяйте общепринятые меры предосторожности. Директором лаборатории должны быть утверждены надлежащие методы обращения и утилизации. К выполнению этой диагностической процедуры может быть допущен только персонал, имеющий достаточную подготовку для работы с инфицированными материалами.⁶
- E. При подозрении на инфекцию SARS-CoV-2 на основании действующих критериев клинического скрининга, рекомендованных органами общественного здравоохранения, отбор образцов следует выполнять с соблюдением соответствующих мер предосторожности по контролю распространения инфекций.
- F. Используйте только поставляемую или указанную одноразовую лабораторную посуду.
- G. При отборе образцов и работе с образцами от лиц с подозрением на инфекцию SARS-CoV-2 используйте соответствующие средства индивидуальной защиты, описанные во временном руководстве по биологической безопасности в лабораториях при обращении и работе с образцами, ассоциированными с новым коронавирусом-2019 (2019-nCoV) CDC.
- H. При работе с образцами и реактивами используйте одноразовые неопудренные перчатки, средства защиты глаз и лабораторные халаты. Тщательно мойте руки после работы с образцами и реактивами.
- I. Утилизируйте все материалы, контактировавшие с образцами и реактивами, в соответствии с действующими национальными, международными и региональными правилами.

- J. Даты истечения срока годности, приведенные на пробирках Panther Fusion Specimen Lysis Tubes и Hologic Specimen Lysis Tubes (пробирки для лизиса образцов), комплекте Aptima Multitest Collection Kit и Aptima Unisex Specimen Collection Kit (комплект для сбора Aptima) и комплекте Aptima Specimen Transfer Kit (комплект для переноса образца Aptima), относятся к моменту переноса образца в пробирку, а не к моменту анализа образца. Образцы, собранные/перенесенные в любое время до этой даты истечения срока годности, подходят для анализа, при условии, что их транспортировка и хранение осуществлялись в соответствии с относящимся к ним листком-вкладышем, даже если этот срок годности истек.
- K. При транспортировке образцов соблюдайте надлежащие условия хранения, чтобы обеспечить их целостность. Стабильность образцов в условиях транспортировки, отличных от рекомендованных, не оценивали.
- L. Избегайте перекрестного загрязнения на этапах обработки образцов. Образцы могут содержать чрезвычайно высокие концентрации вируса или других организмов. Убедитесь, что контейнеры для образцов не соприкасаются друг с другом, и утилизируйте использованные материалы, не пронося их над открытыми контейнерами. Меняйте перчатки при соприкосновении с образцом.
- M. Не используйте реактивы и контрольные материалы после истечения срока годности.
- N. Храните компоненты набора для анализа в рекомендованных условиях. Дополнительную информацию см. в разделе «Требования к хранению реактивов и обращению с ними» (страница 6), а также в разделе «Процедура анализа на системе Panther» (страница 13).
- O. Не смешивайте реактивы или жидкости для анализа. Не дозакраивайте емкости с реактивами или жидкостями; система Panther проверяет уровень реактивов.
- P. Не допускайте загрязнения реактивов микроорганизмами и рибонуклеазами.
- Q. Не используйте в приборе материал, который может содержать тиоцианат гуанидиния или любые материалы, содержащие гуанидин. В сочетании с гипохлоритом натрия могут образовываться высокорезактивные и (или) токсичные соединения.
- R. Некоторые реактивы в этом наборе маркированы символами риска и безопасности.

**Реагент выделения****БОРНАЯ КИСЛОТА 1–5 %****ОСТОРОЖНО**

H315 — вызывает раздражение кожи

Требования к хранению и обращению с реактивами

- A. Следующие реактивы стабильны при температуре 2 °C–8 °C (хранение в холодильнике):
- Реагент для амплификации Aptima SARS-CoV-2
 - Ферментный реактив Aptima SARS-CoV-2
 - Зондовый реагент Aptima SARS-CoV-2
 - Внутренний контроль Aptima SARS-CoV-2
 - Положительный контроль Aptima SARS-CoV-2
 - Отрицательный контроль Aptima SARS-CoV-2
- B. Следующие реактивы стабильны при температуре 2 °C–30 °C:
- Раствор для разведения реагента для амплификации Aptima SARS-CoV-2
 - Раствор для разведения ферментного реактива Aptima SARS-CoV-2
 - Раствор для разведения зондового реагента Aptima SARS-CoV-2
 - Реагент выделения Aptima SARS-CoV-2
- C. Следующие реактивы стабильны при температуре 15 °C–30 °C (хранение при комнатной температуре):
- Реагент захвата мишени Aptima SARS-CoV-2
 - Промывающий раствор Aptima
 - Буфер для приготовления раствора деактивации Aptima
 - Масляный реактив Aptima
- D. Рабочий реагент захвата мишени (wTCR) стабилен в течение 30 дней при хранении при температуре 15 °C–30 °C. Не охлаждать.
- E. После разведения ферментный реактив, реагент для амплификации и зондовый реагент стабильны в течение 30 дней при хранении при температуре 2 °C–8 °C.
- F. Утилизируйте все неиспользованные разведенные реактивы и wTCR через 30 дней или после истечения срока годности основной серии, в зависимости от того, какое из этих событий наступит раньше.
- G. Контрольные материалы стабильны до даты, указанной на флаконах.
- H. Реактивы, хранящиеся в системе Panther, стабильны в течение 72 часов.
- I. Зондовый реагент и разведенный зондовый реагент являются светочувствительными. Храните реактивы в защищенном от света месте. Указанная стабильность разведенных растворов основана на результатах эксперимента с 12-часовым воздействием двух 60-Вт люминесцентных ламп на разведенный зондовый реагент с расстояния 17 дюймов (43 см) при температуре менее 30 °C. Воздействие света на растворенный зондовый реагент следует ограничивать соответствующим уровнем.
- J. При нагревании до комнатной температуры некоторые контрольные пробирки могут выглядеть мутными или содержащими осадок. Мутность или осадок в контрольных материалах не влияют на эксплуатационные характеристики контрольного материала.

Контрольные материалы можно использовать независимо от того, прозрачные они или мутные/содержат осадок. Если желательно использовать прозрачные контрольные материалы, можно ускорить солиubilизацию, инкубируя их при температуре вблизи верхней границы диапазона комнатной температуры (15 °C–30 °C).

К. Не замораживайте реактивы.

Отбор и хранение образцов

Образцы — это клинический материал, полученный от пациента и помещенный в соответствующую транспортную систему. К числу образцов, пригодных для анализа Aptima SARS-CoV-2 assay относятся мазки из носоглотки, полости носа, средней носовой раковины и ротоглотки, образцы смыва или аспирата из носоглотки, либо аспирата из носа в транспортной среде для вирусов (VTM/UTM), физиологическом растворе, жидкой среде Амиеса или транспортной среде для образцов (STM).

Пробы — это более широкий термин, описывающий любой материал, подлежащий исследованию в системе Panther System, включая образцы, образцы, перенесенные в пробирку Panther Fusion для лизиса образцов, и контрольные материалы.

***Примечание.** Обращайтесь со всеми образцами так, как будто они содержат потенциально инфицирующих возбудителей. Соблюдайте общепринятые меры предосторожности.*

***Примечание.** Будьте осторожны, чтобы не допустить перекрестного загрязнения при обработке образцов. Например, утилизируйте использованный материал, не пронося его над открытыми пробирками.*

Отбор образца методом мазка

Выполните отбор образцов методом мазков из носоглотки, полости носа и ротоглотки, в соответствии со стандартной методикой, с использованием тупферов с полиэфирным, вязким или нейлоновым тампоном. Незамедлительно поместите образец на тампоне в 3 мл VTM или UTM. Кроме того, образец на тампоне можно переносить в физиологическом растворе, жидкой среде Амиеса или STM. Для отбора проб мазков из ротоглотки и полости носа можно использовать многофункциональный комплект для сбора образцов на основе мазков Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit.

После сбора образцы, собранные в VTM/UTM, можно хранить при температуре 2 °C–8 °C до 96 часов перед переносом в пробирку Specimen Lysis Tube или в транспортные пробирки, как описано ниже в разделе «Обработка образца». Оставшийся объем образца можно хранить при температуре ≤-70 °C.

После сбора, образцы в пробирке Aptima Multitest Tube можно хранить при температуре 2 °C–30 °C до 6 дней.

***Примечание.** Рекомендуется хранить образцы, перенесенные в пробирки Aptima Multitest Tube, в закупоренном виде в вертикальном положении в штативе.*

Можно использовать следующие виды VTM/UTM.

- Составы Remel MicroTest M4, M4RT, M5 или M6
- Универсальная транспортная среда Copan
- Универсальная транспортная среда для вирусов BD

Примечание. Не используйте среду, которая может содержать тиоцианат гуанидиния или любые материалы, содержащие гуанидин.

Сбор образцов методом смыва или аспирации из носоглотки, либо аспирации из носа

Соберите образцы смыва или аспирата из носоглотки, либо аспирата из носа в соответствии со стандартными методиками.

Обработка образца с использованием пробирки Panther Fusion Specimen Lysis Tube

- A. Перед испытанием на системе Panther перенесите 500 мкл собранного образца* в пробирку Panther Fusion Specimen Lysis Tube.

***Примечание.** При анализе замороженного образца перед обработкой оставьте образец до достижения комнатной температуры.

Примечание. При использовании программного обеспечения для анализа открытых пробирок Aptima SARS-CoV-2 подготовьте пробирку для лизиса образцов Panther Fusion Specimen Lysis Tube, как описано ниже в разделе «Обработка проб с использованием пробирки для лизиса образцов Hologic Specimen Lysis Tube с завинчивающейся крышкой».

Обработка проб с использованием пробирки для лизиса образцов Hologic Specimen Lysis Tube с завинчивающейся крышкой

- A. Откройте пробирку Hologic Specimen Lysis Tube и сохраните крышку.
- B. Перед испытанием на системе Panther перенесите 500 мкл собранного образца в пробирку Hologic Specimen Lysis Tube.
- C. Необходимо закупорить пробирку и аккуратно перевернуть три раза, чтобы обеспечить инактивацию вируса и гомогенный состав смеси.
- D. Чтобы избежать контакта с верхней частью пробирки, ослабьте крышку и поместите пробирку в штатив для проб.
- E. Снимите и выбросьте крышку пробирки. Осмотрите пробирку с образцом. Если в составе смеси присутствуют пузырьки, осторожно удалите их из пробирки (например, используя кончик стерильного тампона или аналогичный метод).
- F. Зафиксируйте пробирку с образцом на штативе держателем и загрузите штатив в прибор.

Примечание. Обработка проб с использованием пробирки для лизиса образцов Hologic Specimen Lysis Tube предназначена для использования с программным обеспечением для анализа открытых пробирок Aptima SARS-CoV-2.

Обработка проб с использованием пробирки для лизиса образцов Custom Specimen Lysis Tube

- A. В стерильную или нестерильную обычную пробирку из силиконизированного стекла, полипропиленовой пластмассы или аналогичного материала с наружным диаметром 12–13 мм и высотой 75–100 мм помещают аликвоту 0,78 мл ± 0,07 мл объемного STM, используя пипетку или дозатор-репитер.

Примечание. Если пробирки подготовлены, закупорьте пробирку и храните ее при температуре 15 °C–30 °C до обработки образца.

- B. Откройте пробирку Custom Specimen Lysis Tube, содержащую STM, и сохраните крышку.
- C. Перед испытанием на системе Panther перенесите 500 мкл собранного образца в пробирку Custom Specimen Lysis Tube, содержащую STM.
- D. Необходимо закупорить пробирку и аккуратно перевернуть три раза, чтобы обеспечить инактивацию вируса и гомогенный состав смеси.
- E. Чтобы избежать контакта с верхней частью пробирки, ослабьте крышку и поместите пробирку в штатив для проб.
- F. Снимите и выбросьте крышку пробирки. Осмотрите пробирку с образцом. Если в составе смеси присутствуют пузырьки, осторожно удалите их из пробирки (например, используя кончик стерильного тампона или аналогичный метод).
- G. Зафиксируйте пробирку с образцом на штативе держателем и загрузите штатив в прибор.

Примечание. Обработка проб с использованием пробирки для лизиса образцов Custom Specimen Lysis Tube предназначена для использования с программным обеспечением для анализа открытых пробирок Aptima SARS-CoV-2.

Обработка проб с использованием пробирки Aptima Specimen Transfer Tube

- A. Перед испытанием на системе Panther перенесите 1 мл собранного образца* в пробирку Aptima Specimen Transfer Tube**.

***Примечание.** При анализе замороженного образца перед обработкой оставьте образец до достижения комнатной температуры.

****Примечание.** Либо можно использовать новую пробирку Aptima Multitest Tube или Aptima Unisex Tube.

- B. Плотно закупорьте пробирку Aptima Specimen Transfer Tube.
- C. Аккуратно переверните пробирку 2–3 раза для полного перемешивания образца.

Примечание. Пробирку Aptima Specimen Transfer Tube нельзя испытать в системе, использующей программное обеспечение для анализа открытых пробирок Aptima SARS-CoV-2.

Обработка проб, собранных с помощью комплекта Aptima Multitest Collection Kit

- A. После помещения собранного образца* в пробирку Aptima Multitest Tube с помощью комплекта Aptima Multitest Collection Kit, дополнительная обработка не требуется.

***Примечание.** При анализе замороженного образца перед обработкой оставьте образец до достижения комнатной температуры.

Примечание. Для системы, использующей программное обеспечение для анализа открытых пробирок Aptima SARS-CoV-2, перенесите собранный образец из пробирки Aptima Multitest Tube в пробирку для лизиса Hologic Specimen Lysis Tube или Custom Specimen Lysis Tube, как описано выше в разделах по обработке проб.

Хранение проб

- А. Пробы, находящиеся на борту системы Panther, можно архивировать для дополнительного анализа, выполняемого в более позднее время.
- В. Хранение проб до или после анализа
1. Образцы в пробирках Aptima Multitest Tube, Aptima Specimen Tube или Specimen Lysis Tube должны храниться в вертикальном положении в штативе при следующих условиях.
 - При 2 °C–30 °C до 6 дней
 2. Пробы должны быть закрыты новой и чистой пластмассовой пленкой или фольгой.
 3. Если проанализированные пробы необходимо заморозить или перевезти, снимите проникаемые колпачки и закройте пробирки с образцами новыми непроницаемыми колпачками. Если после анализа необходима отправка проб в другое место, необходимо поддерживать указанные температуры. Перед снятием колпачка необходимо центрифугировать транспортные пробирки с образцами в течение 5 минут при 420 единицах относительного центробежного ускорения (RCF), чтобы перенести всю жидкость в нижнюю часть пробирки. Избегайте образования брызг и перекрестного загрязнения.

Примечание. *Закрытие пробирок Fisherbrand™ VersaClosure™ не должно использоваться при заморозке или транспортировке проб.*

Транспортировка образцов

Храните образцы в условиях, описанных в разделе «Отбор и хранение образцов» на страница 7.

Примечание. *Образцы должны поставляться в соответствии с применимыми национальными, международными и региональными транспортными нормативными и правовыми требованиями.*

Система Panther

Ниже перечислены реактивы для анализа Aptima SARS-CoV-2 assay на системе Panther. Кроме того, рядом с названием реактива указаны символы идентификации реактива.

Предоставляемые реактивы и материалы

Набор для анализа Aptima SARS-CoV-2 PRD-06419

250 тестов (2 коробки)

Коробка Aptima SARS-CoV-2 для хранения в холодильнике (коробка 1 из 2)
(хранить при температуре от 2 °C до 8 °C по получении)

Символ	Компонент	Количество Набор на 250 тестов
A	Реагент для амплификации Aptima SARS-CoV-2 <i>Неинфекционные нуклеиновые кислоты, высушенные в буферном растворе, содержащем <5 % наполнителя.</i>	1 флакон
E	Ферментный реактив Aptima SARS-CoV-2 <i>Обратная транскриптаза и РНК-полимераза, высушенные в буферном растворе HEPES, содержащем <10 % наполнителя.</i>	1 флакон
P	Зондовый реагент Aptima SARS-CoV-2 <i>Неинфекционные хемилюминесцентные ДНК-зонды, высушенные в сукцинатном буферном растворе, содержащем <5 % детергента.</i>	1 флакон
IC	Внутренний контроль Aptima SARS-CoV-2	1 флакон

Коробка Aptima SARS-CoV-2 для хранения при комнатной температуре (коробка 2 из 2)
(хранить при температуре 15 °C до 30 °C до получения)

Символ	Компонент	Количество Набор на 250 тестов
AR	Раствор для разведения реагента для амплификации Aptima SARS-CoV-2 <i>Водный раствор, содержащий консерванты.</i>	1 x 27,7 мл
ER	Раствор для разведения ферментного реактива Aptima SARS-CoV-2 <i>Буферный раствор HEPES, содержащий поверхностно-активное вещество и глицерин.</i>	1 x 11,1 мл
PR	Раствор для разведения зондового реагента Aptima SARS-CoV-2 <i>Сукцинатный буферный раствор, содержащий <5 % детергента.</i>	1 x 35,4 мл
S	Реагент выделения Aptima SARS-CoV-2 <i>600 мМ боратный буферный раствор, содержащий поверхностно-активное вещество.</i>	1 x 108 мл

Коробка Aptima SARS-CoV-2 для хранения при комнатной температуре (коробка 2 из 2)
(продолжение)

Символ	Компонент	Количество Набор на 250 тестов
TCR	Реагент захвата мишени Aptima SARS-CoV-2 <i>Буферный солевой раствор, содержащий твердую фазу и захватывающие олигомеры.</i>	1 x 54 мл
	Втулки для разведения	3
	Лист штрих-кодов основной серии	1 лист

Необходимые материалы, приобретаемые отдельно

Примечание. Материалы, поставляемые компанией Hologic, с приведенными номерами по каталогу, если не указано иное.

	<u>Номер по каталогу №</u>
Система Panther	303095
Комплект жидкостей для анализа Aptima <i>(Промывающий раствор Aptima, буфер для приготовления раствора деактивации Aptima и масляный реактив Aptima).</i>	303014 (1000 тестов)
Набор для автоматического обнаружения Aptima Auto Detect	303013 (1000 тестов)
Многопробирочные блоки (MTU)	104772-02
Набор пакетов для утилизации Panther	902731
Чехол емкости для утилизации Panther	504405
Или набор для выполнения циклов Panther Run Kit <i>содержит MTU, пакеты для утилизации, чехлы емкостей для утилизации, жидкости для анализа и материалы для автоматического обнаружения</i>	303096 (5000 тестов)
Наконечники, проводящие, чувствительные к жидкости, 1000 мкл	10612513 (Tecan)
Набор с контрольными материалами Aptima SARS-CoV-2 <i>PC — положительный контроль Aptima SARS-CoV-2. Неинфекционные нуклеиновые кислоты в буферном растворе, содержащем <5 % наполнителя. Количество 5 x 1,7 мл</i> <i>NC — отрицательный контроль Aptima SARS-CoV-2. Буферный раствор, содержащий <5 % детергента. Количество 5 x 1,7 мл</i>	PRD-06420
Многофункциональный комплект для сбора образцов на основе мазков Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit	PRD-03546
Комплект для переноса образца Aptima Specimen Transfer Kit	301154C
Комплект для переноса образца Aptima Specimen Transfer Kit - с возможностью печати	PRD-05110
Комплект для сбора образцов на основе мазков Aptima Unisex Swab Specimen Collection Kit для эндоцервикальных и мужских уретральных мазков	301041

	<u>Номер по каталогу №</u>
Пробирки Panther Fusion для лизиса образцов Panther Fusion Specimen Lysis Tubes, 100/пакет <i>пробирка с проницаемым колпачком, содержащая 0,71 мл STM</i>	PRD-04339
Пробирка для лизиса образцов Hologic Specimen Lysis Tube, 100, каждая <i>пробирка с завинчивающимся колпачком, содержащая 0,71 мл STM</i>	PRD-06554
Пробирка для лизиса образцов Hologic Specimen Lysis Tube, 1200, каждая <i>пробирка с завинчивающимся колпачком, содержащая 0,71 мл STM</i>	PRD-06660
Среда для транспортировки образцов, 1 флакон, 80 мл	PRD-04423
Среда для транспортировки образцов, 1 флакон, 120 мл	PRD-06657
Раствор гипохлорита натрия, от 5 % до 7 % (от 0,7 М до 1,0 М)	—
Одноразовые перчатки	—
Сменные непроницаемые колпачки	504415
Fisherbrand VersaClosure Tube Closures*, 1000 в упаковке <i>* одноразовая крышка для пробирки для лизиса образцов Hologic Specimen Lysis Tube (только PRD-06554) после испытания</i>	02-707
Сменные колпачки для наборов на 250 тестов <i>Растворы для разведения реагента для амплификации и зондового реагента CL0041 (100 колпачков) Раствор для разведения ферментного реактива 501616 (100 колпачков) Реагент TCR и реагент выделения CL0040 (100 колпачков)</i>	—

Дополнительные материалы

	<u>Номер по каталогу №</u>
Усилитель действия гипохлорита для чистки Hologic <i>для повседневной чистки поверхностей и оборудования</i>	302101
Встряхиватель для пробирок	—

Процедура анализа на системе Panther System

Примечание. Дополнительную информацию о процедурах см. в руководстве оператора Panther/Panther System.

A. Подготовка рабочей зоны

Очистите рабочие поверхности, на которых будет производиться подготовка реактивов и проб. Протрите рабочие поверхности раствором гипохлорита натрия с концентрацией от 2,5 % до 3,5 % (от 0,35 М до 0,5 М). Оставьте раствор гипохлорита натрия в контакте с поверхностями не менее чем на 1 минуту, а затем промойте водой. Не допускайте высыхания раствора гипохлорита натрия. Накройте поверхность стола, на котором будут готовиться реактивы и пробы, чистым гигроскопическим покрытием для лабораторных столов на пластмассовой основе.

В. Разведение реактивов / подготовка нового набора

Примечание. Разведение реактивов необходимо выполнить до начала любых работ с системой Panther System.

1. Для разведения реагента для амплификации, ферментного реактива и зондового реагента соедините флакон лиофилизированного реактива с флаконом раствора для разведения. Если растворы для разведения хранились в холодильнике, перед использованием дождитесь, пока они нагреются до комнатной температуры.
 - a. Подберите для каждого раствора для разведения соответствующий лиофилизированный реагент. Прежде чем вставлять втулку для разведения, убедитесь, что раствор для разведения и реактив имеют совпадающие цвета этикеток.
 - b. Проверьте номера серий на листе штрих-кода основной серии, чтобы убедиться, что сопоставлены надлежащие реактивы.
 - c. Откройте флакон с лиофилизированным реактивом и плотно вставьте конец втулки для разведения с насечкой в отверстие флакона (рисунок 1, шаг 1).
 - d. Откройте соответствующий раствор для разведения и положите колпачок на чистую, накрытую рабочую поверхность.
 - e. Удерживая флакон с раствором для разведения на столе, плотно вставьте другой конец втулки для разведения в отверстие флакона (рисунок 1, шаг 2).
 - f. Медленно переверните соединенные флаконы. Позвольте раствору стечь из его флакона в стеклянный флакон (рисунок 1, шаг 3).
 - g. Тщательно перемешайте содержимое стеклянного флакона путем его вращения (рисунок 1, шаг 4).
 - h. Подождите, пока лиофилизированный реактив не растворится, затем снова переверните собранные флаконы, удерживая их под углом 45°, чтобы свести к минимуму образование пены (рисунок 1, шаг 5). Позвольте всей жидкости стечь обратно в пластмассовый флакон.
 - i. Утилизируйте манжету для разбавления и стеклянный флакон (рисунок 1, шаг 6).
 - j. Снова закройте пластмассовый флакон колпачком. Запишите инициалы оператора и дату разведения на этикетке (рисунок 1, шаг 7).
 - k. Утилизируйте манжету для разбавления и стеклянный флакон (рисунок 1, шаг 8).

Вариант: Допускается дополнительное перемешивание реагента для амплификации, ферментного реактива и зондового реагента на встряхивателе для пробирок. Реактивы можно перемешивать, поместив закупоренный пластмассовый флакон на встряхиватель для пробирок, настроенный на 20 об/мин (или эквивалентный показатель), как минимум на 5 минут.

Предупреждение! Избегайте образования пены при разведении реактивов. Пена нарушает определение уровня в системе Panther System.

Предупреждение! Для достижения ожидаемых результатов анализа необходимо обеспечить тщательное перемешивание аналитических реактивов.

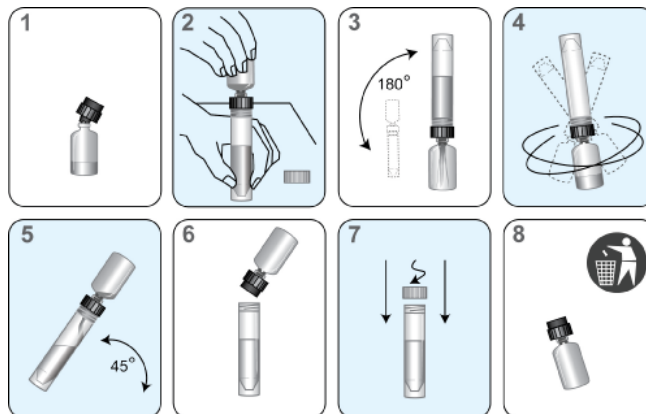


Рисунок 1. Процесс восстановления для системы Panther System

2. Подготовьте рабочий реагент захвата мишени (wTCR):
 - a. Подберите соответствующие пары флаконов реагента захвата мишени и внутреннего контроля (IC).
 - b. Проверьте номера серий реактивов в таблице штрих-кодов основной серии, чтобы убедиться, что в пары составлены соответствующие реактивы из комплекта.
 - c. Откройте флакон с реагентом захвата мишени и положите колпачок на чистую, накрытую рабочую поверхность.
 - d. Откройте флакон с внутренним контролем (IC) и вылейте все его содержимое во флакон с реагентом захвата мишени. Скорее всего, во флаконе с внутренним контролем (IC) останется небольшое количество жидкости.
 - e. Закройте колпачком флакон с реагентом захвата мишени и осторожно раскрутите раствор, чтобы перемешать содержимое. Избегайте образования пены на этом этапе.
 - f. Запишите на этикетке инициалы оператора и текущую дату.
 - g. Утилизируйте флакон и колпачок внутреннего контроля (IC).
3. Подготовьте реагент выделения
 - a. Проверьте номер серии на флаконе с реагентом, чтобы убедиться, что он совпадает с номером серии на листе штрих-кодов основной серии.
 - b. Запишите на этикетке инициалы оператора и текущую дату.

Примечание. Тщательно перемешивайте все реактивы, осторожно переворачивая их, прежде чем загружать их в систему. Избегайте образования пены при переворачивании реактивов.

- C. Подготовка предварительно разведенных реактивов
 1. Ранее разведенные реагент для амплификации, ферментный реактив и зондовый реагент должны нагреться до комнатной температуры (15–30 °C) до начала анализа.

Вариант: Реактивы можно довести до комнатной температуры, поместив разведенный реагент для амплификации, ферментный реактив и зондовый реагент на встряхиватель для пробирок, настроенный на 20 об/мин (или эквивалентный показатель), как минимум на 25 минут.

2. Если разведенный зондовый реагент содержит осадок, который не растворяется при комнатной температуре, нагрейте закупоренный флакон до температуры, не превышающей 62 °С, на 1–2 минуты. После этого этапа нагревания зондовый реагент можно использовать даже при наличии остаточного осадка. Перед загрузкой в систему перемешайте зондовый реагент путем переворачивания, соблюдая осторожность во избежание образования пены.
 3. Тщательно перемешивайте каждый реагент, осторожно переворачивая, прежде чем загрузить его в систему. Избегайте образования пены при переворачивании реактивов. Этот этап не требуется при загрузке реактивов в систему непосредственно после перемешивания на встряхивателе для пробирок.
 4. Не доливайте реактивы во флаконы. Флаконы с долитыми реактивами будут опознаны и отклонены системой Panther System.
 5. *Для достижения ожидаемых результатов анализа необходимо обеспечить тщательное перемешивание аналитических реактивов.*
- D. Обработка проб с использованием пробирки для лизиса образцов Panther Fusion Specimen Lysis Tube или пробирки Aptima Specimen Transfer Tube.

Примечание. *Перед загрузкой образцов в систему Panther выполните подготовку образцов в соответствии с инструкциями по обработке образцов в разделе «Отбор и хранение образцов».*

1. Проверьте пробирки с пробами, прежде чем загружать их в штатив. Если пробирка с пробой содержит пузырьки или объем жидкости менее обычного, аккуратно постучите по дну пробирки, чтобы содержимое стекло на дно.

Примечание. *При использовании проб, перемещенных в пробирку Panther Fusion Specimen Lysis Tube или в пробирку Aptima Specimen Transfer Tube, чтобы избежать ошибки обработки, убедитесь в достаточности объема образца, добавляемого в пробирку. При добавлении в пробирку достаточного количества собранного образца, полученного объема хватит для выполнения 3 выделений нуклеиновой кислоты.*

- E. Обработка проб с использованием пробирки для лизиса образцов Hologic Specimen Lysis Tube или Custom Specimen Lysis Tube

1. Подготовьте образцы в соответствии с инструкциями по обработке образцов в разделе «Отбор и хранение образцов».

Примечание. *При использовании проб, перемещенных в пробирку для лизиса образцов Hologic Specimen Lysis Tube или Custom Specimen Lysis Tube, чтобы избежать ошибки обработки, убедитесь в достаточности объема образца, добавляемого в пробирку. При добавлении в пробирку достаточного количества собранного образца полученного объема хватит для выполнения двух выделений нуклеиновой кислоты.*

Примечание. *При использовании программного обеспечения для анализа открытых пробирок Aptima SARS-CoV-2 снимите колпачки с пробирок положительного и отрицательного контроля перед загрузкой в систему Panther.*

- F. Подготовка системы

1. Настройте систему в соответствии с инструкциями в *руководстве оператора системы Panther/Panther Fusion* и *Замечания относительно методики*. Убедитесь, что используются штативы для реактивов соответствующего размера и адаптеры TCR.
2. Загрузите пробы.

Замечания относительно методики

A. Контроли

1. Для надлежащей работы с программным обеспечением Aptima Assay для системы Panther System требуется одна пара контрольных образцов. Положительный и отрицательный контроли Aptima SARS-CoV-2 можно загружать в любое положение штатива или на любую дорожку отделения проб системы Panther System. Пипетирование образцов начнется в случае выполнения одного из следующих двух условий:
 - a. В настоящее время система обрабатывает пару контролей.
 - b. В системе зарегистрированы действительные результаты для контролей.
2. После пипетирования и обработки пробирок с контролями с помощью специального набора реагентов можно запускать анализ образцов пациентов с помощью связанного набора в течение 24 часов, за исключением следующих случаев:
 - a. Контрольные результаты недействительны.
 - b. Связанный набор реактивов анализа удален из системы.
 - c. Превышен предел стабильности связанного набора реактивов анализа.
3. Каждую пробирку с контролем Aptima можно проанализировать один раз. Попытки повторного пипетирования из пробирки могут привести к ошибкам обработки.
4. Пипетирование образцов пациентов начинается в случае выполнения одного из следующих двух условий:
 - a. В системе зарегистрированы действительные результаты для контролей.
 - b. В настоящее время система обрабатывает пару контролей.

B. Температура

За комнатную температуру принимается температура от 15 °C до 30 °C.

C. Пудра для перчаток

Как и в любой системе реактивов, избыток пудры на некоторых перчатках может вызвать загрязнение открытых пробирок. Рекомендуется использовать неопудренные перчатки.

D. Лабораторный протокол мониторинга контаминации системы Panther System

Существует большое количество факторов, специфических для конкретных лабораторий, которые могут приводить к контаминации. К таким факторам относятся, в том числе, объем анализов, рабочий процесс, распространенность заболевания и другая деятельность в лаборатории. Эти факторы следует принимать во внимание при установлении частоты мониторинга контаминации. Интервалы мониторинга контаминации следует устанавливать на основании практики и методик работы каждой лаборатории.

Для мониторинга контаминации в лаборатории можно выполнять следующую процедуру с использованием комплекта Aptima Unisex Swab Specimen Collection Kit for Endocervical and Male Urethral (комплект для сбора образцов на основе мазков из канала шейки матки или мочеиспускательного канала у мужчин Aptima):

1. Маркируйте транспортные пробирки с мазками числами, соответствующими проверяемым областям.
2. Извлеките тупфер для отбора образца (тупфер с синим стержнем и зеленым текстом) из упаковки, смочите тампон транспортной средой для образцов (STM) и выполните мазок с обозначенной области круговым движением.

3. Немедленно вставьте тупфер в транспортную пробирку.
 4. Аккуратно переломите стержень тупфера по обозначенной линии разлома; соблюдайте осторожность во избежание разбрызгивания содержимого.
 5. Плотно закупорьте транспортную пробирку с тампоном.
 6. Повторно выполните этапы 2 - 5 для каждой области, с которой следует взять мазок.
- Е. При получении положительных результатов см. раздел «*Интерпретация результатов*». Для получения дополнительной информации о мониторинге контаминации для системы Panther System обратитесь в службу технической поддержки Hologic.

Контроль качества

Система Panther System может обозначить цикл анализа или результаты для образца как недействительные при возникновении проблем с выполнением анализа. Образцы с недействительными результатами необходимо проанализировать повторно.

Отрицательный и положительный контроли

Для получения достоверных результатов необходимо протестировать набор контролей анализа. Каждый раз при загрузке нового комплекта в систему Panther или при истечении срока годности текущего набора действительных контролей необходимо выполнить анализ отрицательного и положительного контрольных материалов для анализа в одной повторности.

Система Panther настроена так, что она требует выполнения анализа контролей с интервалом, заданным администратором и не превышающим 24 часа. Программное обеспечение системы Panther предупреждает оператора при необходимости выполнения анализа контролей и не запускает новые анализы до загрузки и начала обработки контрольных материалов для анализа.

Во время обработки критерии приемлемости контрольных материалов для анализа автоматически проверяются программным обеспечением системы Panther. Для получения действительных результатов контрольные материалы для анализа должны пройти серию проверок, выполняемых системой Panther.

Если контрольные материалы для анализа прошли все проверки, они считаются действительными в течение интервала времени, заданного администратором. По истечении этого времени система Panther считает, что срок годности контроля анализа истек, и требует выполнить цикл с новым набором контрольных материалов для анализа перед запуском любых новых проб.

Если какой-либо из контрольных материалов для анализа не проходит проверки, система Panther автоматически объявляет пробы, на которые распространилось его действие, недействительными, и требует анализа нового набора контрольных материалов для анализа перед запуском любых новых проб.

Внутренний контроль

Внутренний контроль добавляют к каждой пробе с wTCR. Во время обработки программное обеспечение системы Panther автоматически проверяет критерии приемлемости внутреннего контроля. Обнаружение внутреннего контроля в пробах, положительных по SARS-CoV-2,

не требуется. Внутренний контроль должен обнаруживаться во всех пробах, отрицательных по мишеням SARS-CoV-2; образцы, не соответствующие этому критерию, регистрируются как недействительные. Каждый образец с результатом «недействительный» необходимо проанализировать повторно.

Программное обеспечение системы Panther предназначено для точной верификации процессов, когда процедуры выполняются в соответствии с инструкциями, содержащимися в данном листке-вкладыше и в *руководстве оператора системы Panther/Panther Fusion*.

Интерпретация результатов

Система Panther автоматически определяет результаты анализа проб и контрольных образцов. Результат анализа может быть отрицательным, положительным или недействительным.

В таблице 1 показаны возможные результаты, зарегистрированные в ходе действительного цикла анализа, вместе с интерпретацией результатов.

Таблица 1: Интерпретация результата

Результат SARS-CoV-2	Результат ВК	Интерпретация
Отрицательный	Действительный	SARS-CoV-2 не обнаружен.
ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ	Действительный	SARS-CoV-2 обнаружен.
Недействительный	Недействительный	Недействительный. Произошла ошибка при получении результата; выполните анализ пробы повторно.

Примечание. Обнаружение внутреннего контроля в пробах, положительных по SARS-CoV-2, не требуется.

Ограничения

- A. Использование этого анализа разрешается только персоналу, прошедшему обучение выполнению данной процедуры. Несоблюдение этих инструкций может привести к получению неверных результатов.
- B. Надежность результата зависит от правильности отбора, транспортировки, хранения и обработки образцов.
- C. Избегайте контаминации, соблюдая правила надлежащей лабораторной практики и методик, указанных в данном листке-вкладыше.
- D. Положительный результат означает обнаружение нуклеиновой кислоты соответствующего вируса. Нуклеиновая кислота может присутствовать, даже если вирус уже нежизнеспособен.

Аналитические характеристики тест-системы Panther SARS-CoV-2 Assay

Аналитическая чувствительность

Аналитическая чувствительность (предел обнаружения, LoD) тест-системы Aptima SARS-CoV-2 assay была определена методом испытания последовательных разбавлений объединенных отрицательных клинических образцов, полученных методом мазка из носоглотки с добавкой инактивированного культивированного вируса SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020; BEI Resources; NR-52281). По десять повторностей каждого последовательного разбавления образца анализировали с использованием двух лотов реактивов анализа на двух системах Panther. Было определено, что величина LoD составляет 0,01 TCID₅₀/мл. Этот результат подтвержден анализом 20 дополнительных повторностей с реактивами анализа одного лота. Уровень LoD подтвержден в анализах с использованием таких сред для помещения тампона, как физиологический раствор, жидкая среда Амиеса и транспортная среда для образцов (STM).

Аналитическая чувствительность тест-системы Aptima SARS-CoV-2 оценивалась дополнительно с использованием эталонного материала от трех коммерческих поставщиков. Последовательные разведения эталонного материала были сделаны в STM, и 20 или более копий на каждом уровне были протестированы с использованием каждой из двух серий реагентов в двух системах Panther. Эталонные материалы и самые низкие уровни разведения, приводящие к ≥ 95 %-му обнаружению, перечислены в таблице 2.

Таблица 2: Аналитическая оценка чувствительности коммерческого эталонного материала

Поставщик	Название	Эталонный материал №	Серия №	Аналитическая чувствительность
ZeptoMetrix	Контроль SARS-CoV-2 External Run	NATSARS(COV2)-ERC	324332	83 копии/мл
SeraCare	Эталонный материал AccuPlex SARS-Cov-2	0505-0126	10483977	83 копий/мл
Точная диагностика	Стандартный образец SARS-CoV-2	COV019	20033001	83 копий/мл

Аналитическая чувствительность в рабочем процессе с использованием пробирки Aptima Specimen Transfer Tube

Определенный уровень аналитической чувствительности (предел обнаружения) 0,01 TCID₅₀/мл тест-системы Aptima SARS-CoV-2 assay был подтвержден в рабочем процессе с подготовкой образцов в пробирке Aptima Specimen Transfer tube. Для подтверждения использовали инактивированный культивированный вирус SARS-CoV-2 (USA-QA1/2020; BEI Resources; NR-52281), внесенный в отрицательный клинический мазок из носоглотки, физиологический раствор, жидкую среду Амиеса и транспортную среду для образцов (STM), и выполнив анализ в 20 повторностях с одним лотом реактивов (таблица 3).

Таблица 3: Подтверждение LoD в рабочем процессе с использованием пробирки Aptima Specimen Transfer

Цель	Матрица	Количество действительных	Количество положительных	% положительн.	Усредненный kRLU	Стандартное отклонение kRLU	%KB
Инактивированный вирус SARS-CoV-2	Мазок из носоглотки	20	20	100 %	1063	61	5,8 %
	STM	20	20	100 %	1064	116	10,9 %
	Физиологический раствор	20	20	100 %	1102	60	5,4 %
	Жидкая среда Амиеса	20	20	100 %	1101	51	4,7 %

Аналитическая реактивность

Аналитическую реактивность тест-системы Aptima SARS-CoV-2 assay определяли *in silico*, изучая взаимодействие системы олигомеров, связывающих мишени, праймеров амплификации и детектирующих зондов с 9896 последовательностями SARS-CoV-2, доступными в генетических базах данных NCBI и GISAID. Из оценки были исключены все последовательности с пропусками и неоднозначными данными, после этого для оценки первой области мишени анализа осталось 9879 последовательностей, а для второй области мишени анализа — 9880 последовательностей. Оценка *in silico* продемонстрировала 100 % гомологичность олигомеров аналитической системы к обоим мишеням в 9749 (98,5 %) оцененных последовательностях и 100 % гомологичность олигомеров аналитической системы хотя бы к одной мишени во всех 9896 последовательностях. Среди оцененных последовательностей не нашлось ни одной, в которой проявлялись бы ошибки спаривания с прогнозируемым нарушением связывания или аналитических характеристик по обоим мишеням.

Аналитическая специфичность и мешающее влияние микроорганизмов

Аналитическая специфичность тест-системы Aptima SARS-CoV-2 assay была оценена в эксперименте с 30 видами микроорганизмов, входящими в число часто встречающихся патогенов дыхательной системы или близкородственных видов (таблица 4). Эксперименты с бактериями проводили при концентрациях 10^6 КОЕ/мл, а эксперименты с вирусами при 10^5 TCID₅₀/мл, за несколькими указанными исключениями. Эксперименты с микроорганизмами проводили в присутствии и в отсутствии добавки инактивированного вируса SARS-CoV-2 в концентрации 3x LoD. Аналитическая специфичность тест-системы Aptima SARS-CoV-2 assay составила 100 %, признаков мешающего влияния со стороны микроорганизмов не обнаружено.

Помимо испытания с микроорганизмами, была проведена оценка *in silico* для изучения специфичности анализа в отношении микроорганизмов, перечисленных в таблице 4. Оценка *in silico* не выявила вероятной перекрестной реактивности с любой из 112 изученных последовательностей из базы GenBank.

Таблица 4: Аналитическая специфичность и мешающее влияние микроорганизмов анализа Aptima SARS-CoV-2

Микроорганизм	Концентрация	Микроорганизм	Концентрация
Коронавирус человека 229E	1E + 5 TCID ₅₀ /мл	Вирус парагриппа 1	1E + 5 TCID ₅₀ /мл
Коронавирус человека OC43	1E + 5 TCID ₅₀ /мл	Вирус парагриппа 2	1E + 5 TCID ₅₀ /мл
Коронавирус человека HKU1 ¹	1E + 6 копий/мл	Вирус парагриппа 3	1E + 5 TCID ₅₀ /мл
Коронавирус человека NL63	1E + 4 TCID ₅₀ /мл	Вирус парагриппа 4	1E + 3 TCID ₅₀ /мл
Коронавирус SARS ¹	1E + 6 копий/мл	Грипп А	1E + 5 TCID ₅₀ /мл
Коронавирус MERS	1E + 4 TCID ₅₀ /мл	Грипп В	2E + 3 TCID ₅₀ /мл
Аденовирус (в частности, С1 Ad. 71)	1E + 5 TCID ₅₀ /мл	Энтеровирус (в частности, EV68)	1E + 5 TCID ₅₀ /мл
Метапневмовирус человека (hMPV)	1E + 6 TCID ₅₀ /мл	Риновирус	1E + 4 TCID ₅₀ /мл
Респираторно-синцитиальный вирус	1E + 5 TCID ₅₀ /мл	<i>Legionella pneumophila</i>	1E + 6 КОЕ/мл
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1E + 6 ИЕ/мл	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1E + 6 TCID ₅₀ /мл
<i>Haemophilus influenzae</i>	1E + 6 КОЕ/мл	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1E + 6 КОЕ/мл
<i>Bordetella pertussis</i>	1E + 6 КОЕ/мл	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1E + 6 КОЕ/мл
<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	1E + 6 ядерных геномов/мл	<i>Streptococcus salivarius</i>	1E + 6 КОЕ/мл
<i>Candida albicans</i>	1E + 6 КОЕ/мл	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1E + 6 КОЕ/мл
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1E + 6 КОЕ/мл	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1E + 6 КОЕ/мл
Образец из объединенных смывов из полости носа людей ² — для отражения многообразия микробной флоры дыхательных путей человека	Н/П		

¹ Культивированные вирусы и полногеномные очищенные нуклеиновые кислоты коронавируса человека HKU1 и коронавируса SARS были недоступны для приобретения. В экспериментах по оценке перекрестной реактивности и мешающего влияния микроорганизмов использовали транслированные in vitro регионы гена ORF1ab коронавирусов HKU1 и SARS, которые являются мишенью в анализе.

² Вместо оценки образца из объединенных смывов из полости носа людей был выполнен эксперимент с 30 отдельными отрицательными клиническими образцами мазков из носоглотки, отражающими многообразие микробной флоры дыхательных путей человека.

Клинические характеристики

Клинические характеристики тест-системы Aptima SARS-CoV-2 assay оценивали, сравнивая его с тест-системой Panther Fusion SARS-CoV-2 assay (Hologic, Inc.) на панели остаточных клинических образцов. Остаточные клинические образцы материала из носоглотки, применявшиеся в этом эксперименте, были получены в США от пациентов с объективными и субъективными признаками инфекции дыхательных путей.

В таблице 5 представлены величины процента совпадения положительных результатов (Positive Percent Agreement, PPA) и процента совпадения отрицательных результатов (Negative Percent Agreement, NPA), вычисленные относительно результата эталонного анализа Panther Fusion. Анализ Aptima SARS-CoV-2 assay продемонстрировал совпадение положительных результатов в 100 % и совпадение отрицательных результатов в 98,2 % случаев.

В качестве приемлемых образцов для испытания при вирусной инфекции дыхательных путей рассматриваются смывы и аспират из носоглотки, аспират из полости носа, мазки из полости носа и средней носовой раковины. Однако специфические клинические характеристики тест-системы Aptima SARS-CoV-2 assay по отношению к этим типам образцов не рассматривались.

Таблица 5: Клиническое совпадение результатов анализа Aptima SARS-CoV-2

		Тест-система Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay	
		Положительный	Отрицательный
Тест-система Aptima SARS-CoV-2 Assay	Положительный	50	1
	Отрицательный	0	54

Процент совпадения положительных результатов: (95 % ДИ) 100 % (92,9–100 %)

Процент совпадения отрицательных результатов: (95 % ДИ) 98,2 % (90,4–99,7 %)

Общий процент совпадения: (95 % ДИ) 99,0 % (94,8–99,8 %)

Клинические характеристики с панелью подготовленных образцов

Клинические характеристики тест-системы Aptima SARS-CoV-2 assay в рабочем процессе с обработкой образца в пробирке Aptima Specimen Transfer tube оценивали в эксперименте с панелью подготовленных образцов. Для этого исследования панель 115 остаточных клинических образцов материала из носоглотки анализировали в рабочих процессах с обработкой образцов в пробирках Panther Fusion Specimen Lysis Tube (Specimen Lysis Tube) и в пробирках Aptima Specimen Transfer tube. Все образцы, применявшиеся в этом эксперименте, были получены в США от пациентов с объективными и субъективными признаками инфекции дыхательных путей. Панель включала 65 SARS-CoV-2 положительных и 50 SARS-CoV-2 отрицательных образцов. В число 65 положительных образцов входили 40 с концентрациями 0,5–2х LoD и 25 с концентрациями 3–5х LoD, они были приготовлены с использованием в качестве мишени инактивированного культивированного вируса SARS-CoV-2 (USA-QA1/2020; BEI Resources; NR-52281).

Величины процента совпадения положительных результатов (PPA) и процента совпадения отрицательных результатов (NPA) при использовании двух рабочих процессов обработки образцов вычисляли относительно ожидаемых результатов для подготовленной панели. Полученные величины представлены в таблице 6 для пробирок Aptima Specimen Transfer Tube и в таблице 7 для пробирок Specimen Lysis Tube. Как показано в таблице 8, характеристики обнаружения для подготовленных образцов вычисляли с учетом концентраций мишени. Оба рабочих процесса обработки образцов продемонстрировали 100 % совпадение результатов на использованной в эксперименте панели.

Таблица 6: Результаты рабочего процесса с пробирками Aptima Specimen Transfer Tube в сравнении с ожидаемыми результатами

		Ожидаемый результат		
		Положительный	Отрицательный	Всего
Результат процесса с Aptima Specimen Transfer	Положительный	65	0	65
	Отрицательный	0	50	50
Всего		65	50	115

Общий процент совпадения: 100 % (96,8–100 %)

Совпадения положительных результатов: 100 % (94,4–100 %)

Совпадения отрицательных результатов: 100 % (92,9–100 %)

Таблица 7: Результаты рабочего процесса с пробирками Specimen Lysis Tube в сравнении с ожидаемыми результатами

		Ожидаемый результат		
		Положительный	Отрицательный	Всего
Результат процесса с Specimen Lysis Tube	Положительный	65	0	65
	Отрицательный	0	50	50
Всего		65	50	115

Общий процент совпадения: 100 % (96,8–100 %)

Совпадения положительных результатов: 100 % (94,4–100 %)

Совпадения отрицательных результатов: 100 % (92,9–100 %)

Таблица 8: Характеристики обнаружения с использованием подготовленных образцов мазков из носоглотки

Целевая концентрация	Рабочий процесс обработки с Aptima Specimen Transfer						Рабочий процесс обработки с Specimen Lysis Tube					
	п Действительный	п Положительный	% Положительный	Среднее kRLU	Стандартное отклонение kRLU	%KB	п Действительный	п Положительный	% Положительный	Среднее kRLU	Стандартное отклонение kRLU	%KB
Отрицательный	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

Клинические характеристики при использовании инфицированных естественным образом положительных образцов

Клинические характеристики тест-системы Aptima SARS-CoV-2 assay в рабочем процессе с обработкой образцов в пробирках Aptima Specimen Transfer tube сравнивали с клиническими характеристиками тест-систем Aptima и Panther Fusion SARS-CoV-2 assay в рабочем процессе с пробирками Specimen Lysis Tube. Для этого эксперимента подготовили 15 уникальных, положительных по SARS-CoV-2 образцов мазков из носоглотки, которые обрабатывали с использованием двух сравниваемых рабочих процессов. Положительная реакция проб на SARS-CoV-2 была определена ранее с использованием молекулярного анализа, разработанного не предприятием Hologic.

При использовании в качестве эталона результатов тест-системы Panther Fusion SARS-CoV-2 assay и рабочего процесса с пробирками Specimen Lysis Tube частота совпадения положительных результатов при использовании рабочих процессов с пробирками Aptima Specimen Transfer Tube и с пробирками Specimen Lysis Tube в тест-системе Aptima SARS-CoV-2 Assay составила 97,5 % (87,1–99,6 %) и 100 % (91,0–100 %) соответственно. При сравнении результатов, полученных в рабочем процессе с пробирками Aptima Specimen Transfer Tube и в рабочем процессе с пробирками Specimen Lysis Tube, частота совпадения положительных результатов составила 95,0 % (83,5–98,6 %).

Список литературы

1. **Всемирная организация здравоохранения.** Вопросы и ответы по коронавирусам (COVID-19). 9 марта 2020 г. Веб-страница Всемирной организации здравоохранения <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/q-a-coronaviruses>. Дата доступа 10 марта 2020 г.
2. **Центры по контролю и профилактике заболеваний.** <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/how-covid-spreads.html> доступно с 17 июня 2020 г.
3. **Центры по контролю и профилактике заболеваний.** Коронавирусное заболевание-2019-(COVID-19) в США. Дата обновления 10 марта 2020 г. Веб-страница Центров по контролю и профилактике заболеваний <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-in-us.html>. Дата доступа 10 марта 2020 г.
4. **Центры по контролю и профилактике заболеваний.** Информация о коронавирусном заболевании-2019 для поездок. Последний пересмотр страницы выполнен 8 марта 2020 г. Веб-страница Центров по контролю и профилактике заболеваний <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/travelers/index.html>. Дата доступа 10 марта 2020 г.
5. **Центры по контролю и профилактике заболеваний.** Сводная информация о ситуации с коронавирусным заболеванием-2019 (COVID-19). Дата обновления 9 марта 2020 г. Веб-страница Центров по контролю и профилактике заболеваний <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/summary.html>. Дата доступа 10 марта 2020 г.
6. **Институт клинических и лабораторных стандартов.** Документ M29 Защита лабораторных работников от инфицирования на рабочем месте. Веб-страница CLSI <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Дата доступа сентябрь 2017 г.



Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Hologic, Inc.
10210 Дженетик Сентер Драйв
Сан-Диего, Калифорния, 92121 США

Поддержка клиентов: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Техническая поддержка: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

За дополнительной информацией обращайтесь на сайт www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Panther и Panther Fusion являются товарными знаками и (или) зарегистрированными товарными знаками предприятия Hologic, Inc. и (или) его дочерних предприятий в США и (или) других странах.

Все остальные товарные знаки, которые могут присутствовать в этом листке-вкладыше, являются собственностью их соответствующих владельцев.

Данное изделие может подпадать под действие одного или нескольких патентов США, которые указаны на веб-странице: www.hologic.com/patents.

© Hologic, Inc., 2020 г. Все права защищены.

AW-21491-201 Ред. 002
2020-06