

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 FRENCH	DOCUMENT NUMBER AW-21491-901	REV 002
REV. RELEASE DATE: 06/25/2020		SIZE A	SHEET 1 OF 1

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

Pour diagnostic *in vitro*.

Réservé à l'exportation américaine.

## TABLE DES MATIÈRES

<b>Informations générales</b> .....	<b>2</b>
Usage prévu .....	2
Résumé et explication du test .....	2
Principe de la procédure .....	3
Avertissements et précautions .....	4
Conditions de conservation et de manipulation des réactifs .....	5
Prélèvement et conservation des spécimens .....	6
Transport des spécimens .....	10
<b>Panther System</b> .....	<b>11</b>
Réactifs et matériels fournis .....	11
Matériels requis et disponibles séparément .....	12
Procédure de test pour le Panther system .....	13
Remarques concernant la procédure .....	16
<b>Contrôle de la qualité</b> .....	<b>18</b>
<b>Interprétation des résultats</b> .....	<b>19</b>
<b>Limites</b> .....	<b>19</b>
<b>Performance du Panther SARS-CoV-2 Assay</b> .....	<b>20</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>25</b>

## Informations générales

### Usage prévu

Le Aptima™ SARS-CoV-2 assay est un test de diagnostic *in vitro* d'amplification d'acide nucléique destiné à la détection qualitative de l'ARN à partir de SARS-CoV-2 isolé et purifié à partir de spécimens d'écouvillonnage nasopharyngé (NP), nasal, des cornets nasaux et oropharyngé (OP), de lavage/aspiration nasopharyngée ou d'aspiration nasale obtenues sur des personnes répondant aux critères cliniques et/ou épidémiologiques du COVID-19.

Les résultats sont destinés à l'identification présomptive de l'ARN du SARS-CoV-2. L'ARN du SARS-CoV-2 est généralement détectable à partir de spécimens des voies respiratoires supérieures durant la phase aiguë de l'infection. Des résultats positifs sont indicatifs de la présence de l'ARN du SARS-CoV-2, mais la corrélation clinique avec les antécédents du patient et d'autres informations de diagnostic sont nécessaires pour déterminer l'état d'infection du patient. Un résultat positif n'exclut pas l'infection bactérienne ou la co-infection avec d'autres virus.

Un résultat négatif n'exclut pas une infection au SARS-CoV-2 et ne doit pas être utilisé comme seule base pour le traitement ou les autres décisions concernant la prise en charge du patient. Les résultats négatifs doivent être combinés avec les observations cliniques, les antécédents du patient et des données épidémiologiques.

Le Aptima SARS-CoV-2 Assay est conçu pour être utilisé sur le Panther™ et sur le Panther Fusion™ system par un personnel de laboratoire spécialement formé et entraîné à l'exploitation du Panther System et du Panther Fusion System.

### Résumé et explication du test

Les coronavirus constituent une grande famille de virus qui peuvent causer des maladies chez les animaux ou chez l'homme. Chez l'homme, plusieurs coronavirus sont connus pour causer des infections respiratoires allant du rhume à des maladies plus graves comme le syndrome respiratoire Moyen-Orient (MERS) et le syndrome respiratoire aigu sévère (SARS). Le coronavirus plus récemment découvert, le SARS-CoV-2, provoque la maladie COVID-19 associée au coronavirus. Ce nouveau virus et cette nouvelle maladie étaient inconnus avant l'épidémie commencée à Wuhan, en Chine, en décembre 2019.<sup>1</sup>

Les symptômes les plus courants de COVID-19 sont la fièvre, la fatigue et la toux sèche. Certains patients peuvent avoir des maux et des douleurs, une congestion nasale, le nez qui coule, des maux de gorge, une récente perte de goût ou de l'odorat ou la diarrhée. Ces symptômes sont généralement légers et commencent progressivement. Certaines personnes sont infectées, mais ne développent aucun symptôme et ne se sentent pas mal. La maladie peut se propager par les gouttelettes respiratoires produites lorsqu'une personne infectée tousse ou éternue. Ces gouttelettes peuvent se poser dans la bouche ou le nez des personnes qui se trouvent à proximité ou qui peuvent être inhalées dans les poumons.<sup>2</sup> Elles peuvent aussi se poser sur les objets et les surfaces autour de la personne. D'autres personnes peuvent contracter le SARS-CoV-2 en touchant ces objets ou surfaces, puis en se touchant les yeux, le nez ou la bouche.

Le virus qui cause la COVID-19 infecte les personnes et se propage facilement d'une personne à l'autre.<sup>3</sup> Le 11 mars 2020, l'épidémie de COVID-19 a été caractérisée comme pandémie par l'Organisation mondiale de la santé (OMS).<sup>4,5</sup>

## Principe de la procédure

Le Aptima SARS-CoV-2 assay combine les technologies de capture de cible, d'amplification médiée par la transcription (Transcription-Mediated Amplification ; TMA) et de double test cinétique (Dual Kinetic Assay ; DKA).

Les spécimens sont prélevés et transférés dans leurs tubes de transport de spécimen respectifs. Les solutions de transport contenues dans ces tubes libèrent les ARN cibles et les protègent contre la dégradation pendant la période de conservation. Lorsque le Aptima SARS-CoV-2 assay est effectué au laboratoire, les molécules d'ARN cible sont isolées du spécimen au moyen d'oligomères de capture par capture de cible à l'aide de microparticules magnétiques. Les oligomères de capture contiennent les séquences complémentaires de régions spécifiques des molécules cibles de même qu'une chaîne de résidus de désoxyadénosine. Un oligomère de capture distinct est utilisé pour chaque cible. Lors de l'étape d'hybridation, les régions spécifiques de la séquence des oligomères de capture se lient aux régions précises des molécules cibles. Le complexe oligomère de capture:cible est ensuite capturé de la solution en ramenant la température de la réaction à température ambiante. Cette réduction de température permet à l'hybridation de se produire entre la région désoxyadénosine de l'oligomère de capture et les molécules de poly-désoxythymidine liées de manière covalente aux particules magnétiques. Les microparticules, y compris les molécules cible capturées auxquelles elles sont liées, sont attirées sur la paroi du tube de réaction par des aimants et le surnageant est aspiré. Les particules sont lavées afin d'éliminer la matrice résiduelle de spécimen qui peut contenir des inhibiteurs de la réaction d'amplification. Une fois les étapes de capture de cible terminées, les spécimens sont prêts pour l'amplification.

Les tests d'amplification de cible reposent sur la capacité des amorces d'oligonucléotides complémentaires de s'hybrider spécifiquement et de permettre l'amplification enzymatique des brins d'acide nucléique cible. Le Aptima SARS-CoV-2 assay reproduit des régions spécifiques de l'ARN du virus SARS-CoV-2. La détection des séquences du produit d'amplification (amplicon) de l'ARN s'effectue par hybridation de l'acide nucléique. Des sondes chimioluminescentes d'acide nucléique simple-brin, qui sont unique et complémentaire d'une région de chaque amplicon cible et amplicon contrôle interne (IC), sont marquées avec différentes molécules d'ester d'acridinium (EA). Les sondes marquées à l'EA se combinent à l'amplicon pour former des hybrides stables. Le réactif de sélection différencie les sondes hybridées des non-hybridées, éliminant ainsi la production de signal par les sondes non hybridées. Lors de l'étape de détection, la lumière émise par les hybrides marqués est mesurée en signaux photoniques dans le luminomètre et exprimée en unités relatives de lumière (RLU). Dans le test DKA, les différences entre les profils cinétiques des sondes marquées permettent la différenciation du signal ; les profils cinétiques sont dérivés des mesures de l'émission de photons pendant l'intervalle de lecture lors de la détection. La réaction de détection chimioluminescente du signal du IC a une cinétique très rapide et un profil cinétique de type « signal éclair ». La réaction de détection chimioluminescente du signal de SARS-CoV-2 est relativement plus lente et son profil cinétique est de type « signal brillant ». Les résultats du test sont déterminés par des valeurs limites basées sur les unités RLU totales et le type de courbe cinétique.

Le Aptima SARS-CoV-2 assay amplifie et détecte deux régions conservées du gène ORF1ab dans la même réaction, en utilisant le même type cinétique de « signal brillant ». Les deux régions ne sont pas différenciées et l'amplification de l'une ou de l'autre des deux régions conduit à un signal en RLU. Les résultats du test sont déterminés par des valeurs limites basées sur les unités RLU totales et le type de courbe cinétique.

## Avertissements et précautions

- A. Pour diagnostic *in vitro*. Lire attentivement l'intégralité de cette notice et le *Manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System*.
- B. Seul le personnel dûment formé à l'utilisation de ce test et à la manipulation de matériel potentiellement infectieux peut effectuer ces procédures. En cas de déversement, désinfectez immédiatement en suivant les procédures appropriées de l'établissement.
- C. Manipuler tous les échantillons comme s'ils étaient infectieux en utilisant des procédures de laboratoire sûres. Se reporter aux lignes directrices provisoires en matière de biosécurité en laboratoire pour la manipulation et le traitement des échantillons associés au 2019-nCoV. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>.
- D. Les spécimens peuvent être infectieux. Utilisez les précautions universelles lors de la réalisation de ce test. Des méthodes de manipulation et d'élimination appropriées doivent être établies par le directeur du laboratoire. Seul le personnel ayant reçu une formation adéquate pour manipuler les substances infectieuses doit être autorisé à effectuer cette procédure diagnostique.<sup>6</sup>
- E. Si l'infection au SARS-CoV-2 est soupçonnée d'après les critères de dépistage clinique recommandés par les autorités de santé publique, les échantillons doivent être prélevés avec des précautions appropriées de contrôle de l'infection.
- F. N'utilisez que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.
- G. Utilisez un équipement de protection individuelle approprié lors du recueil et de la manipulation des spécimens provenant d'individus soupçonnés d'être infectés par le SARS-CoV-2 comme indiqué dans lignes directrices provisoires du CDC en matière de biosécurité en laboratoire pour la manipulation et le traitement des échantillons associés au nouveau coronavirus 2019 (2019-nCoV).
- H. Portez des gants jetables sans poudre, des lunettes de protection et des blouses de laboratoire pour manipuler les spécimens et les réactifs du kit. Lavez-vous bien les mains après avoir manipulé les spécimens et les réactifs.
- I. Éliminez tous les matériels venus en contact avec les spécimens et les réactifs conformément aux réglementations nationales, internationales et régionales.
- J. Les dates d'expiration figurant sur les tubes de lyse de spécimen Panther Fusion, les tubes de lyse de spécimen Hologic, le Aptima Multitest Collection Kit, le Aptima Unisex Specimen Collection Kit et le Aptima Specimen Transfer Kit se rapportent au transfert de l'échantillon dans le tube et non pas au test de l'échantillon. Les spécimens collectés/transférés avant ces dates de péremption sont valides pour des tests s'ils ont été transférés et conservés conformément à la notice correspondante, même si ces dates de péremption sont dépassées depuis lors.
- K. Maintenez des conditions de conservation adéquates pendant le transport des spécimens pour préserver leur intégrité. La stabilité des spécimens dans des conditions de transport autres que celles recommandées n'a pas été évaluée.

- L. Évitez toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des spécimens. Les spécimens peuvent contenir des taux extrêmement élevés de virus ou d'autres organismes. Veillez à éviter tout contact entre les différents tubes de spécimens et à ne pas passer au-dessus d'un tube ouvert en jetant le matériel usagé. Changez de gants en cas de contact avec les spécimens.
- M. N'utilisez pas les réactifs ou les contrôles après la date de péremption.
- N. Conservez les composants du test dans les conditions de conservation recommandées. Voir *Conditions de conservation et de manipulation des réactifs* (page 5), et *Procédure de test du Panther System* (page 13) pour plus d'informations.
- O. Ne combinez pas de réactifs de test ou de liquides de test. Ne remplissez pas trop les réactifs ou les fluides ; le Panther System vérifie les niveaux des réactifs.
- P. Évitez de contaminer les réactifs par des microbes ou des ribonucléases.
- Q. N'utilisez pas de matériel pouvant contenir du thiocyanate de guanidinium ou toute matière contenant du guanidine sur l'instrument. Des composés très réactifs et/ou toxiques peuvent se former si combinés avec l'hypochlorite de sodium.
- R. Un réactif de ce kit est étiqueté avec des symboles de risque et de sécurité.

**Remarque** : La signalisation des risques reflète les classifications des fiches de données sécurité (FDS) de l'UE. Pour des informations sur la signalisation des risques spécifiques à votre région, reportez-vous à la FDS spécifique de la région dans sur la bibliothèque des fiches de données de sécurité à [www.hologicds.com](http://www.hologicds.com).

	<p><b>Réactif de sélection</b> <b>ACIDE BORIQUE 1-5 %</b> <b>ATTENTION</b> H315 - Provoque une irritation cutanée</p>
---	---

### Conditions de conservation et de manipulation des réactifs

- A. Les réactifs suivants restent stables lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 8 °C (réfrigérés) :
  - Réactif d'amplification Aptima SARS-CoV-2
  - Réactif enzymatique Aptima SARS-CoV-2
  - Réactif-sonde Aptima SARS-CoV-2
  - Contrôle interne Aptima SARS-CoV-2
  - Contrôle positif Aptima SARS-CoV-2
  - Contrôle négatif Aptima SARS-CoV-2
- B. Les réactifs suivants restent stables lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 30 °C :
  - Solution de reconstitution de l'amplification Aptima SARS-CoV-2
  - Solution de reconstitution enzymatique Aptima SARS-CoV-2
  - Solution de reconstitution de la sonde Aptima SARS-CoV-2
  - Réactif de sélection Aptima SARS-CoV-2

- C. Les réactifs suivants restent stables lorsqu'ils sont conservés entre 15 °C et 30 °C (température ambiante) :
- Réactif de capture de cible Aptima SARS-CoV-2
  - Solution de lavage Aptima
  - Tampon Aptima pour solution de désactivation
  - Réactif huileux Aptima
- D. Le réactif de capture de cible de travail (« Working Target Capture Reagent », wTCR) est stable pendant 30 jours lorsqu'il est conservé entre 15 °C et 30 °C. Ne pas réfrigérer.
- E. Après reconstitution, le réactif enzymatique, le réactif d'amplification et le réactif-sonde restent stables pendant 30 jours lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 8 °C.
- F. Jetez tout réactif reconstitué et wTCR non utilisé après de 30 jours ou après la date de péremption du lot de référence, si celle-ci survient avant.
- G. Les contrôles non ouverts sont stables jusqu'à la date indiquée sur les flacons.
- H. Les réactifs stockés dans le Panther System sont stables pendant 72 heures.
- I. Le réactif-sonde et le réactif-sonde reconstitué sont photosensibles. Conservez les réactifs à l'abri de la lumière. La stabilité après reconstitution indiquée est basée sur une exposition de 12 heures du réactif-sonde reconstitué à deux ampoules fluorescentes de 60 W situées à 43 cm de distance et à une température inférieure à 30 °C. L'exposition à la lumière du réactif-sonde reconstitué doit être limitée en conséquence.
- J. Lorsqu'ils parviennent à température ambiante, certains tubes de contrôle peuvent être troubles ou contenir des précipités. La turbidité ou la précipitation associée à ces contrôles n'en affecte pas la performance. Les contrôles peuvent être utilisés qu'ils soient limpides ou troubles/précipités. Si l'on souhaite travailler avec des contrôles limpides, il est possible d'accélérer la solubilisation en les incubant aux valeurs maximales de la plage de température ambiante (15 °C à 30 °C).
- K. Ne pas congeler les réactifs.**

## Prélèvement et conservation des spécimens

**Spécimens** - matériel clinique prélevé sur patient placé dans un système de transport approprié. Pour le Aptima SARS-CoV-2 assay, ce qui inclut spécimens d'écouvillonnage NP, nasal, des cornets nasaux et OP, de lavage/aspiration nasopharyngée ou d'aspiration nasale dans un milieu de transport viral (VTM/UTM), solution saline, liquide d'Amies, ou moyen de transport de spécimen (STM).

**Échantillons** - terme plus générique pour décrire tout matériel pour le test sur le Panther System dont les spécimens, les spécimens transférés dans un tube de lyse de spécimen Panther Fusion et les contrôles.

**Remarque** : *Manipulez tout spécimen comme s'il était susceptible de contenir des agents potentiellement infectieux. Appliquez les précautions universelles.*

**Remarque :** *Veillez à éviter toute contamination croisée pendant les étapes de manipulation des spécimens. Par exemple, veillez à ne pas passer au-dessus de tubes ouverts lors de l'élimination de matériels usagés.*

### Recueil de spécimen sur écouvillons

Recueillir les spécimens sur écouvillon NP et OP selon la technique standard à l'aide d'un écouvillon à embout en polyester, en rayon ou en nylon. Placez immédiatement le spécimen sur écouvillon dans 3 mL de VTM ou d'UTM. Les spécimens sur écouvillon peuvent aussi être ajoutés à une solution saline, liquide d'Amies ou STM. Le Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit (Kit de prélèvement de spécimens sur écouvillons multitest Aptima) peut être utilisé pour le recueil d'échantillons sur écouvillons OP et nasaux.

Après recueil, les spécimens recueillis en VTM/UTM peuvent être conservés entre 2 °C et 8 °C pendant 96 heures avant d'être transférés dans le tube de lyse de spécimens ou les tubes de transfert, comme décrit dans la section sur le traitement des spécimens ci-dessous. Les volumes de spécimens restants peuvent être conservés à  $\leq -70$  °C.

Les spécimens dans un tube multitest Aptima peuvent être conservés entre 2 °C et 30 °C jusqu'à 6 jours.

**Remarque :** *Il est recommandé de conserver les spécimens transférés dans un tube multitest Aptima et de les stocker bouchés et en position verticale dans un portoir.*

Les types de VTM/UTM suivants peuvent être utilisés.

- Formulations Remel MicroTest M4, M4RT, M5 ou M6
- Copan Universal Transport Medium
- BD Universal Viral Transport Medium

**Remarque:** *N'utilisez pas de milieu pouvant contenir du thiocyanate de guanidinium ou tout produit contenant du guanidinium.*

### Prélèvement de spécimens par aspiration/lavage nasopharyngé et par aspiration nasale

Recueillir les spécimens de lavage/aspiration nasopharyngé et d'aspiration nasale conformément aux techniques standard.

### Traitement des spécimens à l'aide du tube de lyse de spécimen Panther Fusion (Panther Fusion Specimen Lysis)

- A. Avant de le tester sur le Panther System, transférez 500  $\mu$ L de spécimen\* dans un tube de lyse de spécimen Panther Fusion.

**\*Remarque :** *Lorsque vous testez des spécimens congelés, laissez-les parvenir à température ambiante avant toute utilisation.*

**Remarque :** *Lors de l'utilisation du logiciel de dosage en tube non bouchés Aptima SARS-CoV-2, préparez le tube de lyse de spécimen Panther Fusion comme décrit ci-dessous dans traitement des spécimens à l'aide du tube de lyse de spécimen Hologic avec bouchon non perçable.*



**Traitement des échantillons à l'aide du tube de lyse de spécimen Hologic avec bouchon non perçable**

- A. Débouchez le tube de lyse de spécimen Hologic et conservez le bouchon.
- B. Avant de le tester sur le Panther System, transférez 500 µL de spécimen dans un tube de lyse de spécimen Hologic
- C. Il est recommandé de refermer le tube et de l'inverser doucement trois fois pour assurer l'inactivation virale et un mélange homogène.
- D. Pour éviter tout contact avec le haut du tube, desserrez le bouchon et placez le tube échantillon dans le portoir d'échantillons.
- E. Retirez et jetez les bouchons. Inspectez le tube d'échantillon Si des bulles sont présentes, les retirer soigneusement du tube échantillon (par exemple, utilisez l'embout d'un écouvillon stérile ou une méthode similaire).
- F. Placez le dispositif de retenue du portoir sur le portoir d'échantillons et chargez le portoir dans l'instrument.

**Remarque :** Le traitement des spécimens à l'aide du tube de lyse de spécimen Hologic est destiné à être utilisé avec le logiciel de dosage du tube non bouchés Aptima SARS-CoV-2.

**Traitement des spécimens à l'aide d'un tube de lyse de spécimen personnalisé**

- A. À l'aide d'un tube générique stérile ou non stérile en verre siliciné, en polypropylène ou en matériau similaire dont le diamètre extérieur est compris entre 12 mm et 13 mm et la hauteur entre 75 mm et 100 mm, aliquotez 0,78 mL ± 0,07 mL de STM en vrac dans le tube à l'aide d'une pipette ou d'une pipette à répétition.

**Remarque:** Si les tubes sont préparés avant utilisation, les reboucher et les conserver entre 15 °C et 30 °C jusqu'à leur traitement.

- B. Débouchez le tube de lyse de spécimen personnalisé contenant le STM et conservez le bouchon.
- C. Avant de le tester sur le Panther System, transférez 500 µL de spécimen dans un tube de transfert de spécimen Aptima (Aptima Specimen Transfer Tube) contenant du STM.
- D. Il est recommandé de refermer le tube et de l'inverser doucement trois fois pour assurer l'inactivation virale et un mélange homogène.
- E. Pour éviter tout contact avec le haut du tube, desserrez le bouchon et placez le tube échantillon dans le portoir d'échantillons.
- F. Retirez et jetez les bouchons. Inspectez le tube d'échantillon Si des bulles sont présentes, les retirer soigneusement du tube échantillon (par exemple, utilisez l'embout d'un écouvillon stérile ou une méthode similaire).
- G. Placez le dispositif de retenue du portoir sur le portoir d'échantillons et chargez le portoir dans l'instrument.

**Remarque :** Le traitement des spécimens à l'aide du tube de lyse de spécimen personnalisé est destiné à être utilisé avec le logiciel de dosage du tube non fermé Aptima SARS-CoV-2.

**Traitement des spécimens à l'aide du tube de transfère de spécimen Aptima (Aptima Transfer Tube)**

- A. Avant de le tester sur le Panther System, transférez 1 mL de spécimen\* dans un tube de transfert de spécimen Aptima (Aptima Specimen Transfer Tube)\*\*.

**\*Remarque :** Lorsque vous testez des spécimens congelés, laissez-les parvenir à température ambiante avant toute utilisation.

**\*\*Remarque :** Vous pouvez également utiliser un tube multitest Aptima inutilisé (Aptima Multitest Tube) ou une tube unisex Aptima (Aptima Unisex Tube).

- B. Rebouchez soigneusement le tube de transfert de spécimen Aptima.
- C. Retournez délicatement le tube 2 à 3 fois pour que le spécimen se mélange de manière homogène.

**Remarque :** Le tube de transfert de spécimen Aptima (Aptima Specimen Transfer Tube) ne peut pas être testé sur un système à l'aide du logiciel de dosage de tubes non bouchés Aptima SARS-CoV-2.

**Traitement des spécimens pour les spécimens prélevés avec le kit de prélèvement multitest Aptima (Aptima Multitest Collection Kit)**

- A. Après avoir placé le spécimen\* recueilli dans le tube multitest Aptima à l'aide du kit de prélèvement multitest Aptima, aucun traitement supplémentaire n'est nécessaire.

**\*Remarque :** Lorsque vous testez des spécimens congelés, laissez-les parvenir à température ambiante avant toute utilisation.

**Remarque :** Sur un système utilisant le logiciel de dosage en tubes non fermés Aptima SARS-CoV-2, transférez le spécimen prélevé du tube multitest Aptima (Aptima Multitest Tube) vers un tube de lyse d'échantillon Hologic (Hologic Specimen Lysis Tube) ou un tube de lyse de spécimen personnalisé (custom Specimen Lysis Tube) comme décrit dans les sections de traitement des spécimen ci-dessus.

**Conservation des échantillons**

- A. Les échantillons à bord du Panther System peuvent être archivés pour des tests supplémentaires à date ultérieure.
- B. Conservation des échantillons avant et après le test
1. Les échantillons placés en tube multitest Aptima (Aptima Multitest Tube), en tube de spécimen Aptima (Aptima Specimen Tube) ou en tube de lyse de spécimen (Specimen Lysis Tube) doivent être conservés verticalement dans le portoir dans les conditions suivantes :
    - 2 °C à 30 °C jusqu'à 6 jours
  2. Les échantillons doivent être recouverts avec une nouvelle barrière de film plastique ou d'aluminium propre.
  3. Si les échantillons testés doivent être congelés ou envoyés, retirez les bouchons perçables et placez de nouveaux bouchons non perçables sur les tubes de spécimens. Si les échantillons doivent être envoyés dans un autre établissement pour y être testés, les températures recommandées doivent être maintenues. Avant d'être débouchés, les tubes de transport de spécimen doivent être centrifugés pendant 5 minutes à 420 FCR (force centrifuge relative) pour faire descendre la totalité du liquide au fond du tube. Évitez les éclaboussures et les contaminations croisées.

**Remarque :** Le bouchon pour tube Fisherbrand™ VersaClosure™ ne doit pas être utilisé pour boucher les tubes pour la congélation ou l'expédition.

### Transport des spécimens

Observez les conditions de conservation des spécimens décrites dans la section *Collecte et conservation des spécimens* en page 6.

**Remarque :** L'expédition des spécimens doit s'effectuer conformément aux réglementations locales, nationales et internationales applicables en matière de transport.

## Panther System

Les réactifs du test Aptima SARS-CoV-2 assay sont présentés ci-dessous pour le Panther System. Les symboles d'identification des réactifs sont également indiqués à côté du nom du réactif.

### Réactifs et matériels fournis

#### Aptima SARS-CoV-2 Assay Kit PRD-06419

250 tests (2cartons)

**Boîte réfrigérée Aptima SARS-CoV-2 (boîte 1 de 2)**  
(conservez entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité 250 tests par kit
<b>A</b>	<b>Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reagent (Réactif d'amplification Aptima SARS-CoV-2)</b> <i>Acides nucléiques non infectieux déshydratés dans une solution tamponnée contenant &lt; 5 % d'agent de remplissage.</i>	1 flacon
<b>E</b>	<b>Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reagent (Réactif enzymatique Aptima SARS-CoV-2)</b> <i>Transcriptase inverse et ARN polymérase déshydratées dans des solutions tamponnées HEPES contenant &lt; 10 % d'agent de remplissage.</i>	1 flacon
<b>P</b>	<b>Aptima SARS-CoV-2 Probe Reagent (Réactif-sonde Aptima SARS-CoV-2)</b> <i>Sondes ADN chimioluminescentes non infectieuses déshydratées dans une solution tamponnée de succinate contenant &lt; 5 % de détergent.</i>	1 flacon
<b>IC</b>	<b>Aptima SARS-CoV-2 Internal Control (Contrôle interne Aptima SARS-CoV-2)</b>	1 flacon

**Boîte à température ambiante Aptima SARS-CoV-2 (boîte 2 de 2)**  
(conservez entre 15 °C et 30 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité 250 tests par kit
<b>AR</b>	<b>Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reconstitution Solution (Solution de reconstitution de l'amplification Aptima SARS-CoV-2)</b> <i>Solution aqueuse contenant des conservateurs.</i>	1 x 27,7 mL
<b>ER</b>	<b>Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reconstitution Solution (Solution de reconstitution enzymatique Aptima SARS-CoV-2)</b> <i>Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.</i>	1 x 11,1 mL
<b>PR</b>	<b>Aptima SARS-CoV-2 Probe Reconstitution Solution (Solution de reconstitution de la sonde Aptima SARS-CoV-2)</b> <i>Solution tamponnée de succinate contenant &lt; 5 % de détergent.</i>	1 x 35,4 mL

**Boîte à température ambiante Aptima SARS-CoV-2 (boîte 2 de 2) (suite)**  
(conservez entre 15 °C et 30 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité 250 tests par kit
S	<b>Aptima SARS-CoV-2 Selection Reagent (Réactif de sélection Aptima SARS-CoV-2)</b> <i>Solution tamponnée de borate à 600 mM contenant un surfactant.</i>	1 x 108 mL
TCR	<b>Aptima SARS-CoV-2 Target Capture Reagent (Réactif de capture de cible Aptima SARS-CoV-2)</b> <i>Solution saline tamponnée contenant une phase solide et oligomères de capture.</i>	1 x 54 mL
	<b>Collets de reconstitution</b>	3
	<b>Fiche des codes à barres des lots de référence</b>	1 fiche

### Matériels requis et disponibles séparément

*Remarque: Les références du matériel disponible chez Hologic sont indiquées, sauf indication contraire.*

	<u>Réf. cat.</u>
Panther System	303095
Kit de liquides pour tests Aptima <i>(solution de lavage Aptima, tampon pour solution de désactivation Aptima et huile Aptima)</i>	303014 (1 000 tests)
Kit Aptima Auto Detect	303013 (1 000 tests)
Unités multi-tube (MTUs)	104772-02
Assortiment de sacs pour déchets Panther	902731
Couvre-déchets Panther	504405
Ou kit pour séries Panther <i>Contient des MTU, des sacs pour déchets, des couvercles à déchets, des liquides pour tests et les Auto Detect</i>	303096 (5 000 tests)
Embouts, 1 000 µL conducteurs, détecteur de liquide	10612513 (Tecan)
Aptima SARS-CoV-2 Controls Kit (Kit de contrôles Aptima SARS-CoV-2) <i>PC - Contrôle positif Aptima SARS-CoV-2. Acides nucléiques non infectieux dans une solution tamponnée contenant &lt; 5 % de détergent. Quantité 5 x 1,7 mL</i> <i>NC - Contrôle négatif Aptima SARS-CoV-2. Solution tamponnée contenant &lt; 5 % de détergent. Quantité 5 x 1,7 mL</i>	PRD-06420
Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit (Kit de prélèvement de spécimens sur écouvillons multitest Aptima)	PRD-03546
Kit de transfert d'échantillons Aptima	301154C
Kit de transfert d'échantillon Aptima — imprimable	PRD-05110
Kit de prélèvement sur écouvillon de spécimens unisexes Aptima pour écouvillons endocervicaux et écouvillons urétraux masculins	301041

	<u>Réf. cat.</u>
Tubes de lyse de spécimen Panther Fusion, 100 par sachet <i>le tube contient 0,71 mL de STM avec un bouchon perçable</i>	PRD-04339
Tube de lyse de spécimen Hologic (Hologic Specimen Lysis Tube), par 100 <i>le tube contient 0,71 mL de STM avec un bouchon non perçable</i>	PRD-06554
Tube de lyse de spécimen Hologic (Hologic Specimen Lysis Tube), par 1 200 <i>le tube contient 0,71 mL de STM avec un bouchon non perçable</i>	PRD-06660
Milieu de transport de spécimen, 1 flacon, 80 mL	PRD-04423
Milieu de transport de spécimen, 1 flacon, 120 mL	PRD-06657
Eau de javel, solution d'hypochlorite de sodium de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M)	—
Gants jetables	—
Remplacement non-penetrable caps (Bouchons non-perçables de rechange)	504415
Fisherbrand VersaClosure Fermetures de tube* (Bouchons de tube VersaClosure de Fisherbrand*), 1 000 par paquet <i>*un bouchon de tube à usage unique pour le tube de lyse de spécimen Hologic (PRD-06554 uniquement) après le test</i>	02-707
Kit de bouchons de remplacement pour 250 tests <i>Solutions de reconstitution de réactif d'amplification et de sonde</i> <i>Solution de reconstitution du réactif enzymatique</i> <i>TCR et réactifs de sélection</i>	—
	<i>CL0041 (100 bouchons)</i>
	<i>501616 (100 bouchons)</i>
	<i>CL0040 (100 bouchons)</i>

## Matériel optionnel

	<u>Réf. cat.</u>
Hologic Bleach Enhancer for Cleaning (Activateur d'eau de javel pour nettoyage Hologic) <i>pour le nettoyage régulier des surfaces et de l'équipement</i>	302101
Agitateur de tubes	—

## Procédure de test pour le Panther system

**Remarque :** Consultez le manuel de l'opérateur du Panther/Panther System pour de plus amples informations sur la procédure.

### A. Préparation de la zone de travail

Nettoyez les plans de travail sur lesquels les réactifs et les échantillons seront préparés. Essuyer les plans de travail avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,50 M). Laissez la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincez à l'eau. Ne laissez pas sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrez la surface de la pailasse sur laquelle les réactifs et les échantillons seront préparés avec des protecteurs de pailasse de laboratoire absorbants propres à envers plastifié.

**B. Reconstitution des réactifs/préparation d'un nouveau kit**

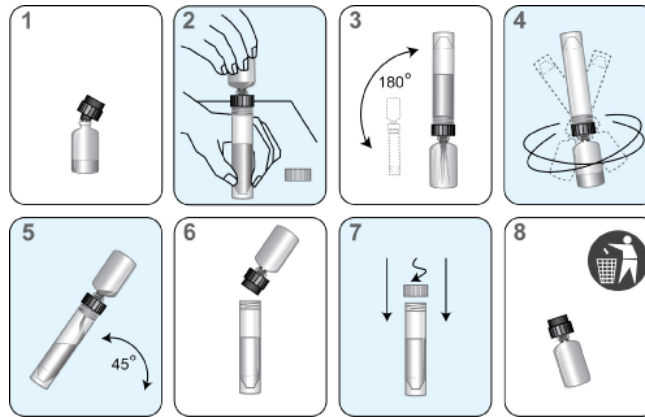
**Remarque :** La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre toute tâche sur le Panther system.

1. Afin de reconstituer le réactif d'amplification, le réactif enzymatique et le réactif-sonde, combinez les bouteilles de réactif lyophilisé à la solution de reconstitution. Si les solutions de reconstitution sont réfrigérées, laissez leur température s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser.
  - a. Associez chaque solution de reconstitution à son réactif lyophilisé. Vérifiez que la solution de reconstitution et le réactif ont des étiquettes de couleur correspondantes avant de mettre en place le collet de reconstitution.
  - b. Vérifiez les numéros de lot sur la fiche des codes à barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés sont appariés.
  - c. Ouvrez le flacon de réactif lyophilisé et insérez fermement l'extrémité du collet de reconstitution présentant une encoche dans l'ouverture du flacon (figure 1, étape 1).
  - d. Ouvrez la solution de reconstitution correspondante et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
  - e. Tout en tenant la bouteille de solution de reconstitution au-dessus de la pailleuse, insérez fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture de la bouteille (figure 1, étape 2).
  - f. Retournez délicatement l'assemblage de flacons. Laissez la solution s'écouler depuis le flacon dans le flacon en verre (figure 1, étape 3).
  - g. Bien mélanger la solution dans le flacon en verre en le faisant tourner (figure 1, étape 4).
  - h. Attendez que le réactif lyophilisé se mêle à la solution, puis retournez à nouveau l'assemblage de flacons en l'inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (figure 1, étape 5). Laissez la totalité du liquide retourner dans le flacon en plastique.
  - i. Retirez le collet de reconstitution et le flacon en verre (figure 1, étape 6).
  - j. Rebouchez la bouteille en plastique. Enregistrez les initiales de l'opérateur ainsi que la date de reconstitution sur l'étiquette (figure 1, étape 7).
  - k. Jetez le collet de reconstitution et le flacon en verre (figure 1, étape 8).

**Option :** Un mélange additionnel des réactifs d'amplification, enzyme et sonde à l'aide d'un agitateur de tube est permis. Les réactifs peuvent être mélangés en plaçant le flacon en plastique rebouché sur un agitateur de tube réglé à 20 RPM (ou équivalent) pendant au moins 5 minutes.

**Avertissement :** Évitez de faire de la mousse en reconstituant les réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du Panther System.

**Avertissement :** Il est nécessaire de mélanger soigneusement les réactifs pour obtenir des résultats précis.



**Figure 1. Procédure de reconstitution Panther System**

2. Préparation de la solution de réactif de capture de cible (wTCR)
  - a. Faites correspondre les flacons appropriés de TCR et de IC.
  - b. Vérifiez les numéros de lot des réactifs sur la fiche des codes à barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés du kit se correspondent.
  - c. Ouvrez la bouteille de TCR et posez le bouchon sur un plan de travail propre et couvert.
  - d. Ouvrez le flacon de l'IC et versez la totalité du contenu dans le flacon de TCR. Il est normal qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de l'IC.
  - e. Rebouchez la bouteille de TCR et retournez délicatement la solution pour mélanger le contenu. Évitez de faire de la mousse pendant cette étape.
  - f. Enregistrez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.
  - g. Jetez le flacon de l'IC et son bouchon.
3. Préparer le réactif de sélection
  - a. Vérifiez la correspondance entre le numéro de lot sur le flacon et le numéro de lot sur la fiche de codes à barres du lot de référence.
  - b. Enregistrez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.

**Remarque :** Mélangez bien les réactifs en les retournant doucement avant de les charger dans le système. Évitez la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.

#### C. Préparation des réactifs antérieurement reconstitués

1. Les réactifs d'amplification, enzymatique et sonde précédemment reconstitués doivent parvenir à température ambiante (15 °C à 30 °C) avant de démarrer le test.
 

**Option :** Les réactifs peuvent être portés à température ambiante en plaçant les réactifs d'amplification, enzymatique et sonde reconstitués sur un agitateur de tube réglé à 20 RPM (ou équivalent) pendant au moins 25 minutes.
2. Si le réactif-sonde reconstitué contient un précipité qui ne se remet pas en solution à température ambiante, chauffez la bouteille bouchée à une température n'excédant pas 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cela, le réactif-sonde peut être utilisé même s'il reste un précipité résiduel. Mélangez le réactif-sonde par retournement en veillant à ne pas former de mousse, avant de le charger sur le système.



3. Mélangez bien chaque réactif en le retournant doucement avant de le charger dans le système. Évitez la formation de mousse pendant le retournement des réactifs. Cette étape est pas nécessaire si les réactifs sont chargés dans le système directement après mélange sur l'agitateur de tube.
  4. Ne rajoutez pas de réactif dans les flacons. Le Panther System reconnaît et rejette les flacons qui ont été remplis à nouveau.
  5. *Il est nécessaire de mélanger soigneusement les réactifs pour obtenir des résultats précis.*
- D. Manipulation des spécimens à l'aide du tube de lyse de spécimen Panther Fusion (Panther Fusion Specimen Lysis Tube) ou du tube de transfert de spécimen Aptima (Aptima Specimen Transfer Tube).

**Remarque :** *Préparez des spécimens selon les instructions de traitement des spécimens dans la section Recueil et conservation des spécimens avant de les charger sur le Panther System.*

1. Inspectez les tubes d'échantillon avant de les charger sur le portoir. Si un tube d'échantillon contient des bulles ou a un volume inférieur à celui généralement observé, tapotez délicatement le fond du tube pour faire descendre le contenu vers le fond.

**Remarque :** *Pour les échantillons transférés vers le tube de lyse de spécimen Panther Fusion ou le tube de transfert de spécimen Aptima, afin d'éviter une erreur de traitement, assurez-vous que le volume d'échantillon est suffisant. Lorsque le spécimen adéquat est ajouté au tube, le volume est suffisant pour effectuer 3 extractions d'acide nucléique.*

- E. Manipulation des spécimens à l'aide du tube de lyse de spécimens Hologic (Hologic Specimen Lysis Tube) ou du tube de lyse de spécimens personnalisé (custom Specimen Lysis Tube)
1. Préparez les spécimens selon les instructions de traitement des spécimens indiquées dans la section Recueil et conservation des spécimens.

**Remarque :** *Pour les échantillons transférés dans le tube de lyse de spécimen Hologic ou le traiter ou le tube de lyse de spécimens personnalisé, afin d'éviter une erreur de traitement, assurez-vous que le volume du spécimen soit suffisant. Lorsque le spécimen adéquatement recueilli est ajouté au tube, le volume est suffisant pour effectuer 2 extractions d'acide nucléique.*

**Remarque :** *Lorsque vous utilisez le logiciel de dosage en tube non fermé Aptima SARS-CoV-2, retirez le bouchon du contrôle positif et négatif avant de le charger sur le Panther system.*

F. Préparation du système

1. Configurer le Fusion système selon les instructions du *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System) et *Remarques concernant la procédure*. Vérifiez que les portoirs de réactifs et les adaptateurs TCR utilisés sont de taille appropriée.
2. Chargez les échantillons.

## Remarques concernant la procédure

A. Contrôles

1. Pour fonctionner correctement avec le logiciel Aptima Assay pour le Panther System, une paire de contrôles est nécessaire. Les tubes de contrôle positif et négatif Aptima SARS-CoV-2 peuvent être chargés dans une quelconque position de portoir ou sur une quelconque rangée du compartiment des échantillons du Panther System. Le pipetage des spécimens commence lorsque l'une des deux conditions suivantes est satisfaite :

- a. Une série de contrôles est actuellement en cours de traitement par le système.
  - b. Des résultats valides pour les contrôles sont enregistrés dans le système.
2. Lorsque les tubes de contrôle ont été pipetés et qu'ils sont en cours de traitement pour un kit de réactifs spécifique, les échantillons de patient peuvent être traités avec le kit associé pendant 24 heures maximum, à moins que :
- a. Les résultats pour les contrôles ne soient pas valides.
  - b. Le kit de réactifs de test associé soit retiré du système.
  - c. Le kit de réactifs de test associé a dépassé les limites de stabilité.
3. Chaque tube de contrôle Aptima est prévu pour un seul test. Toute tentative de pipeter plus d'une fois du tube peut entraîner des erreurs de traitement.
4. Le pipetage des spécimens du patient commence lorsque l'une des deux conditions suivantes est satisfaite :
- a. Des résultats valides pour les contrôles sont enregistrés dans le système.
  - b. Une paire de contrôles est en cours de traitement par le système.

#### B. Température

La température ambiante est définie comme se situant entre 15 °C et 30 °C.

#### C. Poudre des gants

Comme avec tout système de réactifs, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.

#### D. Protocole de contrôle de la contamination en laboratoire pour le Panther System

Il existe plusieurs facteurs précis pouvant contribuer à la contamination, notamment le volume de tests, la direction du sens du travail, la prévalence de maladies et diverses activités de laboratoire. Ces facteurs doivent être pris en compte lors de l'établissement de la fréquence du contrôle des contaminations. Les intervalles de contrôle de la contamination doivent être définis en fonction des pratiques et procédures propres à chaque laboratoire.

Pour surveiller la contamination du laboratoire, il est possible d'effectuer la procédure suivante au moyen du Kit de prélèvement sur écouvillon de spécimens unisexe Aptima pour spécimens endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon :

1. Marquez les tubes de transport des écouvillons avec les numéros correspondants aux zones à tester.
2. Retirez l'écouvillon de prélèvement d'échantillon (écouvillon à tige bleue avec imprimé vert) de son emballage, humidifiez l'écouvillon dans le milieu de transport de spécimen (STM) et écouvillonnez la zone désignée d'un geste circulaire.
3. Insérez immédiatement l'écouvillon dans le tube de transport.
4. Cassez délicatement la tige de l'écouvillon au niveau de la barre de cassure en évitant toute projection du contenu.
5. Rebouchez hermétiquement le tube de transport de l'écouvillon.
6. Répétez les Étapes 2 à 5 pour toutes les zones à écouvillonner.

- E. Si les résultats sont positifs, voir *Interprétation des résultats*. Pour des informations concernant la surveillance des contaminations spécifiques au Panther System, contactez le service technique d'Hologic.

## Contrôle de la qualité

Un résultat d'amplification de spécimen peut être invalidé par le Panther System si des problèmes surviennent lors de l'exécution du test. Les spécimens ayant des résultats de test non valides doivent être retestés.

### Contrôles négatifs et positifs

Afin de produire des résultats valides, un jeu de contrôles du test doit être analysé. Un réplicat du contrôle négatif du test et un du contrôle positif doivent être testés chaque fois qu'un nouveau kit est chargé sur le Panther System ou lorsque le jeu de contrôles valides en cours d'utilisation a expiré.

Le Panther System est configuré pour nécessiter l'amplification des contrôles de test à un intervalle spécifié par l'administrateur d'au plus 24 heures. Le logiciel du Panther System avertit l'opérateur lorsque des contrôles de test sont nécessaires et ne démarre pas de nouveaux tests jusqu'à ce que les contrôles de test aient été chargés et aient commencé à être traités.

Le Panther System vérifie automatiquement les critères d'acceptation des contrôles du test lors du traitement. Pour générer des résultats valides, les contrôles de test doivent passer une série de vérifications de validité effectuées par le Panther System.

Si les contrôles de test passent toutes les vérifications de validité, ils sont considérés comme valides pour l'intervalle de temps spécifié par l'administrateur. Lorsque l'intervalle de temps est écoulé, les contrôles de test sont considérés expirés par le Panther System qui requiert un nouveau jeu de contrôles de test à tester avant de démarrer tout nouvel échantillon.

Si l'un des contrôles de test échoue aux vérifications de validité, le Panther System invalide automatiquement les échantillons affectés et requiert de tester un nouveau jeu de contrôles de test avant de démarrer tout nouvel échantillon.

### Contrôle interne

Un contrôle interne est ajouté à chaque échantillon avec le wTCR. Le logiciel du Panther System vérifie automatiquement les critères d'acceptation du contrôle interne lors du traitement. La détection du contrôle interne n'est pas nécessaire pour les échantillons qui sont positifs pour le SARS-CoV-2. Le contrôle interne doit être détecté dans tous les échantillons qui sont négatifs pour les cibles SARS-CoV-2 ; les échantillons qui ne respectent pas ce critère seront signalés comme étant non valides. Chaque échantillon dont le résultat est non valide doit être analysé à nouveau.

Le Panther System est conçu pour vérifier avec précision les processus lorsque les procédures sont effectuées suivant les instructions fournies dans cette notice et le *Manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System*.

## Interprétation des résultats

Le Panther System détermine automatiquement les résultats des tests des échantillons et des contrôles. Un résultat de test peut être négatif, positif ou non valide.

Le Tableau 1 montre les résultats rapportés dans une série valide avec l'interprétation des résultats.

Tableau 1 : Interprétation des résultats

Résultats du SARS-CoV-2	Résultat IC	Interprétation
Nég.	Valide	SARS-CoV-2 non détecté.
POS	Valide	SARS-CoV-2 détecté.
Non valide	Non valide	Non valide. Une erreur est survenue lors de la génération du résultat ; retester l'échantillon.

Remarque : La détection du contrôle interne n'est pas nécessaire pour les échantillons qui sont positifs pour le SARS-CoV-2.

## Limites

- A. L'utilisation de ce test est limitée au personnel ayant été formé à la procédure. Le non-respect de ces instructions peut donner lieu à des résultats erronés.
- B. L'obtention de résultats fiables repose sur le recueil, le transport, la conservation et le traitement appropriés des spécimens.
- C. Évitez les contaminations en respectant les bonnes pratiques de laboratoire et des procédures décrites dans cette notice.
- D. Un résultat positif indique la détection de l'acide nucléique du virus en cause. L'acide nucléique peut persister même après que le virus n'est plus viable.

## Performance du Panther SARS-CoV-2 Assay

### Sensibilité analytique

La sensibilité analytique (limite de détection ou LoD) du Aptima SARS-CoV-2 assay a été déterminée en testant des dilutions en série de spécimens sur écouvillons nasopharyngés, groupés, cliniquement négatifs inoculés une culture de virus SARS-CoV-2 inactivés (USA-WA1/2020 ; BEI Ressources ; NR-52281). Dix répliquats de chaque dilution en série ont été évalués en utilisant chacun des deux lots de réactifs de dosage sur deux systèmes Panther. La LoD a été déterminée à 0,01 TCID<sub>50</sub> /mL et vérifié en testant 20 autres répliquats avec un lot de réactifs de dosage. La limite de détection a également été confirmée en utilisant une solution saline, le liquide d'Amies et un milieu de transport de spécimen (STM) pour écouvillon.

La sensibilité analytique du dosage Aptima SARS-COV-2 a également été évaluée à l'aide de matériel de référence provenant de trois vendeurs commerciaux. Des dilutions en série du matériel de référence ont été effectuées en STM et 20 ou plus répliquats ont été testées à chaque niveau en utilisant pour chacun deux lots de réactifs de dosage sur deux systèmes Panther. Les matériaux de référence et les niveaux de dilution les plus bas entraînant une détection ≥ 95 % sont répertoriés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Évaluation de la sensibilité analytique du matériel de référence commercial

Vendeur	Nom	Référence n°	Lot n°	Sensibilité analytique
ZeptoMetrix	SARS-CoV-2 External Run control	NATSARS(COV2)-ERC	324332	83 copies/mL
SeraCare	AccuPlex SARS-Cov-2 Reference Material	0505-0126	10483977	83 copies/mL
Exact Diagnostic	SARS-CoV-2 Standard	COV019	20033001	83 copies/mL

### Sensibilité analytique avec le processus de traitement du tube de transfert de spécimen Aptima

La sensibilité analytique (limite de détection) déterminée de 0,01 TCID<sub>50</sub>/mL du Aptima SARS-COV-2 assay a été confirmée par le processus de traitement pour la préparation des spécimens en tube de transfert de spécimen Aptima. La confirmation a été réalisée à l'aide d'une culture de virus SARS-CoV-2 inactivés (USA-QA1/2020 ; BEI Ressources ; NR-52281) sur écouvillon nasopharyngé (NP) cliniquement négatif, solution saline, liquide d'Amies et un milieu de transport de spécimen (STM) pour écouvillon en testant 20 répliquats avec un lot de réactifs (Tableau 3).

Tableau 3 : Confirmation de la LoD avec le processus de traitement du tube de transfert de spécimen Aptima

Cible	Matrice	N Valide	N Positif	% Positif	Moy kRLU	Écart-type kRLU	%CV
Virus SARS-CoV-2 inactivés	Écouvillon NP	20	20	100 %	1 063	61	5,8 %
	STM	20	20	100 %	1 064	116	10,9 %
	Solution saline	20	20	100 %	1 102	60	5,4 %
	Liquide d'Amies	20	20	100 %	1 101	51	4,7 %

## Inclusivité

L'inclusivité du Aptima SARS-CoV-2 assay a été évaluée à l'aide d'une analyse *in silico* des oligos de capture de cible, des amorces d'amplification et des sondes de détection relatives à 9 896 séquences de SARS-CoV-2 disponibles dans les bases de données de gènes du NCBI et GISAID. Toute séquence comportant des informations de séquence manquantes ou ambiguës a été supprimée de l'analyse, ce qui a entraîné l'évaluation de 9 879 séquences pour la première région cible du test et de 9 880 séquences pour la deuxième région cible. L'analyse *in silico* a montré 100 % d'homologie avec les oligos de test des deux systèmes cibles pour 9 749 (98,5 %) des séquences évaluées et 100 % d'homologie avec les oligos de test d'au moins un système cible pour toute les 9 896 séquences. Il n'y avait pas de séquences évaluées avec des prédictions d'erreur d'appariement qui auraient un impact sur la liaison ou la performance des deux systèmes cibles.

## Spécificité analytique et interférence microbienne

La spécificité analytique du Aptima SARS-CoV-2 assay a été évaluée en testant 30 micro-organismes représentant les pathogènes respiratoires ou des espèces étroitement apparentées les plus fréquentes (tableau 4). Les bactéries ont été testées à  $10^6$  UFC/mL et les virus ont été testés à  $10^5$  TCID<sub>50</sub>/mL, sauf indication contraire. Les micro-organismes ont été testés avec et sans la présence du virus SARS-CoV-2 inactivé à 3xLoD. La spécificité analytique du Aptima SARS-CoV-2 assay a été de 100 % sans aucune interférence microbienne.

En plus des tests de micro-organismes, l'analyse *en Silco* a été effectuée pour évaluer la spécificité du test par rapport aux micro-organismes énumérés dans le tableau 4. L'analyse *in silico* n'a montré aucune activité croisée probable à l'une quelconque des 112 séquences GenBank évaluées.

Tableau 4 : Spécificité analytique et interférences microbiennes avec des micro-organismes du Aptima SARS-CoV-2

Microorganisme	Concentration	Microorganisme	Concentration
Coronavirus 229E humain	1E+5 TCID <sub>50</sub> /mL	Virus Parainfluenza de type 1	1E+5 TCID <sub>50</sub> /mL
Coronavirus OC43 humain	1E+5 TCID <sub>50</sub> /mL	Virus Parainfluenza de type 2	1E+5 TCID <sub>50</sub> /mL
Coronavirus HKU1 <sup>1</sup> humain	1E+6 copies/mL	Virus Parainfluenza de type 3	1E+5 TCID <sub>50</sub> /mL
Coronavirus NL63 humain	1E+4 TCID <sub>50</sub> /mL	Virus Parainfluenza de type 4	1E+3 TCID <sub>50</sub> /mL
SARS-coronavirus <sup>1</sup>	1E+6 copies/mL	Influenza A	1E+5 TCID <sub>50</sub> /mL
MERS-coronavirus	1E+4 TCID <sub>50</sub> /mL	Influenza B	2E+3 TCID <sub>50</sub> /mL
Adénovirus (par exemple C1 Ad. 71)	1E+5 TCID <sub>50</sub> /mL	Entérovirus (par exemple EV68)	1E+5 TCID <sub>50</sub> /mL
Métapneumovirus humain (hMPV)	1E+6 TCID <sub>50</sub> /mL	Rhinovirus	1E+4 TCID <sub>50</sub> /mL
Virus respiratoire syncytial	1E+5 TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Legionella pneumophila</i>	1E+6 UFC/mL
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1E+6 UFI/mL	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1E+6 TCID <sub>50</sub> /mL
<i>Haemophilus influenzae</i>	1E+6 UFC/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1E+6 UFC/mL
<i>Bordetella pertussis</i>	1E+6 UFC/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1E+6 UFC/mL
<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	1E+6 nuc/mL	<i>Streptococcus salivarius</i>	1E+6 UFC/mL
<i>Candida albicans</i>	1E+6 UFC/mL	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1E+6 UFC/mL
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1E+6 UFC/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1E+6 UFC/mL
Lavages nasaux humains groupés <sup>2</sup> - pour représenter la flore microbienne dans diverses voies respiratoires humaines	SO		

<sup>1</sup> Les virus cultivés et les acides nucléiques de génome complet purifiés pour les coronavirus humains HKU1 et SARS ne sont pas facilement disponibles. Les TIV de coronavirus HKU1 et SARS correspondant aux régions du gène ORF1ab ciblées par le test ont été utilisées pour évaluer la réactivité croisée et l'interférence microbienne.

<sup>2</sup> Au lieu d'évaluer des lavages nasaux humains groupés, les tests de 30 spécimens sur écouvillons NP cliniquement négatifs de NP a été réalisés pour représenter la diversité de la flore microbienne dans les voies respiratoires humaines.

## Performance clinique

La performance clinique du Aptima SARS-COV-2 assay a été évaluée par comparaison au Panther Fusion SARS-COV-2 assay (Hologic, Inc.) à l'aide d'un panel d'échantillons cliniques restants. Pour cette étude, des spécimens nasopharyngés ont été prélevés chez des patients américains présentant des signes et des symptômes d'infection respiratoire.

Le pourcentage de concordance positive (PPA) et le pourcentage de concordance négative (NPA) a été calculé par rapport au résultat attendu du Panther Fusion assay, comme indiqué dans le tableau 5. Le Aptima SARS-COV-2 assay a montré des concordances positives et négatives de 100 % et 98,2 %, respectivement.

Le lavage/aspiration nasopharyngé, les aspirats nasaux, les écouvillons nasaux et les écouvillons des cornets nasaux sont des spécimens acceptables pour tester les infections respiratoires virales. Cependant, la performance de ces types de spécimens n'a pas été évaluée spécifiquement avec le Aptima SARS-COV-2 assay.

Tableau 5 : Concordance clinique du Aptima SARS-CoV-2

		Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay	
		Positif	Négatif
Aptima SARS-CoV-2 Assay	Positif	50	1
	Négatif	0	54

Pourcentage de concordance positive : (IC à 95 %) : 100 % (92,9 % - 100 %)

Pourcentage de concordance négative : (IC à 95 %) : 98,2 % (90,4 % - 99,7 %)

Concordance d'ensemble : (IC à 95 %) : 99,0 % (94,8 % - 99,8 %)

### Performances cliniques avec panel artificiel

La performance clinique du dosage Aptima SARS-CoV-2 utilisant le processus de traitement des spécimens du tube de transfert de spécimen Aptima a été évaluée par rapport à un panel de spécimens artificiels. Pour l'étude, un panel de 115 spécimens nasopharyngés cliniques restants a été testé à l'aide des processus de traitement du tube de lyse de spécimen Panther Fusion et de tube de transfert de spécimen Aptima. Tous les spécimens ont été prélevés chez des patients américains présentant des signes et des symptômes d'infection respiratoire. Le panel était composé de 65 spécimens SARS-CoV-2 positifs et 50 spécimens SARS-CoV-2 négatifs. Parmi les 65 spécimens positifs, 40 étaient à des concentrations de 0,5-2 x LoD et 25 étaient à des concentrations de 3-5 x LOD utilisant une culture de virus SARS-CoV-2 inactivés (USA-QA1/2020; Ressources BEI; NR-52281) comme cible.

Le pourcentage de concordance positive (PPA) et le pourcentage de concordance négative (NPA) pour les deux processus de traitement des spécimens ont été calculés en fonction du résultat attendu du panel de spécimens artificiels, comme le montre le tableau 6 pour le tube de transfert de spécimen Aptima et le tableau 7 pour le tube de lyse de spécimen. Les caractéristiques de détection pour les spécimens artificiels ont été calculées par concentration de la cible, comme indiqué dans le tableau 8. Les deux processus de traitement des spécimens ont montré une concordance de 100 % pour les panels évalués.

Tableau 6 : Performances du processus de traitement des tubes de transfert de spécimen Aptima par rapport aux résultats attendus

		Résultat attendu		
		Positif	Négatif	Total
Tube de transfert de spécimen Aptima	Positif	65	0	65
	Négatif	0	50	50
Total		65	50	115

Concordance d'ensemble : 100 % (96,8 % - 100 %)

Concordance positive 100 % (94,4 % - 100 %)

Concordance négative 100 % (92,9 % - 100 %)



Tableau 7 : Performances du processus de traitement des tubes de lyse de spécimen par rapport aux résultats attendus

		Résultat attendu		
		Positif	Négatif	Total
Résultats du tube de lyse de spécimen	Positif	65	0	65
	Négatif	0	50	50
	Total	65	50	115

Concordance d'ensemble : 100 % (96,8 % - 100 %)

Concordance positive 100 % (94,4 % - 100 %)

Concordance négative 100 % (92,9 % - 100 %)

Tableau 8 : Caractéristiques de détection des spécimens artificiels sur écouvillon nasopharyngé

Conc. Cible	Processus de traitement des tubes de transfert de spécimen Aptima						Processus de traitement des tubes de lyse de spécimen					
	n Valide	n Positif	% Positif	Moyenne kRLU	Écart type kRLU	%CV	n Valide	n Positif	% Positif	Moyenne kRLU	Écart type kRLU	%CV
Nég.	50	0	0	299	9,7	3,2	50	0	0	300	9,3	3,1
0,5 x LoD	10	10	100	1 050	208,5	19,9	10	10	100	1 153	113,0	9,8
1,0 x LoD	10	10	100	1 176	102,1	8,7	10	10	100	1 205	24,3	2,0
1,5 x LoD	10	10	100	1 222	31,6	2,6	10	10	100	1 223	21,9	1,8
2,0 x LoD	10	10	100	1 225	22,6	1,8	10	10	100	1 237	26,0	2,1
3,0 x LoD	10	10	100	1 228	13,6	1,1	10	10	100	1 215	25,5	2,1
4,0 x LoD	5	5	100	1 238	16,7	1,4	5	5	100	1 212	12,5	1,0
5,0 x LoD	10	10	100	1 237	18,2	1,5	10	10	100	1 246	28,3	2,3

### Performances cliniques avec des spécimens positifs naturels infectés

Les performances cliniques du Aptima SARS-CoV-2 assay utilisant le processus de traitement des spécimens en tube de transfert de spécimen Aptima ont été évaluées par rapport au processus de traitement des tubes de lyse de spécimen testé avec les dosages Aptima et Panther Fusion SARS-CoV-2. Pour l'étude, trois dilutions de 15 spécimens uniques d'écouvillonnages nasopharyngés positifs pour le COV-SARS-2 ont été préparées et traitées à l'aide des deux processus de traitement. Les échantillons de SARS-CoV-2 ont été précédemment déterminés positifs à l'aide d'un test moléculaire non de chez Hologic.

Le pourcentage de concordance positive entre le Aptima SARS-CoV-2 assay utilisant le processus de traitement du tube de transfert de spécimen Aptima et du tube de lyse de spécimen était de 97,5 % (87,1 % – 99,6 %) et de 100 % (91,0 % – 100,0 %), respectivement, par rapport au Panther Fusion SARS-CoV-2 assay utilisant le processus de traitement du tube de lyse de spécimen comme référence. Le pourcentage de concordance positive du processus de traitement du tube de transfert de spécimen Aptima était de 95,0 % (83,5 % – 98,6 %) par rapport au processus de traitement du tube de lyse de spécimen comme référence.

## Bibliographie

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/>. Accédé en septembre 2017.



**Hologic BVBA**  
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

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

Service clients : +1 800 442 9892  
customersupport@hologic.com

Service technique : +1 888 484 4747  
molecularsupport@hologic.com

Pour obtenir des coordonnées supplémentaires, visitez [www.hologic.com](http://www.hologic.com).

Hologic, Aptima, Panther et Panther Fusion sont des marques de commerce et/ou des marques déposées de Hologic, Inc. et/ou de ses filiales, aux États-Unis et/ou dans d'autres pays.

Toutes les autres marques commerciales qui peuvent apparaître dans cette notice sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.

Ce produit peut faire l'objet d'un ou plusieurs brevets américains décrits à l'adresse [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

©2020 Hologic, Inc. Tous droits réservés.

AW-21491-901 Rév. 002  
2020-06