

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

Do diagnostyki *in vitro*.

Tylko na eksport poza USA.

SPIS TREŚCI

Informacje ogólne	2
Przeznaczenie	2
Podsumowanie i objaśnienie testu	2
Zasady procedury	3
Ostrzeżenia i środki ostrożności	4
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi	6
Pobieranie i przechowywanie próbek	7
Transport próbek	10
Łączenie próbek – określenie właściwej strategii wdrażania i monitorowania	11
Przygotowywanie próbek do łączenia	11
Panther System	12
Dostarczone odczynniki i materiały	12
Materiały wymagane i dostępne osobno	13
Procedura testu w Panther System	14
Uwagi dotyczące procedury	17
Kontrola jakości	18
Interpretacja wyników	19
Ograniczenia	21
Charakterystyka testu Panther SARS-CoV-2	22
Bibliografia	30

Informacje ogólne

Przeznaczenie

Test Aptima™ SARS-CoV-2 jest testem diagnostycznym *in vitro* opartym na amplifikacji kwasu nukleinowego, przeznaczonym do jakościowego wykrywania RNA wirusa SARS-CoV-2 wyizolowanego i oczyszczonego z próbek wymazu z jamy nosowo-gardłowej (NP), jamy nosowej, małżowiny środkowej i jamy ustno-gardłowej (OP), popłuczyn/aspiratów z jamy nosowo-gardłowej, aspiratów z nosa lub śliny uzyskanych od osób spełniających kryteria kliniczne i/lub epidemiologiczne COVID-19, w tym od osób bez objawów lub innych powodów podejrzenia infekcji COVID-19.

Ten test jest również przeznaczony do jakościowego wykrywania kwasu nukleinowego wirusa SARS-CoV-2 w próbkach zbiorczych zawierających do 5 pojedynczych próbek wymazów z górnych dróg oddechowych (tj. wymazy z jamy nosowo-gardłowej, jamy nosowej, małżowiny środkowej lub jamy ustno-gardłowej), gdzie każda próbka jest pobierana pod obserwacją lub przez pracownika służby zdrowia przy użyciu indywidualnych fiolek zawierających podłoża do transportu. Ujemne wyniki badań zbiorczych nie powinny być traktowane jako ostateczne. Jeśli objawy kliniczne i dolegliwości pacjenta nie są zgodne z wynikiem ujemnym i jeśli wyniki są niezbędne do prowadzenia pacjenta, wówczas należy rozważyć przeprowadzenie indywidualnego badania. Próbki wchodzące w skład puli z wynikiem dodatnim lub nieważnym należy zbadać indywidualnie przed zgłoszeniem wyniku. Próbki z niską wiremią mogą nie zostać wykryte w zbiorach próbek ze względu na obniżoną czułość testów zbiorczych. W przypadku określonych pacjentów, których próbki były przedmiotem łączenia, informacja o tym, że podczas badania zastosowano łączenie próbek, musi zostać dołączona do raportu z wynikami dla dostawcy usług medycznych.

Wyniki dotyczą identyfikacji RNA SARS-CoV-2. RNA SARS-CoV-2 jest zazwyczaj wykrywalne w próbkach pobranych z górnych dróg oddechowych podczas ostrej fazy infekcji. Wyniki dodatnie wskazują na obecność RNA SARS-CoV-2. Do określenia statusu zakażenia pacjenta konieczna jest korelacja kliniczna z historią pacjenta i innymi informacjami diagnostycznymi. Dodatnie wyniki nie wykluczają infekcji bakteryjnej lub równoległego zakażenia innymi wirusami.

Wyniki ujemne nie wykluczają zakażenia SARS-CoV-2 i nie powinny być stosowane jako jedyna podstawa do podejmowania decyzji dotyczących postępowania z pacjentem. Ujemne wyniki należy powiązać z obserwacjami klinicznymi, historią pacjenta i informacjami epidemiologicznymi.

Test Aptima SARS-CoV-2 w systemach Panther™ i Panther Fusion™ jest przeznaczony do użytku przez personel laboratoriów klinicznych specjalnie poinstruowany i przeszkolony w zakresie obsługi systemów Panther i Panther Fusion oraz procedur diagnostycznych *in vitro*.

Podsumowanie i objaśnienie testu

Koronawirusy to duża rodzina wirusów, które mogą wywoływać choroby u zwierząt lub ludzi. Wiadomo, że u ludzi kilka koronawirusów wywołuje infekcje układu oddechowego, począwszy od zwykłego przeziębienia, a skończywszy na poważniejszych chorobach, takich jak bliskowschodni zespół niewydolności oddechowej (MERS) i ciężki ostry zespół niewydolności oddechowej (SARS). Ostatnio odkryty koronawirus, SARS-CoV-2, powoduje powiązaną chorobę koronawirusową COVID-19. Ten nowy wirus i choroba nie były znane przed wybuchem epidemii w Wuhan, w Chinach, w grudniu 2019 r.¹

Najczęstszymi objawami choroby COVID-19 są gorączka, zmęczenie i suchy kaszel. U niektórych pacjentów mogą wystąpić bóle, niedrożność nosa, katar, ból gardła, utrata smaku lub zapachu lub biegunka. Objawy te są zwykle łagodne i zaczynają się stopniowo. Niektórzy ludzie zarażają się, ale nie mają żadnych objawów i nie odczuwają złego samopoczucia. Choroba może rozprzestrzeniać się drogą kropelkową, gdy zakażona osoba kaszle lub kicha. Kropelki te mogą trafić do ust lub nosa osób znajdujących się w pobliżu lub ewentualnie dostać się do płuc przez drogi oddechowe.² Krople te mogą również lądować na przedmiotach i powierzchniach wokół osoby. Inne osoby mogą zarazić się SARS-CoV-2 dotykając tych przedmiotów lub powierzchni, a następnie dotykając swoich oczu, nosa lub ust.

Wirus wywołujący chorobę COVID-19 zaraża ludzi i łatwo się rozprzestrzenia.³ 11 marca 2020 r. epidemia COVID-19 została uznana przez Światową Organizację Zdrowia (WHO) za pandemię.^{4,5}

Zasady procedury

Test Aptima SARS-CoV-2 łączy w sobie technologie wychwytywania cząsteczek szukanych, amplifikacji z mediacją transkrypcji (TMA) oraz testu podwójnej kinetyki (DKA).

Próbki są pobierane i przenoszone do odpowiednich probówek transportowych. Roztwory transportowe w tych probówkach uwalniają docelowe RNA i chronią je przed degradacją podczas przechowywania. Gdy test Aptima SARS-CoV-2 wykonywany jest w laboratorium, docelowe cząsteczki RNA są izolowane z próbek za pomocą oligomerów wychwytyjących poprzez wychwyt cząsteczek szukanych wykorzystujący mikrocząsteczki magnetyczne. Oligomery wychwytyjące zawierają sekwencje komplementarne do swoistych regionów docelowych cząsteczek, a także ciąg reszt deoksyadenozyny. Dla każdej cząsteczki docelowej jest stosowany odrębny oligomer wychwytyjący. W kroku hybrydyzacji regiony swoiste dla sekwencji oligomerów wychwytyjących wiążą się ze swoistymi regionami cząsteczek docelowych. Następnie kompleks oligomer wychwytyjący:cząsteczka docelowa jest wychwytywany z roztworu poprzez obniżenie temperatury reakcji do temperatury pokojowej. Ten spadek temperatury umożliwia zajście hybrydyzacji między regionem reszt deoksyadenozyny oligomeru wychwytyjącego a cząsteczkami polideoksytymidyny, które są połączone wiązaniami kowalencyjnymi z cząstkami magnetycznymi. Mikrocząstki ze związanymi z nimi wychwyconymi docelowymi cząsteczkami są przyciągane do ścianki naczynia reakcyjnego przy użyciu magnesów, a supernatant jest aspirowany. Cząsteczki są przepłukiwane, aby usunąć pozostałości macierzy komórkowej próbki, która może zawierać inhibitory reakcji amplifikacji. Po zakończeniu kroków wychwytywania cząsteczek szukanych, próbki są gotowe do amplifikacji.

Analiza amplifikacji cząsteczek szukanych opiera się na zdolności komplementarnych starterów oligonukleotydowych do swoistego łączenia się i umożliwia enzymatyczną amplifikację nitek docelowego kwasu nukleinowego. Test Aptima SARS-CoV-2 replikuje swoiste regiony RNA wirusa SARS-CoV-2. Wykrywanie sekwencji produktu amplifikacji RNA (amplikonu) odbywa się za pomocą hybrydyzacji kwasów nukleinowych. Jednopasmowe chemiluminescencyjne sondy kwasu nukleinowego, które są unikalne i komplementarne do regionu każdego docelowego amplikonu i amplikonu Kontroli Wewnętrznej (IC), są znakowane różnymi cząsteczkami estru akrydyny (AE). Sondy znakowane AE łączą się z amplikonem, tworząc stabilne hybrydy. Odczynnik selekcyjny odróżnia sondę zhybrydyzowaną od niezhybrydyzowanej, eliminując generowanie sygnału przez sondę niezhybrydyzowaną. Podczas etapu detekcji, światło emitowane przez znakowane hybrydy jest mierzone jako sygnał fotonowy w luminometrze i podawane jako względne jednostki światła (RLU). Różnice w profilach kinetycznych oznakowanych sond w teście DKA umożliwiają rozróżnienie sygnału. Profile kinetyczne są

tworzone na podstawie pomiaru wytwarzania fotonów podczas odczytu detekcyjnego. Reakcja wykrywania chemiluminescencyjnego danego sygnału IC wykazuje bardzo szybką kinetykę, a jej typ kinetyczny nosi nazwę sygnału błyskowego. Reakcja chemiluminescencyjnej detekcji dla sygnału SARS-CoV-2 jest stosunkowo wolniejsza, a jej typ kinetyczny nosi nazwę sygnału żarowego. Wyniki testu są określone przez odcięcie na podstawie całkowitej RLU i typu krzywej kinetycznej.

Test Aptima SARS-CoV-2 amplifikuje i wykrywa dwa konserwowane regiony genu ORF1ab w tej samej reakcji, wykorzystując ten sam typ kinetyczny sygnału żarowego. Te dwa regiony nie są zróżnicowane, a amplifikacja jednego lub obu regionów prowadzi do uzyskania sygnału RLU. Wyniki testu są określone przez odcięcie na podstawie całkowitej RLU i typu krzywej kinetycznej.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

- A. Do diagnostyki *in vitro*. Należy uważnie przeczytać całą ulotkę dołączoną do opakowania oraz *Instrukcję obsługi systemu Panther/Panther Fusion*.
- B. Test ten powinien wykonywać jedynie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie stosowania tego testu oraz z zakresu postępowania z materiałem zakaźnym. Jeśli dojdzie do rozlania, natychmiast zdezynfekować, stosując odpowiednie procedury w miejscu pracy.
- C. Postępować ze wszystkimi próbkami i przetwarzać je tak, jakby były zakaźne, zgodnie z praktykami i procedurami laboratoryjnymi, które stanowią podstawę dobrej praktyki i procedur mikrobiologicznych (GMPP). Należy odnieść się do wytycznych Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) dotyczących bezpieczeństwa biologicznego w laboratoriach w związku z chorobą wywołaną przez koronawirusa (COVID-19): wytyczne tymczasowe. [https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-(covid-19)).
- D. Próbkę mogą być zakaźne. W czasie wykonywania tego testu przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności. Właściwe metody postępowania z próbkami oraz utylizacji próbek powinien określić kierownik laboratorium. Do wykonania opisywanej tutaj procedury diagnostycznej może być dopuszczony wyłącznie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie postępowania z materiałami zakaźnymi.⁶
- E. Jeżeli podejrzewa się zakażenie SARS-CoV-2 na podstawie aktualnych klinicznych kryteriów przesiewowych zalecanych przez organy zdrowia publicznego, próbki należy pobierać z zastosowaniem odpowiednich środków ostrożności w zakresie kontroli zakażeń.
- F. Stosować wyłącznie dostarczone lub określone jednorazowe wyposażenie laboratoryjne.
- G. Należy stosować odpowiednie środki ochrony indywidualnej podczas pobierania i przetwarzania próbek od osób podejrzanych o zakażenie SARS-CoV-2, jak określono w CDC Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV).
- H. W czasie pracy z próbkami i odczynnikami nosić jednorazowe rękawiczki bezpudrowe, osłonę oczu oraz odzież laboratoryjną. Po zakończeniu pracy z próbkami i odczynnikami należy umyć ręce.
- I. Wszystkie materiały, które miały kontakt z próbkami i odczynnikami należy usuwać zgodnie z obowiązującymi przepisami krajowymi, międzynarodowymi i regionalnymi.

- J. Daty ważności wymienione na Probówkach do lizy próbek Panther Fusion, Probówkach do lizy próbek Hologic, Zestawie do pobierania próbek Aptima Multitest, Zestawie do pobierania próbek wymazów Aptima Unisex, Zestawie do przenoszenia próbek Aptima oraz Zestawie do pobierania próbek Hologic Direct Load Capture Cap dotyczą przeniesienia próbki do próbki, a nie badania próbki. Probki pobrane/przeniesione w dowolnym czasie przed upływem daty ważności mogą być badane, o ile były transportowane i przechowywane zgodnie z odpowiednią ulotką załączoną do opakowania, nawet jeżeli minęły daty ważności.
- K. W trakcie transportu próbek zapewnić prawidłowe warunki przechowywania; pozwoli to zachować prawidłowy stan próbek. Nie oceniono stabilności próbek w warunkach transportu innych niż zalecane.
- L. Badanie próbki śliny, która była przechowywana w warunkach niezgodnych z wytycznymi, może prowadzić do zwiększonego ryzyka nieprawidłowego wyniku.
- M. W czasie pracy z próbkami unikać zanieczyszczenia krzyżowego. W próbkach może występować niezwykle wysokie stężenie wirusów lub innych organizmów. Dopilnować, aby pojemniki na próbki nie wchodziły we wzajemny kontakt oraz utylizować zużyte materiały tak, aby nie przenosić ich nad otwartymi pojemnikami. Zmienić rękawiczki, jeżeli miały kontakt z próbkami.
- N. Nie używać odczynników lub kontroli po upływie daty ważności.
- O. Składniki testu należy przechowywać w zalecanych warunkach przechowywania. Więcej informacji znajduje się w *Wymaganiach dotyczących przechowywania odczynników i postępowania z nimi* (strona 6) oraz *Procedurze testu w systemie Panther System* (strona 14).
- P. Nie należy łączyć żadnych odczynników analitycznych ani płynów. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami lub płynami; Panther System weryfikuje poziomy odczynników.
- Q. Unikać skażenia odczynników przez drobnoustroje i rybonukleazy.
- R. W urządzeniu nie należy stosować materiałów, które mogą zawierać tiocyjanian guanidyny, ani żadnych materiałów zawierających guanidynę. W przypadku połączenia z podchlorynem sodu mogą powstać wysoce reaktywne i/lub toksyczne związki.
- S. Odczynnik w tym zestawie jest oznaczony symbolami zagrożenia i bezpieczeństwa.

Uwaga: Stosowane informacje dotyczące zagrożeń są określone przez klasyfikację kart charakterystyki substancji (Safety Data Sheets, SDS) obowiązującą w UE. Informacje dotyczące zagrożeń występujących w konkretnym regionie opisano w kartach SDS właściwych dla regionów. Dokumenty te znajdują się w bibliotece kart charakterystyki pod adresem www.hologicsds.com.

**Odczynnik selekcyjny****KWAS BOROWY 1-5%****OSTRZEŻENIE**

H315 – Działa drażniąco na skórę

Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych**EDTA 1-5%****WODOROTLENEK LITU, MONOHYDRAT 1-5%**

H412 – Działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki

H402 – Działa toksycznie na organizmy wodne

Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi

- A. Poniższe odczynniki są stabilne, gdy są przechowywane w temperaturze od 2°C do 8°C (w lodówce):
 - Odczynnik amplifikacji Aptima SARS-CoV-2
 - Odczynnik enzymatyczny Aptima SARS-CoV-2
 - Odczynnik-sonda Aptima SARS-CoV-2
 - Kontrola wewnętrzna Aptima SARS-CoV-2
 - Dodatnia kontrola Aptima SARS-CoV-2
 - Ujemna kontrola Aptima SARS-CoV-2
- B. Poniższe odczynniki są stabilne, gdy są przechowywane w temperaturze od 2°C do 30°C:
 - Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji Aptima SARS-CoV-2
 - Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego Aptima SARS-CoV-2
 - Roztwór do przygotowania odczynnika z sondą Aptima SARS-CoV-2
 - Odczynnik selekcyjny Aptima SARS-CoV-2
- C. Poniższe odczynniki są stabilne, gdy są przechowywane w temperaturze od 15°C do 30°C (temperatura pokojowa):
 - Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych Aptima SARS-CoV-2
 - Roztwór do płukania Aptima
 - Bufor do płynu dezaktywującego Aptima
 - Odczynnik olejowy Aptima
- D. Roboczy odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych (Working Target Capture Reagent, wTCR) zachowuje stabilność przez 30 dni, gdy jest przechowywany w temperaturze od 15°C do 30°C. Nie przechowywać w warunkach chłodniczych.
- E. Po przygotowaniu, Odczynnik enzymatyczny, Odczynnik amplifikacji oraz Odczynnik z sondą zachowują stabilność przez 30 dni, gdy są przechowywane w temperaturze od 2°C do 8°C.
- F. Niewykorzystane przygotowane odczynniki oraz odczynnik wTCR wyrzucić po 30 dniach lub po upływie daty ważności serii głównej, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej.
- G. Kontrole są stabilne do daty podanej na fiolkach.
- H. Odczynniki przechowywane w urządzeniu Panther System charakteryzują się stabilnością wewnętrzną wynoszącą 120 godzin.
- I. Odczynnik zawierający sondy oraz przygotowany odczynnik z sondami są wrażliwe na światło. Przechowywane odczynniki chronić przed ekspozycją na światło. Określona stabilność po przygotowaniu oparta jest na 12-godzinnym wystawieniu Przygotowanego odczynnika z sondami na działanie dwóch żarówek fluorescencyjnych o mocy 60 W, w odległości 43 cm (17 cali) oraz temperaturze poniżej 30°C. Wystawienie Przygotowanego odczynnika z sondami na działanie światła należy odpowiednio ograniczyć.

- J. Po ogrzaniu do temperatury pokojowej niektóre próbki kontrolne mogą wydawać się mętne lub zawierać osady. Zmętnienie lub osady związane z kontrolą nie mają wpływu na działanie kontroli. Kontrole mogą być stosowane bez względu na to, czy są klarowne, czy mętne/osadowe. Jeśli pożądane są klarowne kontrole, solubilizację można przyspieszyć inkubując je w górnej części zakresu temperatury pokojowej (15°C do 30°C).

K. Nie zamrażać odczynników.

Pobieranie i przechowywanie próbek

Próbki – Materiał kliniczny pobrany od pacjenta umieszczony w odpowiednim systemie transportowym. W przypadku testu Aptima SARS-CoV-2 obejmuje to próbki wymazów z jamy nosowo-gardłowej (NP), nosa, małżowiny środkowej i jamy ustno-gardłowej (OP) lub popłuczyny/aspirat z nosogardła i aspirat z nosa, pobrane na podłoże do transportu wirusów (VTM/UTM), sól fizjologiczną, płyn Amies lub podłoże do transportu próbek (STM). Dodatkowo, do wykorzystania w teście można pobrać ślinę.

Próbki - jest to bardziej ogólny termin opisujący każdy materiał przeznaczony do badań w Panther System, w tym próbki, próbki przeniesione do Probówek do lizy próbek Panther Fusion, Probówek do lizy próbek Hologic z nakrętką stałą, Probówek do przenoszenia próbek Aptima, Probówek do przenoszenia Aptima Multitest, Probówki Hologic Direct Load Capture Cap oraz kontrole.

Uwaga: *Z wszystkimi próbkami należy obchodzić się tak, jak gdyby zawierały czynniki potencjalnie zakaźne. Przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności.*

Uwaga: *Starać się unikać kontaminacji krzyżowej w czasie etapów pracy z materiałem. Przykładowo, wyrzucać zużyte materiały tak, aby nie przenosić ich nad otwartymi pojemnikami.*

Pobieranie próbek z wymazu

Pobrać wymaz z NP, wymaz z nosa i wymaz z OP zgodnie ze standardową techniką, używając wacika z końcówką poliestrową, rayonową lub nylonową. Natychmiast umieścić próbkę wymazu w 3 mL VTM lub UTM. Probki z wymazu można alternatywnie umieścić w soli fizjologicznej, płynie Amies lub STM. Do pobierania wymazów z OP i nosa można używać zestawu do pobierania wymazów Aptima Multitest oraz zestawu do pobierania próbek Hologic Direct Load Capture Cap. Zestaw do pobierania próbek Hologic Direct Load Capture Cap – CLASSIQSwab służy do pobierania wymazów z OP i nosa. Zestaw do pobierania próbek Hologic Direct Load Capture Cap – FLOQSwab służy do pobierania próbek wymazów z małżowiny środkowej i NP.

Po pobraniu, próbki pobrane w VTM/UTM można przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C do 96 godzin przed przeniesieniem do Probówki do lizy próbek lub probówek do przenoszenia próbek, jak opisano w części dotyczącej przetwarzania próbek poniżej. Pozostałą objętość próbki można przechowywać w temperaturze ≤-70°C.

Po pobraniu, próbki w probówce Aptima Multitest i probówce Hologic Direct Load Capture Cap mogą być przechowywane w temperaturze od 2°C do 30°C do 6 dni.

Uwaga: *Zaleca się przechowywanie próbek zebranych w probówkach Aptima Multitest i Hologic Direct Load Capture Cap w zamknięciu i w pozycji pionowej w statywie.*

Pobieranie próbek popłuczyny/aspiratu z jamy nosowo-gardłowej i aspiratu z nosa

Pobrać próbki popłuczyny/aspiratu z jamy nosowo-gardłowej i aspiratu z nosa zgodnie ze standardowymi technikami.

Pobieranie próbek śliny

Zebrać 1 mL +/- 0,2 mL śliny do standardowej probówki z oznaczeniem 1 mL. Poinstruować uczestnika badania, aby zebrał ślinę i przez co najmniej 30 sekund obracał ją w ustach przed wypluciem do probówki. Pobraną ślinę można przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C do 12 godzin przed dodaniem 4 mL +/- 0,4 mL minimalnego niezbędnego podłoża (Minimum Essential Media – MEM) w celu rozcieńczenia i wymieszania próbki śliny. Próbki rozcieńczone w MEM można przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C przez maksymalnie 2 godziny przed przeniesieniem 500 µL rozcieńczonej śliny do probówki Specimen Lysis Tube lub probówek do przenoszenia próbek, jak opisano w części dotyczącej przetwarzania próbek poniżej. Przetworzone próbki można przechowywać w temperaturze od 2°C do 30°C przez okres do 6 dni.

Przetwarzanie próbek

Procedura przy zamkniętej probówce przy użyciu oprogramowania do testów Aptima SARS-CoV-2

Przetwarzanie próbek przy użyciu Probówki do lizy próbek Panther Fusion

- A. Przed badaniem w Panther System przenieś 500 µL pobranej próbki* do Probówki do lizy próbek Panther Fusion.

****Uwaga:*** W przypadku badania próbki zamrożonej, przed obróbką należy doprowadzić próbkę do temperatury pokojowej.

Przetwarzanie próbek przy użyciu Probówki do przenoszenia próbek Aptima

- A. Przed badaniem w Panther System przenieś 1 mL pobranej próbki* do Probówki do przenoszenia próbek Aptima**.

****Uwaga:*** W przypadku badania próbki zamrożonej, przed obróbką należy doprowadzić próbkę do temperatury pokojowej.

*****Uwaga:*** Alternatywnie można użyć nieużywanej Probówki Aptima Multitest lub Aptima Unisex.

- B. Mocno zakręcić Probówkę do przenoszenia próbek Aptima.
- C. Delikatnie odwrócić probówkę od 2 do 3 razy, aby zagwarantować dokładne wymieszanie się próbki.

Przetwarzanie próbek pobranych za pomocą Zestawu do pobierania próbek Aptima Multitest

- A. Po umieszczeniu pobranej próbki* w Probówce Aptima Multitest przy użyciu Zestawu do pobierania próbek Aptima Multitest, nie jest wymagana dalsza obróbka.

****Uwaga:*** W przypadku badania próbki zamrożonej, przed obróbką należy doprowadzić próbkę do temperatury pokojowej.

Procedura przy otwartej próbówce przy użyciu oprogramowania do testów Aptima SARS-CoV-2***Przetwarzanie próbek przy użyciu Probówki do lizy próbek Panther Fusion***

- A. Odkręcić przenikalną nakrętkę Probówki do lizy próbek Panther Fusion. Przenikalną nakrętkę można zachować lub w następnym kroku zastosować zastępczą nakrętkę stałą.
- B. Przed badaniem w Panther System przenieś 500 µL pobranej próbki do Probówki do lizy próbek Panther Fusion z przenikalną nakrętką lub zamienną stałą nakrętką.
- C. Aby uniknąć kontaktu z górną częścią próbówki, należy poluzować nakrętkę i umieścić próbkę w statywie na próbki.
- D. Zdjąć i wyrzucić nakrętkę. Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie należy przenosić nakrętki nad innymi statywami lub próbkami z próbkami. Sprawdzić próbkę. Jeżeli obecne są pęcherzyki, ostrożnie usunąć je z próbki (np. za pomocą końcówki sterylnej wymazówki lub w podobny sposób).

Uwaga: Nieusunięcie pęcherzyków może wpłynąć na przetwarzanie testów i spowodować uzyskanie nieważnych wyników.

- E. Umieścić uchwyt statywu na statywie na próbki i załadować statyw do urządzenia.

Przetwarzanie próbek przy użyciu Probówki do lizy próbek Hologic z nakrętką stałą

- A. Zdjąć nakrętkę z Probówki do lizy próbek Hologic ze stałą nakrętką i zachować nakrętkę.
- B. Przed badaniem w Panther System należy przenieść 500 µL pobranej próbki do Probówki do lizy próbek Hologic ze stałą nakrętką.
- C. Zaleca się powtórne zamknięcie próbki i delikatne trzykrotne odwrócenie w celu zapewnienia inaktywacji wirusa i uzyskania jednorodnej mieszaniny.
- D. Aby uniknąć kontaktu z górną częścią próbówki, należy poluzować nakrętkę i umieścić próbkę w statywie na próbki.
- E. Zdjąć i wyrzucić nakrętkę. Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie należy przenosić nakrętki nad innymi statywami lub próbkami z próbkami. Sprawdzić próbkę. Jeżeli obecne są pęcherzyki, ostrożnie usunąć je z próbki (np. za pomocą końcówki sterylnej wymazówki lub w podobny sposób).

Uwaga: Nieusunięcie pęcherzyków może wpłynąć na przetwarzanie testów i spowodować uzyskanie nieważnych wyników.

- F. Umieścić uchwyt statywu na statywie na próbki i załadować statyw do urządzenia.

Przetwarzanie próbek pobranych za pomocą Zestawu do pobierania Hologic Direct Load Capture Cap

- A. Po umieszczeniu pobranej próbki* w Probówce Hologic Direct Load Capture Cap nie jest wymagana dalsza obróbka.

****Uwaga:*** W przypadku badania próbki zamrożonej, przed obróbką należy doprowadzić próbkę do temperatury pokojowej.

- B. Aby uniknąć kontaktu z górną częścią probówki, należy poluzować nakrętkę i umieścić probówkę w statywie na próbki.
- C. Zdjąć i wyrzucić nakrętkę oraz wymazówkę. Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie należy przenosić nakrętki nad innymi statywami lub probówkami z próbkami. Sprawdzić probówkę. Jeżeli obecne są pęcherzyki, ostrożnie usunąć je z probówki (np. za pomocą końcówki sterylnej wymazówki lub w podobny sposób).

Uwaga: Jeśli wymazówka nie została uchwycona przez nakrętkę, ponownie zamknąć probówkę, aby upewnić się, że wymazówka została uchwycona i usunięta z probówki. Nie należy ładować do Panther System probówek Direct Load Capture Cap zawierających wymazówki.

Uwaga: Nieusunięcie pęcherzyków może wpłynąć na przetwarzanie testów i spowodować uzyskanie nieważnych wyników.

- D. Umieścić uchwyt statywu na statywie na próbki i załadować statyw do urządzenia.

Przetwarzanie próbek pobranych za pomocą Zestawu do pobierania próbek Aptima Multitest

- A. Uzyskać i postępować zgodnie z instrukcjami dotyczącymi Probówki do lizy próbek Panther Fusion (Krok A), lub Probówki do lizy próbek Hologic z nakrętką stałą (Krok A).
- B. Przed wykonaniem testu w Panther System przenieść 500 µL pobranej próbki z Probówki Aptima Multitest do Probówki do lizy próbek Panther Fusion lub Probówki do lizy próbek Hologic, jak opisano w powyższych sekcjach dotyczących przetwarzania próbek.

Przechowywanie próbek

- A. Probki znajdujące się w Panther System można zachować w celu przeprowadzenia dodatkowych testów w późniejszym czasie.
- B. Przechowywanie próbek przed lub po badaniu
1. Probki w Probówce Aptima Multitest, Probówce Aptima, Probówce Hologic Direct Load Capture Cap lub Probówce do lizy próbek powinny być przechowywane w pozycji pionowej w statywie w następujących warunkach:
 - 2°C do 30°C do 6 dni
 2. Probki należy przykryć nowym, czystym parafilmem albo folią ochronną.
 3. Jeżeli konieczne jest zamrożenie lub przetransportowanie badanych próbek, należy zdjąć przenikalną nakrętkę i założyć nową nieprzenikalną nakrętkę na probówkę. Jeżeli konieczne jest wysłanie próbek do badania do innej placówki, należy zawsze przestrzegać zalecanych temperatur. Przed zdjęciem nakrętek, probówki do transportu próbek należy wirować przez 5 minut przy 420 RCF (względna siła odśrodkowa), aby całość cieczy znalazła się na dnie probówki. Unikać rozpryskiwania i zanieczyszczenia krzyżowego.

Transport próbek

Zachować warunki przechowywania próbek zgodnie z opisem w sekcji *Pobieranie i przechowywanie próbek*, strona 7.

Uwaga: *Próbki należy przysyłać zgodnie z odpowiednimi krajowymi, międzynarodowymi i regionalnymi przepisami transportowymi.*

Łączenie próbek – określenie właściwej strategii wdrażania i monitorowania

Rozważając łączenie próbek, laboratoria powinny ocenić adekwatność strategii łączenia próbek w oparciu o wskaźnik dodatnich wyników w badanej populacji i efektywność procesu łączenia próbek.

Przygotowywanie próbek do łączenia

Następujące próbki z górnych dróg oddechowych zostały zatwierdzone do użycia z testem Aptima SARS-CoV-2 i mogą być badane z zastosowaniem łączenia próbek: wymazów z jamy nosowo-gardłowej, jamy ustno-gardłowej, małżowiny środkowej i jamy nosowej pobranych na podłoże do transportu próbek (STM). Każda pula próbek musi składać się z czystych próbek przygotowanych przy użyciu STM. Poniżej przedstawiono zalecany schemat postępowania przy łączeniu próbek.

Próbki należy pobrać do probówek zawierających 2,9 mL STM

Instrukcja przygotowania próbek zebranych bezpośrednio do probówki ogólnego przeznaczenia

Przeprowadzić następującą procedurę w przypadku łączenia próbek zebranych w 2,9 mL STM, przenosząc pojedyncze próbki bezpośrednio do pustej probówki, zgodnie ze specyfikacją podaną w *Instrukcji obsługi systemu Panther lub Panther Fusion*.

- A. Przygotować pustą probówkę kompatybilną z Panther System.
- B. Określić odpowiednią objętość wymaganą dla każdej pojedynczej próbki w zależności od wielkości puli. Probki pobrane w 2,9 mL STM nie wymagają przed badaniem dodatkowego rozcieńczenia STM.

Uwaga: *Zalecana łączna objętość każdej pojedynczej próbki zależy od wymiarów używanej probówki. Przedstawiciel firmy Hologic może przedstawić zalecenia dotyczące minimalnych wymagań objętościowych dla przetwarzania w Panther System.*

- C. Przed rozpoczęciem badań w Panther System należy ostrożnie przenieść określoną objętość każdej pojedynczej próbki z probówek zawierających 2,9 mL STM do pustej probówki.
- D. Zapewnić jednorodne wymieszanie każdej przygotowanej puli próbek.
- E. Zachować pojedyncze próbki do dodatkowych badań, jeśli jest to wymagane.

Panther System

Poniżej wymieniono odczynniki potrzebne do wykonania testu Aptima SARS-CoV-2 w Panther System. Obok nazwy odczynnika wymieniono także symbole identyfikujące odczynniki.

Dostarczone odczynniki i materiały

Zestaw do testu Aptima SARS-CoV-2 PRD-06419

250 testów (2 pudełka)

Pudełko chłodzone Aptima SARS-CoV-2 (pudełko 1 z 2)
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Składnik	Ilość Zestaw 250 testów
A	Odczynnik amplifikacji Aptima SARS-CoV-2 <i>Liofilizowane niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym zawierającym < 5% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
E	Odczynnik enzymatyczny Aptima SARS-CoV-2 <i>Liofilizowana odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w roztworze buforowanym HEPES zawierającym < 10% odczynnika wypełniającego.</i>	1 fiolka
P	Odczynnik-sonda Aptima SARS-CoV-2 <i>Liofilizowane niezakaźne chemiluminescencyjne sondy DNA w roztworze buforowanym bursztynianem zawierającym < 5% detergentu.</i>	1 fiolka
IC	Kontrola wewnętrzna Aptima SARS-CoV-2	1 fiolka

Pudełko do temperatury pokojowej Aptima SARS-CoV-2 (pudełko 2 z 2)
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C)

Symbol	Składnik	Ilość Zestaw 250 testów
AR	Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji Aptima SARS-CoV-2 <i>Roztwór wodny zawierający konserwanty.</i>	1 x 27,7 mL
ER	Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego Aptima SARS-CoV-2 <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1 x 11,1 mL
PR	Roztwór do przygotowania odczynnika z sondą Aptima SARS-CoV-2 <i>Roztwór buforowany bursztynianem zawierający < 5% detergentu.</i>	1 x 35,4 mL
S	Odczynnik selekcyjny Aptima SARS-CoV-2 <i>Roztwór 600 mM buforowany boranem zawierający środek powierzchniowo czynny.</i>	1 x 108 mL
TCR	Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych Aptima SARS-CoV-2 <i>Buforowany roztwór soli zawierający fazę stałą i oligomery wychwytyjące.</i>	1 x 54 mL
	Kołnierze do rekonstrukcji	3
	Karta z kodami kreskowymi serii głównych	1 karta

Materiały wymagane i dostępne osobno

Uwaga: Dostarczane materiały Hologic są zaopatrzone w następujące numery katalogowe, chyba że podano inne dane.

	<u>Nr kat.</u>
Panther System	303095
Zestaw płynów do testu Aptima (Roztwór do płukania Aptima, Bufor do płynu do dezaktywacji Aptima oraz Odczynnik olejowy Aptima)	303014 (1000 testów)
Zestaw Aptima Auto Detect	303013 (1000 testów)
Zestawy wieloprobówkowe (MTU)	104772-02
Zestaw torby na odpady Panther	902731
Ośłona worka na odpady Panther	504405
Albo zestaw wstępny do systemu Panther zawiera MTU, torby na odpady, osłonę torby na odpady, płyny do autodetekcji i testu	303096 (5000 testów)
Końcówki, 1000 µl, z filtrami, z detekcją cieczy, przewodzące, jednorazowego użytku	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
Nie wszystkie produkty są dostępne we wszystkich regionach. W celu uzyskania dokładnych informacji dotyczących regionu należy skontaktować się ze swoim przedstawicielem	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Zestaw kontroli Aptima SARS-CoV-2 PC – Dodatnia kontrola Aptima SARS-CoV-2. Niezakaźny kwas nukleinowy w roztworze buforowanym zawierającym < 5% detergentu. Ilość 5 x 1,7 mL NC – Ujemna kontrola Aptima SARS-CoV-2. Roztwór buforowany zawierający < 5% detergentu. Ilość 5 x 1,7 mL	PRD-06420
Zestaw do pobierania wymazów Aptima Multitest	PRD-03546
Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit - CLASSIQSwabs	PRD-06951
Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit - FLOQSwabs	PRD-06952
Zestaw do przenoszenia próbek Aptima	301154C
Zestaw do przenoszenia próbek Aptima – do druku	PRD-05110
Zestaw do pobierania próbek z wymazów z szyjki macicy i cewki moczowej dla mężczyzn Aptima Unisex	301041
Probówki do lizy próbek Panther Fusion, 100 szt. w woreczku probówka zawiera 0,71 mL STM z przenikalną nakrętką	PRD-04339
Probówki do lizy próbek Hologic, po 100 sztuk probówka zawiera 0,71 mL STM ze stałą nakrętką	PRD-06554
Wybielacz, roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 5% do 7% (od 0,7 M do 1,0 M)	—
Rękawiczki jednorazowe	—

	<u>Nr kat.</u>
Zapasowe nakrętki nieprzepuszczalne	504415
Zakrętka stała Hologic do stosowania z PRD-06951* i PRD-06952*, 100 zakrętek w worku	PRD-07028
*jednorazowa pokrywka do próbki Hologic Direct Load Capture Cap (PRD-06951 i PRD-06952) po przetestowaniu jako część przepływu pracy bez zakręcania	
Nakrętki zamienne dla zestawów zawierających 250 testów	—
Roztwory do przygotowania odczynników do amplifikacji i z sondami	CL0041 (100 nakrętek)
Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego	501616 (100 nakrętek)
TCR i odczynnik selekcyjny	CL0040 (100 nakrętek)

Materialy opcjonalne

	<u>Nr kat.</u>
Wzmocniacz wybielacza Hologic do czyszczenia do rutynowego czyszczenia powierzchni i urządzeń	302101
Kołyśka laboratoryjna	—

Procedura testu w Panther System

Uwaga: Dodatkowe informacje na temat procedury przedstawiono w Instrukcji obsługi Panther/Panther System.

A. Przygotowanie obszaru roboczego

Oczyszczyć powierzchnie robocze, na których będą przygotowywane odczynniki i próbki. Przetrzeć powierzchnie robocze roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej 1 minutę, a następnie należy spłukać powierzchnie wodą. Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Zakryć powierzchnię roboczą, na której będą przygotowywane odczynniki i próbki, czystymi, wzmocnionymi plastikiem, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.

B. Przygotowanie odczynników / przygotowanie nowego zestawu

Uwaga: Przygotowanie odczynników należy przeprowadzić przed rozpoczęciem jakichkolwiek prac w Panther System.

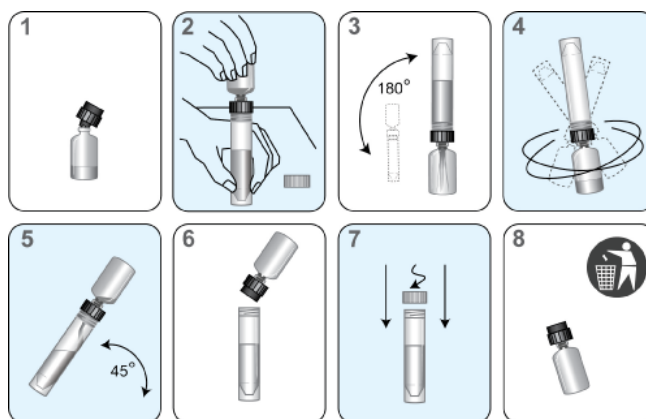
1. Aby przygotować odczynniki do amplifikacji, odczynniki enzymatyczne i odczynniki zawierające sondy należy połączyć zawartość butelek z liofilizowanymi odczynnikami z zawartością butelek z roztworami do przygotowania. Jeśli odczynniki były przechowywane w chłodziarce, przed użyciem należy odczekać, aż roztwory do przygotowania osiągną temperaturę pokojową.

- a. Dopasować odpowiedni roztwór do każdego liofilizowanego odczynnika. Przed założeniem kołnierza rekonstytucyjnego upewnić się, że roztwór do przygotowania i odczynnik mają etykiety w tym samym kolorze.
- b. Sprawdzić numery serii na karcie z kodami kreskowymi serii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki.
- c. Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem i mocno wcisnąć przycięty koniec kołnierza rekonstytucyjnego w otwór fiolki (Rysunek 1, krok 1).
- d. Otworzyć butelkę zawierającą odpowiedni roztwór do przygotowania i odłożyć zatyczkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
- e. Trzymając buteleczkę z roztworem na stole, mocno wcisnąć drugi koniec kołnierza w otwór buteleczki (Rysunek 1, krok 2).
- f. Powoli odwrócić połączone butelki. Poczekać, aż roztwór spłynie z butelki do szklanej fiolki (Rysunek 1, krok 3).
- g. Dokładnie wymieszać roztwór w szklanej fiolece poprzez wirowanie (Rysunek 1, krok 4).
- h. Odczekać, aż liofilizowany odczynnik przejdzie do roztworu, następnie ponownie odwrócić połączone buteleczki, przechylając je pod kątem 45°, aby zminimalizować tworzenie piany (Rysunek 1, krok 5). Odczekać, aż cały płyn spłynie z powrotem do butelki z tworzywa sztucznego.
- i. Usunąć kołnierz rekonstytucyjny i szklaną fiolkę (Rysunek 1 krok 6).
- j. Nałożyć nakrętkę na plastikową buteleczkę. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i datę przygotowania (Rysunek 1, krok 7).
- k. Wyrzucić kołnierz rekonstytucyjny oraz szklaną fiolkę (Rysunek 1, krok 8).

Opcjonalnie: Dozwolone jest dodatkowe mieszanie Odczynników do amplifikacji, enzymatycznych i z sondą przy użyciu kołyski laboratoryjnej. Odczynniki można mieszać, umieszczając ponownie zamkniętą plastikową butelkę na kołysce nastawionej na 20 obr/min (lub równoważną) na co najmniej 5 minut.

Ostrzeżenie: Unikać tworzenia piany podczas przygotowania odczynników. Piana ma niekorzystny wpływ na detekcję poziomu w Panther System.

Ostrzeżenie: Do uzyskania oczekiwanych wyników testu niezbędne jest odpowiednie wymieszanie odczynników.



Rysunek 1. Proces przygotowania w Panther System

2. Przygotować roboczy odczynnik do wychwytywania cząstek szukanych (wTCR)
 - a. Dopasować odpowiednie buteleczki TCR i IC.
 - b. Sprawdzić numery serii odczynników na karcie z kodami kreskowymi serii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki z zestawu.
 - c. Otworzyć buteleczkę z TCR i odłożyć nakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
 - d. Otworzyć buteleczkę IC i przelać całą zawartość do buteleczki z TCR. Przewiduje się, że w buteleczce IC pozostanie niewielka ilość płynu.
 - e. Nałożyć nakrętkę na buteleczkę z TCR i delikatnie obracać, aby wymieszać zawartość. W tym kroku unikać tworzenia piany.
 - f. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i bieżącą datę.
 - g. Wyrzucić buteleczkę IC i nakrętkę.
 3. Przygotować odczynnik selekcyjny
 - a. Sprawdzić numer partii na butelce z odczynnikiem, aby upewnić się, że odpowiada on numerowi partii na arkuszu kodów kreskowych głównej serii.
 - b. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i bieżącą datę.
- Uwaga:** *Przed włożeniem do systemu dokładnie wymieszać każdy odczynnik, delikatnie go odwracając. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany.*
- C. Przygotowanie odczynników wcześniej zrekonstruowanych
1. Przed rozpoczęciem testu uprzednio przygotowane odczynniki do amplifikacji, enzymatyczny i zawierający sondy muszą osiągnąć temperaturę pokojową (od 15°C do 30°C).

Opcjonalnie: Odczynniki można doprowadzić do temperatury pokojowej, umieszczając odczynniki do amplifikacji, enzymatyczny i zawierający sondy na kołysce nastawionej na 20 obr/min (lub równoważną) na co najmniej 25 minut.
 2. Jeśli przygotowany odczynnik zawierający sondy zawiera wytrącony osad, który nie rozpuszcza się w temperaturze pokojowej, należy ogrzewać zamkniętą butelkę w temperaturze nieprzekraczającej 62°C przez 1-2 minuty. Po tym kroku ogrzewania można użyć odczynnika z sondami, nawet jeśli zawiera on reszkowy osad. Przed wprowadzeniem do systemu wymieszać odczynnik z sondami przez odwrócenie, uważając, aby nie wytworzyć piany.
 3. Przed włożeniem do systemu dokładnie wymieszać każdy odczynnik, delikatnie go odwracając. W trakcie odwracania odczynników unikać tworzenia piany. Ten krok nie jest wymagany, jeśli odczynniki są ładowane do systemu bezpośrednio po wymieszaniu na kołysce.
 4. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami. Panther System rozpozna butelki po dopełnieniu i odrzuci je.
 5. *Do uzyskania oczekiwanych wyników testu niezbędne jest odpowiednie wymieszanie odczynników.*
- D. Postępowanie z preparatami przy użyciu Probówki do lizy próbek Panther Fusion lub Probówki do przenoszenia próbek Aptima

Uwaga: Przed załadowaniem próbek do Panther System należy przygotować je zgodnie z instrukcjami dotyczącymi przetwarzania próbek, zawartymi w rozdziale *Pobieranie i przechowywanie próbek*.

1. Przed włożeniem do statywu sprawdzić probówki. Jeśli probówka zawiera pęcherzyki powietrza lub ma mniejszą objętość niż zazwyczaj, należy delikatnie postukać w dno probówki, aby zawartość znalazła się na dnie.

Uwaga: W przypadku próbek przenoszonych do Probówki do lizy próbek Panther Fusion lub Probówki do przenoszenia próbek Aptima, aby uniknąć błędu przetwarzania, należy upewnić się, że do probówki została dodana odpowiednia objętość próbki. Po dodaniu do probówki odpowiedniej ilości pobranej próbki, objętość jest wystarczająca do wykonania 3 ekstrakcji kwasu nukleinowego.

E. Przetwarzanie próbek przy użyciu Probówki do lizy próbek Hologic

1. Przygotować próbki zgodnie z instrukcjami dotyczącymi przetwarzania próbek, zawartymi w sekcji *Pobieranie i przechowywanie próbek*.

Uwaga: W przypadku próbek przenoszonych do Probówki do lizy próbek Hologic, aby uniknąć błędu przetwarzania, należy upewnić się, że do probówki została dodana odpowiednia objętość próbki.

Uwaga: Po dodaniu odpowiedniej ilości pobranej próbki do Probówki do lizy próbki Hologic (PRD-06554), objętość jest wystarczająca do wykonania 2 ekstrakcji kwasu nukleinowego.

Uwaga: W przypadku korzystania z oprogramowania do testów Aptima SARS-CoV-2 z otwartymi probówkami, należy zdjąć nakrętkę z kontroli pozytywnej i negatywnej przed załadowaniem do Panther System.

F. Przygotowanie systemu

1. Skonfigurować system zgodnie z wytycznymi w *Instrukcji obsługi systemu Panther/ Panther Fusion* i *Uwagi dotyczące procedury*. Sprawdzić, czy stosowane są statywy na odczynniki i adaptory TCR o odpowiedniej wielkości.
2. Załadować próbki.

Uwagi dotyczące procedury

A. Kontrole

1. Do prawidłowej pracy z oprogramowaniem do testów Aptima dla Panther System wymagana jest jedna para kontroli. Dodatnie i ujemne kontrole SARS-CoV-2 można załadować do dowolnego stanowiska w statywie albo do dowolnej wnęki na próbki w urządzeniu Panther System. Pipetowanie próbek pobranych od pacjentów rozpocznie się po spełnieniu jednego z dwóch następujących warunków:
 - a. Trwa przetwarzanie pary kontroli przez system.
 - b. Zarejestrowano w systemie ważne wyniki dla kontroli.
2. Po odpipetowaniu próbek z kontrolami i obróbce pod kątem swego zestawu odczynników, próbki pacjenta można badać powiązanym zestawem w okresie do 24 godzin, o ile nie wystąpiły następujące sytuacje:
 - a. Wyniki kontroli są nieważne.
 - b. Z systemu usunięto powiązany zestaw odczynników analitycznych.

- c. Przekroczono granice stabilności powiązanego zestawu odczynników analitycznych.
- 3. Każdą probówkę kontroli Aptima można przetestować tylko raz. Próby pipetowania więcej niż jeden raz z próbki mogą doprowadzić do błędów w czasie pracy.
- 4. Pipetowanie próbek pobranych od pacjentów rozpoczyna się po spełnieniu jednego z dwóch następujących warunków:
 - a. Zarejestrowano w systemie ważne wyniki dla kontroli.
 - b. Trwa przetwarzanie pary kontroli przez system.
- B. Temperatura

Temperatura pokojowa jest zdefiniowana jako zakres od 15°C do 30°C.
- C. Puder z rękawiczek

Podobnie jak w przypadku każdego systemu odczynników, nadmiar pudru na niektórych rękawiczkach może spowodować zanieczyszczenie otwartych probówek. Zaleca się stosować rękawiczki bezpudrowe.
- D. Protokół monitoringu skażenia laboratoryjnego dla Panther System

Istnieje wiele zależnych od laboratorium czynników, które mogą przyczyniać się do skażenia, w tym liczba badanych probówek, przepływ pracy, rozpowszechnienie chorób i różne inne działania laboratorium. Należy uwzględnić te czynniki przy ustalaniu częstości monitoringu. Należy ustalić odstępy między kontrolami skażenia na podstawie praktyk i procedur obowiązujących w danym laboratorium.

W celu monitorowania skażenia laboratoryjnego można wykonać następującą procedurę przy użyciu Zestawu do pobierania próbek z wymazów z szyjki macicy i cewki moczowej dla mężczyzn Aptima Unisex:

 - 1. Oznaczyć probówki do transportu wymazów numerami odpowiadającymi badanym obszarom.
 - 2. Wyjąć próbkę wymazu (niebieska wymazówka z zielonym nadrukiem) z opakowania, zwilżyć wymazówkę w podłożu do transportu próbek (STM) i kolistym ruchem nanieść wymaz na oznaczony obszar.
 - 3. Natychmiast włożyć wymazówkę do próbki transportowej.
 - 4. Ostrożnie przełamać trzonek wymazówki na linii podziału; uważać, aby nie rozpryskać zawartości.
 - 5. Mocno zakręcić próbkę transportową do wymazów.
 - 6. Powtórzyć kroki od 2 do 5 dla każdego obszaru, z którego ma być pobrany wymaz.
- E. Jeśli wyniki są dodatnie, patrz *Interpretacja wyników*. W celu uzyskania dodatkowych informacji na temat monitorowania skażeń specyficznych dla Panther System należy skontaktować się z Działem Wsparcia Technicznego firmy Hologic.

Kontrola jakości

Wynik badania lub próbki może zostać unieważniony przez Panther System, jeśli wystąpią problemy podczas przeprowadzania testu. Próbkę z nieważnymi wynikami należy ponownie poddać badaniu.

Kontrole dodatnie i ujemne

Aby uzyskać prawidłowe wyniki, należy zbadać zestaw kontroli testów. Jedna replika ujemnej kontroli testu i dodatniej kontroli testu musi zostać zbadana za każdym razem, gdy nowy zestaw jest ładowany do Panther System lub gdy wygaśnie aktualny zestaw ważnych kontroli.

Panther System jest skonfigurowany w taki sposób, aby kontrole testów były przeprowadzane w odstępach czasu określonych przez administratora, wynoszących do 24 godzin. Oprogramowanie Panther System ostrzega operatora, gdy wymagane są kontrole testów, i nie rozpoczyna nowych testów, dopóki kontrole testów nie zostaną załadowane i nie rozpoczną przetwarzania.

Podczas przetwarzania kryteria akceptacji kontroli testów są automatycznie weryfikowane przez Panther System. Aby wygenerować prawidłowe wyniki, kontrole testów muszą przejść serię kontroli ważności wykonywanych przez Panther System.

Jeśli kontrole testów przejdą wszystkie kontrole ważności, są uznawane za ważne przez określony przez administratora przedział czasu. Kiedy upłynie określony czas, Panther System wyłączy kontrole testów, co wymaga przetestowania nowego zestawu kontroli testów przed rozpoczęciem pobierania jakichkolwiek nowych próbek.

Jeśli którakolwiek z kontroli testów nie przejdzie pomyślnie kontroli ważności, Panther System automatycznie unieważnia próbki, których to dotyczy, i wymaga przetestowania nowego zestawu kontroli testów przed rozpoczęciem pobierania jakichkolwiek nowych próbek.

Kontrola wewnętrzna

Kontrola wewnętrzna jest dodawana do każdej próbki z wTCR. Podczas przetwarzania kryteria akceptacji kontroli wewnętrznej są automatycznie weryfikowane przez oprogramowanie Panther System. Wykrywanie kontroli wewnętrznej nie jest wymagane dla próbek, które są dodatnie dla SARS-CoV-2. Kontrola wewnętrzna musi być wykryta we wszystkich próbkach, które są ujemne dla cząsteczek docelowych SARS-CoV-2; próbki, które nie spełniają tych kryteriów, zostaną zgłoszone jako Nieważne. Każda próbka z wynikiem Nieważnym musi zostać ponownie przebadana.

Panther System został zaprojektowany do dokładnej weryfikacji procesów, gdy procedury są wykonywane zgodnie z instrukcjami zawartymi w niniejszej ulotce dołączonej do opakowania oraz w *Instrukcji obsługi Panther/Panther Fusion System*.

Interpretacja wyników

Panther System automatycznie wyznacza wyniki badań dla próbek i kontroli. Wynik testu może być ujemny, dodatni lub nieważny.

W Tabeli 1 przedstawiono możliwe wyniki zgłaszane w przypadku prawidłowej próby oraz interpretacje wyników.

Tabela 1: Interpretacja wyniku

Wynik SARS-CoV-2	Wynik IC	Interpretacja
Ujem	Ważny	Nie wykryto SARS-CoV-2.
DOD	Ważny	Wykryto SARS-CoV-2.
Nieważny	Nieważny	Nieważny. Wystąpił błąd w czasie tworzenia wyniku, należy przebadać próbkę ponownie.

Uwaga: Wykrywanie kontroli wewnętrznej nie jest wymagane dla próbek, które są dodatnie dla SARS-CoV-2.

Interpretacja wyników dla połączonych próbek

Wynik ujemny: Ujemne wyniki badań próbki zbiorczej nie powinny być traktowane jako ostateczne. Jeśli objawy kliniczne i dolegliwości pacjenta nie są zgodne z wynikiem ujemnym i jeśli wyniki są niezbędne do prowadzenia pacjenta, wówczas należy rozważyć przeprowadzenie indywidualnego badania. Wykorzystanie zbioru próbek powinno być wskazane dla wszystkich próbek, których wyniki są ujemne.

Wynik dodatni: Próbkę z wynikiem dodatnim dla puli próbek należy zbadać indywidualnie przed zgłoszeniem wyniku. Próbkę z niską wiremią mogą nie zostać wykryte w zbiorach próbek ze względu na obniżoną czułość testów zbiorczych.

Wynik nieważny: Próbkę z wynikiem nieważnym należy zbadać indywidualnie przed zgłoszeniem wyniku. Jednakże, w przypadku badania nieważnego, powtórne badanie połączonych próbek może być odpowiednie w zależności od przepływu pracy w laboratorium i wymaganego czasu zgłoszenia wyników.

Ograniczenia

- A. Niniejszy test powinien być wykonywany wyłącznie przez osoby przeszkolone w zakresie procedury testowej. Nieprzestrzeganie tych instrukcji może spowodować uzyskanie błędnych wyników.
- B. Wiarygodne wyniki zależą od właściwego pobrania próbek, ich transportu, przechowywania i obróbki.
- C. Należy unikać skażenia, zachowując dobre praktyki laboratoryjne i przestrzegając procedur określonych w niniejszej ulotce dołączonej do opakowania.
- D. Wynik dodatni wskazuje na wykrycie kwasu nukleinowego odpowiedniego wirusa. Kwas nukleinowy może pozostać nawet po wyeliminowaniu wirusa.
- E. Stosowanie testu Aptima SARS-CoV-2 w ogólnej, bezobjawowej populacji do badań przesiewowych ma stanowić część planu kontroli zakażeń, który może obejmować dodatkowe środki zapobiegawcze, takie jak wcześniej ustalony plan badań seryjnych lub ukierunkowane badania osób z grupy wysokiego ryzyka. Wyniki ujemne należy traktować jako wstępne i nie wykluczają one obecnego lub przyszłego zakażenia uzyskanego w wyniku transmisji środowiskowej lub innych narażeń. Wyniki ujemne należy rozpatrywać w kontekście niedawnych narażeń danej osoby, historii oraz obecności objawów klinicznych i symptomów zgodnych z zarażeniem COVID-19.
- F. Osoby bezobjawowe zakażone wirusem COVID-19 mogą nie wydalać wystarczającej ilości wirusa, aby osiągnąć granicę wykrywalności testu, co daje wynik fałszywie ujemny.
- G. Przy braku objawów trudno jest określić, czy osoby bezobjawowe zostały przebadane zbyt późno czy zbyt wcześnie. Dlatego też ujemne wyniki u osób bezobjawowych mogą obejmować osoby, które zostały przebadane zbyt wcześnie i mogą później uzyskać wynik dodatni, osoby, które zostały przebadane zbyt późno i mogą mieć serologiczne dowody zakażenia lub osoby, które nigdy nie zostały zakażone.
- H. Zostały zatwierdzone poniższe typy VTM/UTM.
 - Preparaty Remel MicroTest M4, M4RT, M5 lub M6
 - Uniwersalne podłoże do transportu Copan
 - Uniwersalne podłoże do transportu wirusów BD

Uwaga: Nie należy stosować środków, które mogą zawierać tiocyjanian guanidyny, ani żadnych materiałów zawierających guanidynę.

Charakterystyka testu Panther SARS-CoV-2

Czułość analityczna

Czułość analityczna (granica wykrywalności lub LoD) testu Aptima SARS-CoV-2 została określona poprzez badanie seryjnych rozcieńczeń zbiorczych ujemnych klinicznych próbek wymazów z jamy nosowo-gardłowej nasączonych inaktywowanym wyhodowanym wirusem SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020; BEI Resources; NR-52281). Oceniono dziesięć powtórzeń każdego seryjnego rozcieńczenia przy użyciu każdej z dwóch serii odczynników testowych w dwóch systemach Panther. LoD określono na 0,01 TCID₅₀/mL w badanej próbce i zweryfikowano poprzez badanie dodatkowych 20 replikatów z jedną partią odczynnika analitycznego. LoD potwierdzono również przy użyciu soli fizjologicznej, płynu Amies i podłoża do transportu próbek (specimen transport medium – STM) z wymazów.

Podobnie zaprojektowane badanie zostało przeprowadzone w celu określenia czułości analitycznej testu Aptima SARS-CoV-2 z wykorzystaniem próbek śliny. Matryca puli ujemnych próbek klinicznych śliny została wzbogacona inaktywowanym, wyhodowanym wirusem SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020; Źródła BEI: NR-52281). LoD zostało określone jako 0,01 TCID₅₀/mL w próbce testowej, co odpowiada stężeniu 0,13 TCID₅₀/mL w pobranej próbce śliny.

Czułość analityczna testu Aptima SARS-CoV-2 została dodatkowo oceniona przy użyciu materiału referencyjnego pochodzącego od trzech komercyjnych dostawców. Seryjne rozcieńczenia materiału odniesienia zostały wykonane w STM i przetestowano 20 lub więcej powtórzeń na każdym poziomie przy użyciu każdej z dwóch serii odczynników testowych w dwóch systemach Panther. Materiały odniesienia i najniższe poziomy rozcieńczenia dające wykrywalność na poziomie $\geq 95\%$ wymieniono w Tabeli 2.

Tabela 2: Ocena czułości analitycznej komercyjnego materiału odniesienia

Dostawca	Nazwa	Nr referencyjny	Nr partii	Czułość analityczna
ZeptoMetrix	Zewnętrzna kontrola testu na SARS-CoV-2	NATSARS(COV2)-ERC	324332	83 kopie/mL
SeraCare	AccuPlex Materiał referencyjny SARS-CoV-2	0505-0126	10483977	83 kopie/mL
Exact Diagnostic	Wzorzec SARS-CoV-2	COV019	20033001	83 kopie/mL

Czułość analityczna dzięki przepływowi pracy w Probówkach do przenoszenia próbek Aptima

Ustalona czułość analityczna (granica wykrywalności) testu Aptima SARS-CoV-2 na poziomie 0,01 TCID₅₀/mL została potwierdzona przy użyciu procesu przygotowania próbki w Probówce do przenoszenia próbek Aptima. Potwierdzenie przeprowadzono przy użyciu inaktywowanego, wyhodowanego wirusa SARS-CoV-2 (USA-QA1/2020; BEI Resources; NR-52281) w ujemnym klinicznym wymazie z nosogardła (NP), soli fizjologicznej, płynie Amies i podłożu do transportu próbek (STM), testując 20 replik z jedną serią odczytnika (Tabela 3).

Tabela 3: Potwierdzenie LoD dzięki przepływowi pracy w Probówkach do przenoszenia próbek Aptima

Cząsteczka szukana	Macierz	N ważne	N dodatnie	% dodatnich	Śr. kRLU	Odch. St. kRLU	%CV
Inaktywowany wirus SARS-CoV-2	Wymaz z NP	20	20	100%	1063	61	5,8%
	STM	20	20	100%	1064	116	10,9%
	Sól fizjologiczna	20	20	100%	1102	60	5,4%
	Płyn Amies	20	20	100%	1101	51	4,7%

Inkluzywność

Inkluzywność testu Aptima SARS-CoV-2 została oceniona przy użyciu analizy *in silico* docelowych oligos wychwytyjących, starterów amplifikacyjnych i sond detekcyjnych w odniesieniu do 9 896 sekwencji SARS-CoV-2 dostępnych w bazach danych genów NCBI i GISAID. Każda sekwencja z brakującą lub niejednoznaczną informacją o sekwencji została usunięta z analizy, w wyniku czego otrzymano 9 879 sekwencji ocenionych dla pierwszego regionu docelowego testu i 9 880 dla drugiego regionu docelowego. Analiza *in silico* wykazała 100% homologię z oligonami testowymi obu systemów docelowych dla 9 749 (98,5%) ocenianych sekwencji oraz 100% homologię z oligonami testowymi co najmniej jednego systemu docelowego dla wszystkich 9 896 sekwencji. Nie stwierdzono sekwencji z zidentyfikowanymi niedopasowaniami, które mogłyby wpłynąć na wiązanie lub wydajność obu systemów docelowych.

Swoistość analityczna i zakłócenia mikrobiologiczne

Swoistość analityczna testu Aptima SARS-CoV-2 została oceniona poprzez badanie 30 mikroorganizmów reprezentujących powszechne patogeny układu oddechowego lub blisko spokrewnione gatunki (Tabela 4). Bakterie zostały zbadane przy 10⁶ CFU/mL, a wirusy przy 10⁵ TCID₅₀/mL, z wyjątkiem oznaczonych przypadków. Mikroorganizmy badano z obecnością i bez obecności inaktywowanego wirusa SARS-CoV-2 przy 3x LoD. Swoistość analityczna testu Aptima SARS-CoV-2 wynosiła 100%, bez dowodów na zakłócenia mikrobiologiczne.

Poza badaniem mikroorganizmów przeprowadzono analizę *in silico* w celu oceny swoistości testu w stosunku do mikroorganizmów wymienionych w Tabeli 4. Analiza *in silico* nie wykazała prawdopodobnej reaktywności krzyżowej z żadną ze 112 ocenianych sekwencji GenBank.

Tabela 4: Swoistość analityczna Aptima SARS-CoV-2 i mikroorganizmy powodujące zakłócenia mikrobiologiczne

Mikroorganizm	Stężenie	Mikroorganizm	Stężenie
Ludzki koronawirus 229E	1E+5 TCID ₅₀ /mL	Wirus paragrypy 1	1E+5 TCID ₅₀ /mL
Ludzki koronawirus OC43	1E+5 TCID ₅₀ /mL	Wirus paragrypy 2	1E+5 TCID ₅₀ /mL
Ludzki koronawirus HKU1 ¹	1E+6 kopii/mL	Wirus paragrypy 3	1E+5 TCID ₅₀ /mL
Ludzki koronawirus NL63	1E+4 TCID ₅₀ /mL	Wirus paragrypy 4	1E+3 TCID ₅₀ /mL
Koronawirus SARS ¹	1E+6 kopii/mL	Grypa A	1E+5 TCID ₅₀ /mL
Koronawirus MERS	1E+4 TCID ₅₀ /mL	Grypa B	2E+3 TCID ₅₀ /mL
Adenowirus (np. C1 Ad. 71)	1E+5 TCID ₅₀ /mL	Enterowirus (np. EV68)	1E+5 TCID ₅₀ /mL
Ludzki metapneumowirus (hMPV)	1E+6 TCID ₅₀ /mL	Rinowirus	1E+4 TCID ₅₀ /mL
Syncytialny wirus oddechowy	1E+5 TCID ₅₀ /mL	<i>Legionella pneumophila</i>	1E+6 CFU/mL
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1E+6 IFU/mL	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1E+6 TCID ₅₀ /mL
<i>Haemophilus influenzae</i>	1E+6 CFU/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1E+6 CFU/mL
<i>Bordetella pertussis</i>	1E+6 CFU/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1E+6 CFU/mL
<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	1E+6 nuc/mL	<i>Streptococcus salivarius</i>	1E+6 CFU/mL
<i>Candida albicans</i>	1E+6 CFU/mL	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1E+6 CFU/mL
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1E+6 CFU/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1E+6 CFU/mL
Zebrane popłuczyny z nosa ludzkiego ² – do reprezentowania różnorodnej flory bakteryjnej w ludzkich drogach oddechowych	ND		

¹ Wyhodowany wirus i oczyszczony kwas nukleinowy całego genomu dla ludzkiego koronawirusa HKU1 i koronawirusa SARS nie są łatwo dostępne. W celu oceny reaktywności krzyżowej i zakłóceń mikrobiologicznych wykorzystano IVT HKU1 i koronawirusa SARS odpowiadające regionom genów ORF1ab, na które ukierunkowany jest test.

² Zamiast oceny zbiorczych popłuczyn z ludzkiego nosa, przeprowadzono badanie 30 pojedynczych, ujemnych próbek wymazów z NP, aby reprezentowały one różnorodną florę bakteryjną w ludzkich drogach oddechowych.

Charakterystyka kliniczna

Charakterystyka kliniczna testu Aptima SARS-CoV-2 została oceniona w porównaniu z testem Panther Fusion SARS-CoV-2 (Hologic, Inc.) przy użyciu panelu szczątkowych próbek klinicznych. Do badań pobrano szczątkowe próbki kliniczne z nosogardła od pacjentów z USA z objawami infekcji dróg oddechowych.

W odniesieniu do testu Panther Fusion jako wyniku referencyjnego obliczono procentową zgodność wyników dodatnich (Positive Percent Agreement, PPA) i procentową zgodność wyników ujemnych (Negative Percent Agreement, NPA), jak pokazano w Tabeli 5. Test Aptima SARS-CoV-2 wykazał procentową zgodność wyników dodatnich i ujemnych, odpowiednio 100% i 98,2%.

Popłuczyny/aspiraty nosowo-gardłowe, aspiraty z nosa, wymazy z nosa i wymazy z małżowiny środkowej są dopuszczalnymi próbkami do badań na wirusowe infekcje dróg oddechowych. Jednakże charakterystyka testu Aptima SARS-CoV-2 w przypadku tych typów próbek nie została specjalnie oceniona.

Tabela 5: Umowa kliniczna Aptima SARS-CoV-2

		Test Panther Fusion SARS-CoV-2	
		Dodatni	Ujemny
Test Aptima SARS-CoV-2	Dodatni	50	1
	Ujemny	0	54

Procentowa zgodność wyników dodatnich: (95% CI): 100% (92,9% – 100%)

Procentowa zgodność wyników ujemnych: (95% CI): 98,2% (90,4% – 99,7%)

Ogólna zgodność wyników: (95% CI): 99,0% (94,8% – 99,8%)

Charakterystyka kliniczna ze sprokurowanym panelem

Oceniono kliniczną charakterystykę testu Aptima SARS-CoV-2 przy użyciu procedury przygotowania próbki w probówce do przenoszenia próbek Aptima w porównaniu z panelem sprokurowanych próbek. Do badań wykorzystano panel 115 resztkowych próbek klinicznych pobranych z jamy nosowo-gardłowej, przy użyciu zarówno Probówki do lizy próbek Panther Fusion, jak i Probówki do przenoszenia próbek Aptima. Wszystkie próbki kliniczne zostały pobrane z nosogardła od pacjentów z USA z objawami infekcji dróg oddechowych. Panel składał się z 65 próbek SARS-CoV-2 dodatnich i 50 próbek SARS-CoV-2 ujemnych. Z 65 próbek dodatnich 40 było w stężeniach 0,5-2x LoD i 25 było w stężeniach 3-5x LoD przy użyciu inaktywowanego wyhodowanego wirusa SARS-CoV-2 (USA-QA1/2020; BEI Resources; NR-52281) jako cząsteczki docelowej.

Procentowa zgodność wyników dodatnich (PPA) i procentowa zgodność wyników ujemnych (NPA) dla obu procesów przygotowania próbek została obliczona w odniesieniu do oczekiwanych wyników sprokurowanego panelu próbek, jak pokazano w Tabeli 6 dla probówki do przenoszenia próbek Aptima i Tabeli 7 dla Probówki do lizy próbek. Charakterystyka wykrywania dla sprokurowanych próbek została obliczona według stężenia cząsteczek docelowych, jak pokazano w Tabeli 8. Obie metody przygotowania próbek wykazały 100% zgodność dla badanych paneli.

Tabela 6: Charakterystyka procesu pracy z użyciem Probówki do przenoszenia próbek Aptima w odniesieniu do oczekiwanych wyników

		Wynik oczekiwany		
		Dodatni	Ujemny	Ogółem
Wynik przenoszenia próbek Aptima	Dodatni	65	0	65
	Ujemny	0	50	50
	Ogółem	65	50	115

Ogólna zgodność wyników: 100% (96,8% – 100%)

Zgodność wyników dodatnich: 100% (94,4% – 100%)

Zgodność wyników ujemnych: 100% (92,9% – 100%)

Tabela 7: Charakterystyka procesu pracy z użyciem Probówki do lizy próbek w odniesieniu do oczekiwanych wyników

		Wynik oczekiwany		
		Dodatni	Ujemny	Ogółem
Wyniki dla probówki do lizy próbek	Dodatni	65	0	65
	Ujemny	0	50	50
	Ogółem	65	50	115

Ogólna zgodność wyników: 100% (96,8% – 100%)

Zgodność wyników dodatnich: 100% (94,4% – 100%)

Zgodność wyników ujemnych: 100% (92,9% – 100%)

Tabela 8: Charakterystyka wykrywania dla sprokurowanych próbek wymazu z jamy nosowo-gardłowej

Proces przy użyciu Probówki do przenoszenia próbek Aptima							Proces przy użyciu Probówki do lizy próbek					
St. częst. doc.	n Ważny	n Dodatni	% Dodatni	Średnia kRLU	Odch. st. kRLU	%CV	n Ważny	n Dodatni	% Dodatni	Średnia kRLU	Odch. st. kRLU	%CV
Ujem	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

Charakterystyka kliniczna z naturalnie zakażoną próbką dodatnią

Oceniono charakterystykę kliniczną testu Aptima SARS-CoV-2 przy użyciu procedury przygotowania próbki w Probówce do przenoszenia próbek Aptima w porównaniu z procedurą przygotowania próbki w Probówce do lizy próbek, testowaną zarówno z testami Aptima, jak i Panther Fusion SARS-CoV-2. Do badań przygotowano trzy rozcieńczenia 15 unikalnych próbek wymazów z jamy nosowo-gardłowej z wynikiem dodatnim na obecność SARS-CoV-2 i przetworzono je przy użyciu obu metod. Probki SARS-CoV-2 zostały wcześniej uznane za dodatnie przy użyciu testu molekularnego firmy innej niż Hologic.

Procentowa zgodność wyników dodatnich pomiędzy testem Aptima SARS-CoV-2 wykorzystującym proces przy użyciu Probówki do przenoszenia próbek Aptima i Probówki do lizy próbek wynosiła odpowiednio 97,5% (87,1% – 99,6%) i 100% (91,0% – 100%), w porównaniu z testem Panther Fusion SARS-CoV-2 wykorzystującym jako odniesienie proces z zastosowaniem probówki do lizy próbek. Procentowa zgodność wyników dodatnich procesu dla probówki do przenoszenia próbek Aptima wyniosła 95,0% (83,5% – 98,6%) w porównaniu z procesem przy użyciu Probówki do lizy próbek jako punktu odniesienia.

Charakterystyka kliniczna z próbkami śliny

Charakterystyka kliniczna testu Aptima SARS-CoV-2 z próbkami śliny została oceniona w porównaniu z próbkami wymazów z NP u 303 uczestników, którzy zostali przebadani jednocześnie. Wśród 303 badanych było 160 (52,8%) osób z łagodnymi objawami i 143 (47,2%) bez objawów w momencie badania. W odniesieniu do próbek wymazów NP jako wyniku referencyjnego, dla próbek śliny obliczono procentową zgodność wyników dodatnich (Positive Percent Agreement, PPA) i procentową zgodność wyników ujemnych (Negative Percent Agreement, NPA), jak pokazano w Tabeli 9. Test Aptima SARS-CoV-2 wykazał procentową zgodność wyników dodatnich i ujemnych pomiędzy rodzajami próbek odpowiednio 87,0% i 99,2%.

Tabela 9: Zgodność kliniczna testu Aptima SARS-CoV-2 pomiędzy próbkami śliny i wymazu z NP.

		Wymaz z NP	
		Dodatni	Ujemny
Ślina	Dodatni	47	2
	Ujemny	7	245

Uwaga: 2 próbki dały nieważne wyniki.

Procentowa zgodność wyników dodatnich: (95% CI): 87,0% (83,0% – 96,0%)

Procentowa zgodność wyników ujemnych: (95% CI): 99,2% (97,1% – 99,9%)

Charakterystyka kliniczna u osób bezobjawowych

Charakterystyka kliniczna testu Aptima SARS-CoV-2 u osób bez oznak i objawów infekcji dróg oddechowych (osoby bezobjawowe) została oceniona w porównaniu z testem molekularnym EUA. Oceniono prospektywnie zebrane próbki wymazów z jamy nosowo-gardłowej od pacjentów z USA, w tym 45 próbek dodatnich w kierunku SARS-CoV-2 i 315 próbek ujemnych w kierunku SARS-CoV-2 przy użyciu testu porównawczego EUA. W odniesieniu do wyników badania porównawczego EUA obliczono PPA i NPA. Wartości PPA i NPA dla testu Aptima SARS-CoV-2 u osób bezobjawowych wyniosły odpowiednio 100% i 96,5%, jak pokazano w Tabeli 10.

Tabela 10: Zgodność kliniczna w próbkach wymazu z NP pobranych od osób bezobjawowych

		Test EUA	
		Dodatni	Ujemny
Test Aptima SARS-CoV-2	Dodatni	45	11
	Ujemny	0	304

Procentowa zgodność wyników dodatnich (PPA): 100% (92,1% – 100%)

Procentowa zgodność wyników ujemnych (NPA): 96,5% (93,9% – 98,0%)

Sześć (6) z 11 próbek wymazów z NP, które dały wynik fałszywie dodatni, uzyskało wynik dodatni po ponownym przebadaniu porównawczym testem EUA. Wartości Ct dla tych 6 próbek wahały się między 35,5 a 38,9, co sugeruje niską wiramię.

Charakterystyka kliniczna łączenia do 5 próbek przed badaniem

Charakterystyka kliniczna testu Aptima SARS-CoV-2 została oceniona w grupach składających się z maksymalnie 5 próbek. W badaniu oceniono 5 próbek, w tym próbki dodatnie i ujemne. Każda grupa próbek dodatnich składała się z jednej próbki dodatniej, a pozostałe próbki były ujemne, natomiast grupy próbek ujemnych składały się wyłącznie z próbek ujemnych. W badaniu oceniono 50 dodatnich i 20 ujemnych próbek. Probki dodatnie użyte w badaniu obejmowały zakres wykrywalności testu i zawierały 20% próbek słabo dodatnich. Probki do włączenia do badania klinicznej charakterystyki łączenia próbek zostały wybrane na podstawie wyników Ct uzyskanych za pomocą testu Panther Fusion SARS-CoV-2. Do tego celu użyto testu SARS-CoV-2 Panther Fusion, ponieważ testy Panther Fusion SARS-CoV-2 i Aptima SARS-CoV-2 mają taką samą wartość LoD przy ocenie z panelem referencyjnym FDA (tj. 600 NDU/mL). Probki słabo dodatnie włączone do badania zostały zdefiniowane jako posiadające wartość Ct w zakresie 1-2 Ct od LoD testu Panther Fusion SARS-CoV-2. Zarówno próbki zbiorcze, jak i pojedyncze były oceniane przy użyciu testu Aptima SARS-CoV-2.

W odniesieniu do wyniku spodziewanego (pojedynczego) obliczono procentową zgodność wyników dodatnich (PPA) i procentową zgodność wyników ujemnych (NPA), jak pokazano w Tabeli 11. Wszystkie ocenione próbki dodatnie dały wynik dodatni w puli. Ponieważ wartości kRLU dla testu Aptima nie odpowiadają stężeniu docelowemu, nie przeprowadzono analizy czułości sygnału i in silico.

Tabela 11: Zgodność wyników próbek pojedynczych i zbiorczych przy wielkości puli wynoszącej 5

		Wynik dla pojedynczej próbki		
		Dodatni	Ujemny	Ogółem
Wynik dla puli 5	Dodatni	50	0	50
	Ujemny	0	20	20
	Ogółem	50	20	70

Ogólna zgodność wyników: 100% (94,8% – 100,0%)

Zgodność wyników dodatnich: 100% (92,9% – 100,0%)

Zgodność wyników ujemnych: 100% (83,9% – 100,0%)

Charakterystyka kliniczna łączenia do 5 próbek pobranych od pacjentów bezobjawowych przed wykonaniem badania

Charakterystyka kliniczna testu Aptima SARS-CoV-2 została oceniona w pulach próbek pobranych od pacjentów bezobjawowych. Oceniano wielkość puli do 5 próbek, zarówno z dodatnimi jak i ujemnymi próbkami od pacjentów bezobjawowych. Każda pula próbek dodatnich składała się z jednej próbki dodatniej, a pozostałe próbki były ujemne, natomiast pule próbek ujemnych składały się wyłącznie z próbek ujemnych. Dla wielkości puli wynoszącej trzy próbki, oceniono 32 dodatnie i 32 ujemne próbki. Dla wielkości puli wynoszącej cztery próbki, oceniono 36 dodatnich i 31 ujemnych próbek. Dla wielkości puli wynoszącej pięć próbek, oceniono 36 dodatnich i 30 ujemnych próbek. Probki dodatnie użyte w badaniu obejmowały zakres wykrywalności testu i każda pula zawierała 25% próbek słabo dodatnich. Probki objęte badaniem charakterystyki klinicznej zostały wybrane na podstawie wyników Ct uzyskanych za pomocą testu Panther Fusion SARS-CoV-2. Do tego celu użyto testu SARS-CoV-2 Panther Fusion, ponieważ testy Panther Fusion SARS-CoV-2 i Aptima SARS-CoV-2 mają taką samą wartość LoD przy ocenie z panelem referencyjnym FDA (tj. 600 NDU/mL). Probki słabo dodatnie włączone do badania zostały zdefiniowane jako posiadające wartość Ct w zakresie 1-2 Ct od LoD testu Panther Fusion SARS-CoV-2. Zarówno próbki zbiorcze, jak i pojedyncze były oceniane przy użyciu testu Aptima SARS-CoV-2.

W odniesieniu do wyniku spodziewanego (pojedynczego), dla każdej badanej wielkości puli obliczono procentową zgodność wyników dodatnich (PPA) i procentową zgodność wyników ujemnych (NPA), jak pokazano w Tabeli 12, Tabeli 13 i Tabeli 14. Przy wielkości puli trzech próbek, jedna z ośmiu ocenianych próbek o stężeniu docelowym na poziomie lub blisko poziomu LoD testu dała indywidualny wynik dodatni, ale nie została wykryta jako część puli próbek. Przy wielkości puli czterech próbek, wszystkie ocenione próbki dodatnie dały wynik dodatni podczas badania puli. Przy wielkości puli pięciu próbek, pięć z dziewięciu ocenianych próbek z docelowymi stężeniami na poziomie lub w pobliżu LoD testu dało indywidualny wynik dodatni, ale nie zostały wykryte jako część puli próbek. Ponieważ wartości kRLU dla testu Aptima nie odpowiadają stężeniom docelowym, nie przeprowadzono analizy czułości sygnału i *in silico*.

Tabela 12: Zgodność wyników próbek pojedynczych i zbiorczych od osób bez objawów przy wielkości puli wynoszącej 3

		Wynik dla pojedynczej próbki		
		Dodatni	Ujemny	Ogółem
Wynik dla puli 3	Dodatni	31	0	31
	Ujemny	1	32	33
	Ogółem	32	32	64

Ogólna zgodność wyników: 98,4% (91,7% – 99,7%)

Zgodność wyników dodatnich: 96,9% (84,3% – 99,4%)

Zgodność wyników ujemnych: 100% (89,3% – 100%)

Tabela 13: Zgodność wyników próbek pojedynczych i zbiorczych od osób bez objawów przy wielkości puli wynoszącej 4

		Wynik dla pojedynczej próbki		
		Dodatni	Ujemny	Ogółem
Wynik dla puli 4	Dodatni	36	0	36
	Ujemny	0	31	31
	Ogółem	36	31	67

Ogólna zgodność wyników: 100% (94,6% – 100%)

Zgodność wyników dodatnich: 100% (90,4% – 100%)

Zgodność wyników ujemnych: 100% (89,0% – 100%)

Tabela 14: Zgodność wyników próbek pojedynczych i zbiorczych od osób bez objawów przy wielkości puli wynoszącej 5

		Wynik dla pojedynczej próbki		
		Dodatni	Ujemny	Ogółem
Wynik dla puli 5	Dodatni	31	0	31
	Ujemny	5	30	35
	Ogółem	36	30	66

Ogólna zgodność wyników: 92,4% (83,5% – 96,7%)

Zgodność wyników dodatnich: 86,1% (71,3% – 93,9%)

Zgodność wyników ujemnych: 100% (88,6% – 100%)

Bibliografia

1. **Światowa Organizacja Zdrowia.** Pytania i odpowiedzi na temat koronawirusów (COVID-19). 9 marca 2020. Strona internetowa Światowej Organizacji Zdrowia <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/q-a-coronaviruses>. Dostęp: środa, wtorek, 10 marca 2020 r.
2. **Centers for Disease Control and Prevention.** <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/how-covid-spreads.html>. Dostęp: środa, wtorek, środa, 17 czerwca 2020 r.
3. **Centers for Disease Control and Prevention.** Choroba wywołana koronawirusem w roku 2019 (COVID-19) w USA. Aktualizacja 10 marca 2020 r. Strona internetowa Centers for Disease Control and Prevention <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-in-us.html>. Dostęp: środa, wtorek, 10 marca 2020 r.
4. **Centers for Disease Control and Prevention.** Choroba wywołana koronawirusem w roku 2019 Informacje dla podróżujących. Strona ostatnio przeglądana 8 marca 2020 r. Strona internetowa Disease Control and Prevention <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/travelers/index.html>. Dostęp: środa, wtorek, 10 marca 2020 r.
5. **Centers for Disease Control and Prevention.** Choroba wywołana koronawirusem w roku 2019 (COVID-19) Podsumowanie sytuacji. Aktualizacja 9 marca 2020 r. Strona internetowa Centers for Disease Control and Prevention <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/summary.html>. Dostęp: środa, wtorek, 10 marca 2020 r.
6. **Clinical & Laboratory Standards Institute.** Dokument M29 Ochrona pracowników laboratoriów przed zakażeniami nabytymi podczas pracy. Strona internetowa CLSI <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Dostęp: wrzesień 2017 r.



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Dział obsługi klienta: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Wsparcie techniczne: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Więcej informacji kontaktowych zamieszczono na stronie
www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Panther i Panther Fusion są znakami towarowymi i/lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Hologic, Inc. i/lub spółek zależnych w Stanach Zjednoczonych i/lub innych państwach.

Wszystkie inne znaki towarowe, które mogą się pojawić w tej ulotce załączonej do opakowania, należą do ich odpowiednich właścicieli.

Opisywany produkt może być objęty co najmniej jednym patentem USA spośród wymienionych na stronie www.hologic.com/patents.

©2022 Hologic, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

AW-22752-3401 wer. 004
2022-04