

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

Gebruiksaanwijzing

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik

Alleen op recept

INHOUD

Algemene informatie	2
Beoogd gebruik	2
Samenvatting en uitleg van de test	2
Beginselen van de procedure	2
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen	3
Vereisten voor opslag en verwerking van reagentia	7
Afname en opslag van specimen	8
Specimenverwerking	8
Panther-systeem	10
Geleverde reagentia en materialen	10
Benodigde en apart verkrijgbare materialen	11
Testprocedure voor het Panther-systeem	12
Procedurele aantekeningen	15
Kwaliteitscontrole	17
Interpretatie van resultaten	17
Beperkingen	18
Analytische prestaties	19
Analytische gevoeligheid	19
FDA SARS-CoV-2 Referentiepaneltest	20
Reactiviteit – Natte testen	20
Reactiviteit-in silico-analyse	21
Analytische specificiteit en microbiële interferentie	21
Interferentie	23
Overdrachtsverontreiniging	24
Precisie van de test	24
Equivalentie van afnamehulpmiddel	25
Reproduceerbaarheid	26
Klinische prestaties	27
Bibliografie	30
Contactgegevens en revisiegeschiedenis	31

Algemene informatie

Beoogd gebruik

De Aptima™ SARS-CoV Assay is een nucleïnezuuramplificatie *in vitro* diagnostische test bedoeld voor de kwalitatieve detectie van RNA van SARS-CoV-2, geïsoleerd en gezuiverd uit neus-keel- (NP) en neusuitstrijkjes verkregen van personen met een vermoeden van een COVID-19-infectie, die tekenen en symptomen van een luchtweginfectie vertonen.

Positieve resultaten zijn een indicatie van de aanwezigheid van RNA van SARS-CoV-2, klinische correlatie met de voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnose-informatie is nodig om de infectiestatus van de patiënt te bepalen. Positieve resultaten sluiten een bacteriële infectie of co-infectie met andere virussen niet uit.

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

De Aptima SARS-CoV-2 Assay op het Panther™ en Panther Fusion™ Systeem is bedoeld voor gebruik door klinisch laboratoriumpersoneel dat specifiek is geïnstrueerd en getraind in de bediening van de Panther en Panther Fusion-systemen en in-vitrodiagnostische procedures.

Samenvatting en uitleg van de test

Coronavirussen zijn een grote familie van virussen die kunnen leiden tot ziekte bij dieren en mensen. Bij mensen veroorzaken verscheidene coronavirussen luchtweginfecties, die gaan van een gewone verkoudheid tot ernstigere aandoeningen zoals Nahost-Atemwegssyndroom (MERS) en Ernstig acuut ademhalingsyndroom (SARS). Het meest recent ontdekte coronavirus, SARS-CoV-2, veroorzaakt de daarmee samenhangende coronavirusziekte COVID-19. Dit nieuwe virus en deze ziekte waren onbekend vóór de uitbraak in Wuhan, China, in december 2019.¹ Bij mensen met COVID-19 worden uiteenlopende symptomen gemeld, variërend van milde symptomen tot ernstige ziekte. Symptomen kunnen 2 tot 14 dagen na blootstelling aan het virus optreden. Mensen met COVID-19 kunnen last hebben van koorts of koude rillingen, hoesten, kortademigheid of moeite met ademen, vermoeidheid, spier- of lichaamsspijnen, hoofdpijn, verlies van smaak of reuk, keelpijn, verstopte neus of loopneus, misselijkheid of braken en/of diarree.² Op 11 maart 2020 werd de COVID-19-uitbraak door de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) gekarakteriseerd als een pandemie.³ Sinds december 2019 zijn er wereldwijd meer dan 760 miljoen gevallen en 6,9 miljoen doden geregistreerd, maar het werkelijke aantal ligt vermoedelijk hoger.^{4,6}

Beginnelsen van de procedure

De Aptima SARS-CoV-2 Assay combineert de technologieën van target capture, transcriptie-gemedieerde amplificatie (TMA) en dual kinetische assay (DKA).

Specimens worden afgenomen en overgebracht naar de geschikte monstertransportbuisjes. De transportoplossingen in deze buisjes geeft de RNA target af en beschermt deze tegen degradatie tijdens opslag. Wanneer de Aptima SARS-CoV-2 Assay in het laboratorium wordt uitgevoerd, worden de doel-RNA-moleculen uit monsters geïsoleerd met behulp van capture-oligomeren via target capture, waarbij gebruik wordt gemaakt van magnetische microdeeltjes.

De capture-oligomeren bevatten sequenties die complementair zijn aan specifieke gebieden van de targetmoleculen alsook een string van deoxyadenosineresten. Voor elke target wordt een afzonderlijke capture-oligomeer gebruikt. Tijdens de hybridisatiestap binden de sequentie-specifieke gebieden van de capture-oligomeren zich aan specifieke gebieden van de targetmoleculen. De capture-oligomeer doelcomplex wordt uit de oplossing geïsoleerd door de temperatuur van de reactie te verlagen tot kamertemperatuur. Deze temperatuursverlaging zorgt voor hybridisatie tussen het deoxyadenosinegebied op de capture-oligomeer en de poly-deoxythymidinemoleculen die covalent verbonden zijn met de magnetische deeltjes. De microdeeltjes, inclusief de daaraan gebonden capturetargetmoleculen, worden door middel van magneten naar de zijkant van het reactievat getrokken en de bovendrijvende vloeistof wordt afgezogen. De deeltjes worden gewassen om resten van de monstermatrix te verwijderen die amplificatiereactie-inhibitoren kunnen bevatten. Als de stappen voor target capture zijn voltooid, zijn de monsters klaar voor amplificatie.

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

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

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

- A. Voor *in vitro* diagnostisch gebruik.
- B. Lees deze volledige bijsluiters en de *Handleiding voor de operator van het Panther/Panther Fusion-systeem*.
- C. Voor professioneel gebruik.

Laboratoriumgerelateerd

- D. Alleen personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van deze assay en in het omgaan met potentieel besmettelijk materiaal, mag deze procedures uitvoeren. Als er materiaal is gemorst, desinfecteer dan onmiddellijk volgens de toepasselijke procedures van de instelling.
- E. Behandel en verwerk alle specimens alsof ze besmettelijk en volg daarbij de laboratoriumpraktijken en procedures die de basis vormen voor goede microbiologische praktijken en procedures (GMPP). Raadpleeg de richtlijnen voor biologische laboratoriumveiligheid van de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) met betrekking tot de coronavirusziekte (COVID-19): voorlopige richtlijnen. [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)).
- F. De specimens kunnen besmettelijk zijn. Gebruik universele voorzorgsmaatregelen bij het uitvoeren van deze assay. De directeur van het laboratorium moet de juiste hanterings- en verwijderingsmethoden vaststellen. Alleen personeel dat adequaat is opgeleid in het omgaan met besmettelijk materiaal mag deze diagnostische procedure uitvoeren.⁶
- G. Indien het vermoeden van infectie met SARS-CoV-2 bestaat op basis van actuele klinische screeningcriteria aanbevolen door de volksgezondheidsinstanties, moeten de specimens worden afgenomen met de passende voorzorgsmaatregelen voor infectiebeheersing.
- H. Gebruik alleen de meegeleverde of aangegeven wegwerpartikelen voor in het laboratorium.
- I. Draag geschikte persoonlijke beschermingsmiddelen wanneer u specimens afneemt en hanteert van personen waarvan wordt vermoed dat ze besmet zijn met SARS-CoV-2, zoals beschreven in de CDC Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV).
- J. Draag poederloze wegwerphandschoenen, oogbescherming en labjassen tijdens het verwerken van specimens en reagentia. Was uw handen grondig na het hanteren van specimens en reagentia.
- K. Gooi alle materialen die in contact zijn geweest met specimens en reagentia weg conform de toepasselijke nationale, internationale en regionale regelgeving.
- L. Gebruik goede standaardpraktijken voor laboratoria voor moleculaire diagnostiek, waaronder controle van de laboratoriumomgeving. Zie *Protocol voor het monitoren van laboratoriumverontreiniging voor het Panther-systeem*.

Specimengerelateerd

- M. De vervaldatum die op de Panther Fusion Specimen Lysis Tubes en de RespDirect™ afnemakit staan vermeld, hebben betrekking op het overbrengen van het monster naar de buis en niet op het testen van het monster. Specimens die voorafgaand aan deze vervaldatum worden afgenomen/overgebracht, zijn geldig voor testen op voorwaarde dat ze getransporteerd en opgeslagen zijn conform de juiste bijsluiters, zelfs als deze vervaldatum verstreken zijn.
- N. Zorg dat de specimens onder de juiste bewaaromstandigheden worden verstuurd om hun integriteit te waarborgen. De stabiliteit van de specimens in andere dan de aanbevolen verzendingomstandigheden is niet geëvalueerd.



- O. Voorkom kruiscontaminatie tijdens de stappen waarin de specimens worden verwerkt. Specimens kunnen een extreem hoog niveau aan virussen of andere organismen bevatten. Zorg ervoor dat specimenhouders niet met elkaar in contact komen en voer gebruikt materiaal niet af boven open houders. Vervang uw handschoenen als deze met een specimen in contact komen.

Assay-gerelateerd

- P. Gebruik de reagentia en controles niet na de vervaldatum.
- Q. Sla de assaycomponenten op volgens de aanbevolen bewaarcondities. Zie *Vereisten voor opslag en verwerking van reagentia* (pagina 7), en *Testprocedure voor het Panther-systeem* (pagina 12) voor meer informatie.
- R. Assayreagentia of vloeistoffen mogen niet worden gecombineerd. Vul geen reagentia of vloeistoffen bij; het Panther-systeem controleert de reagensniveaus.
- S. Voorkom microbiële en ribonuclease besmetting van reagentia.
- T. Gebruik geen materiaal dat mogelijk guanidiumthiocynaat bevat of enige andere guanidine bevattende materialen op het instrument. Er kunnen zich zeer reactieve en/of toxische verbindingen vormen indien gecombineerd met natriumhypochloriet.
- U. Een reagens in deze kit is geëtiketteerd met risico- en veiligheidssymbolen.

Opmerking: De gevarencommunicatie weerspiegelt de classificaties in de veiligheidsinformatiebladen (VIB's) van de EU. Voor specifieke informatie over gevarencommunicatie voor uw regio kunt u het regiospecifieke SDS raadplegen in de Safety Data Sheet Library op www.hologicsds.com. Voor meer informatie over de symbolen kunt u de symboollegenda op www.hologic.com/package-inserts raadplegen.

EU-gevareninformatie	
<p>Amplification Reagent <i>HEPES 25 - 30%</i></p> <p>–</p>	<p>–</p> <p>H402 - Schadelijk voor in het water levende organismen. H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P501 - Inhoud/verpakking afvoeren naar een erkende afvalverwerkingsinstallatie.</p>
<p>Enzyme Reagent <i>Triton X-100 1 - 5%</i> <i>HEPES 1 - 5%</i></p> <p>–</p>	<p>–</p> <p>H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P501 - Inhoud/verpakking afvoeren naar een erkende afvalverwerkingsinstallatie.</p>
<p>Enzyme Reconstitution Solution <i>Glycerol 20 - 25%</i> <i>Triton X-100 5 - 10%</i> <i>HEPES 1 - 5%</i></p> <p>–</p>	<p>–</p> <p>H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P501 - Inhoud/verpakking afvoeren naar een erkende afvalverwerkingsinstallatie.</p>

	<p>Probe Reagent <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 35 - 40%</i> <i>Succinic Acid 10 - 15%</i></p> <p>—</p> <p>—</p> <p>H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P501 - Inhoud/verpakking afvoeren naar een erkende afvalverwerkingsinstallatie.</p>
 	<p>Selection Reagent <i>Boorzuur 1-5%</i> <i>Triton X-100 1-5%</i> <i>Natriumhydroxide <1%</i></p> <p>Gevaar H315 - Veroorzaakt huidirritatie. H360FD - Kan de vruchtbaarheid schaden. Kan het ongeboren kind schaden. P264 - Na het werken met dit product gezicht, handen en alle blootgestelde huid grondig wassen. P280 - Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen. P302 + P352 - BIJ CONTACT MET DE HUID: met veel water en zeep wassen. P321 - Specifieke behandeling vereist (zie aanvullende eerstehulpinstructies op dit etiket). P332 + P313 - Bij huidirritatie: een arts raadplegen. P362 + P364 - Verontreinigde kleding uittrekken en wassen alvorens deze opnieuw te gebruiken. P201 - Alvorens te gebruiken de speciale aanwijzingen raadplegen. P202 - Pas gebruiken nadat u alle veiligheidsvoorschriften gelezen en begrepen heeft. P308 + P313 - NA (mogelijke) blootstelling: een arts raadplegen. P405 - Achter slot bewaren. P501 - Inhoud/verpakking afvoeren naar een erkende afvalverwerkingsinstallatie.</p>
	<p>Target Capture Reagent <i>HEPES 5-10%</i> <i>EDTA 1-5%</i> <i>LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1-5%</i></p> <p>—</p> <p>—</p> <p>H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P273 - Voorkom lozing in het milieu. P501 - Inhoud/verpakking afvoeren naar een erkende afvalverwerkingsinstallatie.</p>

Vereisten voor opslag en verwerking van reagentia

A. De onderstaande tabel toont de opslagcondities en de stabiliteit van reagentia en controles.

Reagens	Ongeopende opslag	Open kit (gereconstitueerd)	
		Opslag	Stabiliteit
Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reagent	2 °C tot 8 °C	N.v.t.	N.v.t.
Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reagent	2 °C tot 8 °C	N.v.t.	N.v.t.
Aptima SARS-CoV-2 Probe Reagent	2 °C tot 8 °C	N.v.t.	N.v.t.
Aptima SARS-CoV-2 Internal Control	2 °C tot 8 °C	N.v.t.	N.v.t.
Aptima SARS-CoV-2 positieve controle	2 °C tot 8 °C	N.v.t.	N.v.t.
Aptima SARS-CoV-2 negatieve controle	2 °C tot 8 °C	N.v.t.	N.v.t.
Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reconstitution Solution	2 °C tot 30 °C	2 °C tot 8 °C	30 dagen
Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reconstitution Solution	2 °C tot 30 °C	2 °C tot 8 °C	30 dagen
Aptima SARS-CoV-2 Probe Reconstitution Solution	2 °C tot 30 °C	2 °C tot 8 °C	30 dagen
Aptima SARS-CoV-2 Selection Reagent	2 °C tot 30 °C	2 °C tot 30 °C	30 dagen
Aptima SARS-CoV-2 Target Capture Reagent	15 °C tot 30 °C	15 °C tot 30 °C	30 dagen

- B. Als het Selection Reagent gekoeld wordt bewaard, laat het dan op kamertemperatuur komen voordat u het op het Panther-systeem plaatst.
- C. Working Target Capture Reagent (wTCR) is 30 dagen stabiel bij opslag bij 15 °C tot 30 °C. Niet in de koelkast bewaren.
- D. Na reconstitutie zijn het Enzyme Reagent, het Amplification Reagent en het Probe Reagent 30 dagen stabiel bij bewaring bij 2 °C tot 8 °C.
- E. Gooi ongebruikte gereconstitueerde reagentia en wTCR na 30 dagen weg of, indien eerder, na de uiterste houdbaarheidsdatum van de hoofdpartij.
- F. Controls zijn stabiel tot de datum die op de flacons staat aangegeven.
- G. De reagentia die in het Panther-systeem zijn opgeslagen, blijven 120 uur stabiel.
- H. Het Probe Reagent en het gereconstitueerde Probe Reagent zijn lichtgevoelig. Bewaar de reagentia op een donkere plaats. De gespecificeerde gereconstitueerde stabiliteit is gebaseerd op een blootstelling van het gereconstitueerde Probe Reagent aan twee fluorescerende lampen van 60 W gedurende 12 uur, op een afstand van 43 cm en bij een temperatuur lager dan 30 °C. Blootstelling aan licht van het gereconstitueerde Probe Reagent moet overeenkomstig beperkt worden.
- I. Bij opwarming tot kamertemperatuur kunnen een aantal controlebuisjes troebel lijken of precipitaat bevatten. Troebelheid of precipitatie gekoppeld aan controles heeft geen invloed op de prestaties van de controles. De controles kunnen gebruikt worden ongeacht of ze helder of troebel zijn, of precipitaat bevatten. Indien heldere controles gewenst zijn, kan solubilisatie worden versneld door ze te incuberen aan de bovengrens van het bereik van de kamertemperatuur (15 °C tot 30 °C).

J. De reagentia niet invriezen.

Afname en opslag van specimen

Specimens - Klinisch materiaal van de patiënt wordt in een geschikt transportsysteem geplaatst. Voor de Aptima SARS-CoV-2 Assay omvat dit NP- en neusuitstrijkjes die zijn afgenomen in viraal transportmedium (VTM/UTM) of verbeterd specimentransportmedium (eSTM) met de RespDirect-afnamekit.

Monsters - Een algemenere term voor alle materialen die getest worden op het Panther-systeem, inclusief specimens, specimen die overgebracht zijn in een Panther Fusion Specimen Lysis Tube en controles.

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

Opmerking: *Zorg ervoor dat er geen kruisbesmetting plaatsvindt tijdens de stappen waarin specimens worden gehanteerd. Gooi bijvoorbeeld gebruikt materiaal weg, zonder dat het over open buizen gaat.*

Specimenafname

Neem NP- en neusuitstrijkjes af volgens de standaardtechniek met behulp van een wattenstaafje met een polyester-, rayon- of nylonpunt. Plaats het specimen van het uitstrijkje onmiddellijk in 3 mL VTM of UTM. Met de RespDirect-afnamekit kunnen ook NP- en neusuitstrijkjes worden afgenomen.

De volgende typen VTM/UTM zijn geverifieerd voor gebruik met de Aptima SARS-CoV-2 Assay:

- Remel MicroTest M4RT, M5 of M6 formuleringen
- Copan Universal Transport Medium (universeel transportmedium)
- BD Universal Viral Transport Medium (universeel viraal transportmedium)
- Hardy Diagnostics Viral Transport Medium

Specimenverwerking

Specimenverwerking met de Panther Fusion Specimen Lysis Tube

1. Voordat u gaat testen op het Panther-systeem, brengt u 500 µL van het in UTM of VTM afgenomen specimen over naar een Panther Fusion Specimen Lysis Tube.

Opmerking: *Wanneer u bevroren specimens test, laat u het specimen op kamertemperatuur komen voordat u het verwerkt.*

Specimenverwerking met de Enhanced Direct Load Tube (RespDirect-afnamekit)

1. Nadat het specimen is afgenomen in de Enhanced Direct Load Tube (RespDirect-afnamekit), kan het specimen op het Panther-systeem worden geladen.

Opmerking: *Indien er stolsels worden waargenomen, kunnen de monsters 5–10 minuten lang bij 1800 rpm worden gevortex op een vortex voor meerdere buisjes (of stand 5 op Cat. Nr. 102160G).*

Als alternatief kunnen de individuele buizen met de hand 15 seconden lang op maximale snelheid worden gevortex op een standaard tafelvortex.

Als de buisjes eerder zijn doorboord, plaats dan een nieuwe dop op de buisjes voordat u ze vortext.

Als bij een hertest een CLT-resultaat wordt verkregen, neem dan een nieuw monster.

Opmerking: *Wanneer u bevroren specimens test, laat u het monster op kamertemperatuur komen voordat u het in het Panther-systeem plaatst.*

Opmerking: Als het laboratorium een Enhanced Direct Load Tube (RespDirect-afnamekit) zonder wattenstaafje of met twee wattenstaafjes ontvangt, moet het specimen worden afgekeurd.

Specimenopslag

Het opslaan van specimen met de Panther Specimen Lysis Tube

1. Na afname kunnen NP- en neusuitstrijkjes in VTM/UTM maximaal 96 uur worden bewaard bij 2 °C tot 8 °C voordat ze worden overgebracht naar de Panther Fusion Specimen Lysis Tube. De resterende monstervolumes kunnen worden opgeslagen bij ≤-70 °C. Vries-/dooicycli moeten tot een minimum worden beperkt vanwege de kans op monsterdegradatie.
2. Monsters in de Panther Fusion Specimen Lysis Tube kunnen onder de volgende omstandigheden worden bewaard:
 - 15 °C tot 30 °C tot maximaal 6 dagen of
 - 2 °C tot 8 °C, -20 °C, en -70 °C gedurende maximaal 3 maanden Vries-dooicycli moeten tot een minimum worden beperkt vanwege de kans op afbraak van het specimen.
3. Eerder geteste specimen moeten worden afgedekt met een nieuwe, schone plastic folie of foliebarrière.
4. Als monsters die zijn getest moeten worden ingevroren of vervoerd, moet de doorprikbare dop worden verwijderd en moet een nieuwe niet-doorprikbare dop op de monsterbuisen worden geplaatst. Als monsters moeten worden vervoerd voor tests op een andere locatie, dan moeten de aanbevolen temperaturen worden gehandhaafd. Voordat de doppen van eerder geteste en opnieuw afgesloten monsters worden verwijderd, kunnen de specimenbuisjes 5 minuten lang worden gecentrifugeerd bij 420 relatieve centrifugale kracht (RCF) om alle vloeistof naar de bodem van het buisje te brengen. Vermijd opspatten en kruisbesmetting.

Het opslaan van specimen met de Enhanced Direct Load Tube (RespDirect-afnamekit)

1. NP- en neusuitstrijkjes kunnen onder de volgende omstandigheden worden bewaard:
 - 15 °C tot 30 °C tot maximaal 6 dagen of
 - 2 °C tot 8 °C, -20 °C, en -70 °C gedurende maximaal 3 maanden Vries-dooicycli moeten tot een minimum worden beperkt vanwege de kans op afbraak van het specimen.
2. Eerder geteste specimen moeten worden afgedekt met een nieuwe, schone plastic folie of foliebarrière.
3. Als monsters die zijn getest moeten worden ingevroren of vervoerd, moet de doorprikbare dop worden verwijderd en moet een nieuwe niet-doorprikbare dop op de monsterbuisen worden geplaatst. Als monsters moeten worden vervoerd voor tests op een andere locatie, dan moeten de aanbevolen temperaturen worden gehandhaafd. Voordat de dop van buisjes met eerder geteste en opnieuw afgesloten specimen wordt verwijderd, kunnen specimenbuisjes 5 minuten worden gecentrifugeerd bij 420 RCF om alle vloeistof naar de bodem van het buisje te brengen. Vermijd opspatten en kruisbesmetting.

Vervoer van specimen

Handhaaf de opslagomstandigheden voor specimen zoals beschreven in de *Sectie Afname en opslag van specimen* op pagina 8.

Opmerking: Specimen moeten worden verzonden in overeenstemming met de geldende nationale, internationale en regionale transportvoorschriften.

Panther-systeem

Hieronder vindt u de reagentia voor de Aptima SARS-CoV-2 Assay voor het Panther-systeem. Naast de naam van het reagens staan tevens de identificatiesymbolen vermeld.

Geleverde reagentia en materialen

Aptima SARS-CoV-2-assaykit PRD-07881

100 tests (2 dozen)

Aptima SARS-CoV-2 koelbox (box 1 van 2)
(bewaren bij 2 °C tot 8 °C na ontvangst)

Symbol	Onderdeel	Hoeveelheid 100 testkit
A	Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reagent <i>Niet-infectieuze nucleïnezuren gedroogd in gebufferde oplossing die < 5% vulstof.</i>	1 flacon
E	Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reagent <i>Reverse transcriptase en RNA-polymerase gedroogd in HEPES-gebufferde oplossing met < 10% bulkingreagens.</i>	1 flacon
P	Aptima SARS-CoV-2 Probe Reagent <i>Niet-infectieuze chemiluminescentie-DNA-sondes gedroogd in een succinaat-gebufferde oplossing met < 5% detergent.</i>	1 flacon
IC	Aptima SARS-CoV-2 Internal Control	1 flacon

Aptima SARS-CoV-2 kamertemperatuurbox (box 2 van 2)
(bewaren bij 15 °C tot 30 °C na ontvangst)

Symbol	Onderdeel	Hoeveelheid 100 testkit
AR	Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reconstitution Solution <i>Waterige oplossing die conserveermiddelen bevat.</i>	1 x 12,2 mL
ER	Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reconstitution Solution <i>HEPES-gebufferde oplossing met een oppervlakreactieve stof en glycerol.</i>	1 x 6,6 mL
PR	Aptima SARS-CoV-2 Probe Reconstitution Solution <i>Succinaat-gebufferde oplossing met < 5% detergent.</i>	1 x 15,7 mL
S	Aptima SARS-CoV-2 Selection Reagent <i>600 mM boraat-gebufferde oplossing met oppervlakreactieve stof.</i>	1 x 45,0 mL
TCR	Aptima SARS-CoV-2 Target Capture Reagent <i>Gebufferde zoutoplossing met vaste fase en capture-oligomeren.</i>	1 x 27,0 mL
	Reconstitutie-adapters	3
	Streepjescodeblad hoofdpertij	1 blad

Benodigde en apart verkrijgbare materialen

Opmerking: Tenzij anders aangegeven, worden bij de materialen die bij Hologic verkrijgbaar zijn, catalogusnummers vermeld.

	<u>Cat. Nr.</u>
Panther-systeem	303095
Upgrade Panther Fusion-module	PRD-04173
Panther Fusion-systeem	PRD-04172
Panther System met continue vloeistof en afval (Panther Plus)	PRD-06067
Pakket Aptima-assayvloeistoffen (Aptima-wasoplossing, Aptima-buffer voor deactiveringsvloeistof en Aptima-oliereagens)	303014 (1.000 testen)
Aptima auto detect kit	303013 (1.000 testen)
Multi-tube units (MTU's, uit meerdere buisjes bestaande eenheden)	104772-02
Panther-afvalzakpakket	902731
Panther-afvalbakdeksel	504405
Of Panther-runkit bevat MTU's, afvalzakken, afvalbakdeksels, testvloeistoffen en automatische detectie	303096 (5000 testen)
Tips, 1000 µL gefilterd, geleidend, vloeistofdetectie en voor eenmalig gebruik Niet alle producten zijn in alle regio's verkrijgbaar. Neem contact op met uw vertegenwoordiger voor regio-specifieke informatie	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04128 MME-04134 (30180117 Tecan)
Aptima SARS-CoV-2 controlekit PC - Aptima SARS-CoV-2 positieve controle. Niet-infectieus nucleïnezuur in een gebufferde oplossing met <5% detergens. Hoeveelheid 5 x 1,7 mL NC - Aptima SARS-CoV-2 negatieve controle. Een gebufferde oplossing die <5% detergens bevat. Hoeveelheid 5 x 1,7 mL	PRD-07882
RespDirect-afnamekit, 50 per doos	PRD-07403
Aptima-unisex kit voor het afnemen van endocervicale uitstrijkjes en urethrale uitstrijkjes bij mannen	301041
Panther Fusion Specimen Lysis Tubes, 100 per zak buis bevat 0,71 mL STM met een doordringbare dop	PRD-04339
Bleekmiddel, 5% tot 8,25% (0,7 M tot 1,16 M) natriumhypochlorietoplossing	–
Wegwerphandschoenen	–
Vervangende niet-doordringbare doppen	504415
Vervangende doppen voor de kits met 100 tests Oplossingen voor het Amplification, Enzyme, en Probe reagent reconstitution TCR en Selection Reagent	– CL0041 (100 capsules) 501604 (100 capsules)

Optionele materialen

	<u>Cat. Nr.</u>
Hologic Bleach Enhancer voor reiniging voor routinematige reiniging van oppervlakken en apparatuur	302101
Schudmachine	–
Vortex voor meerdere buisjes	102160G
Tafelmodel vortex	–

Testprocedure voor het Panther-systeem

Opmerking: Raadpleeg de handleiding van het Panther/Panther Fusion System voor aanvullende procedurele informatie.

A. Voorbereiding van het werkoppervlak

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

B. Reconstitutie/bereiding van een nieuwe kit

Opmerking: Reagentia reconstitutie moeten worden uitgevoerd voordat er met werkzaamheden aan het Panther-systeem wordt begonnen.

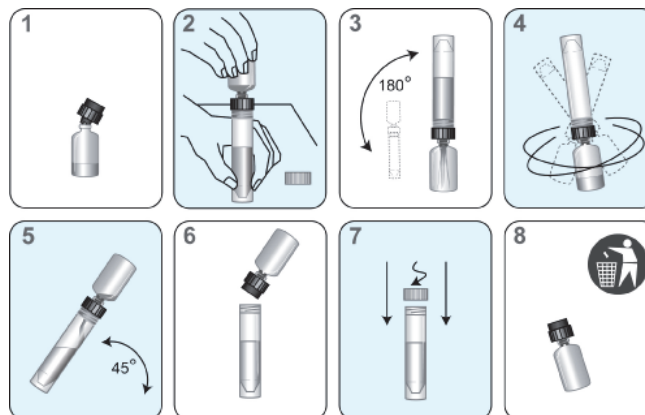
1. Vóór het testen moeten de Amplification Reagent, Enzyme Reagent en Probe Reagent worden gereconstitueerd door de inhoud van de flessen gevriesdroogd reagens te combineren met de juiste reconstitutieoplossing.
 - a. Laat de gevriesdroogde reagentia op kamertemperatuur komen (15 °C tot 30 °C) voordat u ze gebruikt.
 - b. Voeg elke reconstitutieoplossing toe aan het bijbehorende gevriesdroogde reagens. Voordat de reconstitutiekraag wordt aangebracht, moet u zorgen dat de labelkleuren van de reconstitutieoplossing en het gevriesdroogde reagens overeenkomen.
 - c. Controleer de lotnummers op het streepjescodeblad van de hoofdpakket om te garanderen dat de juiste reagentia met elkaar worden gecombineerd. Breng etiketten aan op de doppen van flessen met reconstitutieoplossing.
 - d. Open de gevriesdroogde glazen reagensflacon en steek het ingekeepte einde van de reconstitutiekraag in de glazen flaconopening (Afbeelding 1, Stap 1).
 - e. Open de bijbehorende reconstitutieoplossing en leg de dop op een schoon, afgedekt werkoppervlak.
 - f. Terwijl u de reconstructie-oplossingfles op de bank houdt, steekt u de andere kant van de reconstructiekraag in de flesopening (afbeelding 1, stap 2).
 - g. Keer de gemonteerde flessen langzaam om. Laat de oplossing uit de fles afvloeien in de glazen flacon (afbeelding 1, stap 3).
 - h. Pak de flessen in elkaar en draai ze minimaal 10 seconden rond. Zorg dat u geen schuim creëert tijdens het draaiend schudden van de fles. (Figuur 1, stap 4)

- i. Om ervoor te zorgen dat het gevriesdroogde reagens volledig oplost. Draai de flessen nogmaals minimaal 10 seconden rond en schud de oplossing vervolgens lichtjes heen en weer in het glazen flesje, totdat alles goed gemengd is.
- j. Controleer visueel of het reagens volledig is opgelost, zonder poeder, klontjes of golvende lijnen.
- k. Kantel de flessen langzaam opnieuw, zodat alle oplossing terug in de fles met reconstitutieoplossing kan lopen. (Figuur 1, stap 5).
- l. Verwijder de reconstitutiekraag en de glazen flacon (afbeelding 1, stap 6).
- m. Plaats de dop terug op de plastic fles met de bewaarde dop die overeenkomt met het reagens, of met een nieuwe dop. Zorg ervoor dat de doppen niet op elkaar passen. Noteer de initialen van de gebruiker en de datum van reconstitutie op het label (afbeelding 1, stap 7).
- n. Gooi de reconstitutiekraag en de glazen flacon weg (afbeelding 1, stap 8).
- o. Meng elk reagens grondig door het voorzichtig om te keren voordat u het in het Panther-systeem laadt.

Option: Extra menging van de Amplification Reagent, Enzyme Reagent en Probe Reagent is mogelijk door opnieuw afgesloten plastic flessen op een buisschommel te plaatsen die op een gematigde snelheid is ingesteld en minimaal 5 minuten kantelt. Zorg ervoor dat de reagentia goed gemengd zijn.

Waarschuwing: Zorg ervoor dat er geen schuim ontstaat bij het reconstitueren van de reagentia. Schuim verstoort de niveaudetectie in het Panther-systeem.

Waarschuwing: Om de verwachte testresultaten te behalen, is het noodzakelijk dat de reagentia adequaat worden gemengd.



Figuur 1. Reconstitutieproces van het Panther-systeem

2. Voorbereiding working Target Capture Reagent (wTCR)
 - a. Combineer de juiste flessen met TCR en IC.
 - b. Controleer de reagensslotnummers op het streepjescodeblad van de hoofdpartij om u ervan te verzekeren dat de juiste reagentia met elkaar worden gecombineerd in de kit.
 - c. Open de fles met TCR en leg de dop op een schoon, afgedekt werkoppervlak.
 - d. Open de fles met IC en giet de hele inhoud in de fles met TCR. Er zal een kleine hoeveelheid vloeistof overblijven in de fles met IC.

- e. Plaats de dop op de fles met TCR en draai de oplossing voorzichtig rond om de inhoud te mengen. Vermijd schuimvorming tijdens deze stap.
 - f. Noteer de initialen van de laborant en de actuele datum op het label.
 - g. Gooi de IC-fles en de dop weg.
3. Selection Reagent bereiden
- a. Controleer of het partijnummer op de reagensfles overeenkomt met het partijnummer op het streepjescodeblad van de hoofdpartij.
 - b. Noteer de initialen van de laborant en de actuele datum op het label.

Opmerking: Meng grondig door alle reagentia voorzichtig om te keren voordat u ze in het systeem laadt. Voorkom dat er schuim ontstaat tijdens het omkeren van de reagentia.

C. Bereiding van reagentia voor eerder gereconstitueerde reagentia

1. Eerder gereconstitueerde Amplification Reagent, Enzyme Reagent en Probe Reagent moeten op kamertemperatuur (15 °C tot 30 °C) worden gebracht voorafgaand aan de aanvang van de assay.

Option: De met doppen afgesloten plastic flessen met gereconstitueerde Amplification Reagent, Enzyme Reagent en Probe Reagent kunnen op een buisschudder worden geplaatst die op een gematigde snelheid is ingesteld en minimaal 25 minuten wordt gekanteld om ervoor te zorgen dat de reagentia op kamertemperatuur komen en goed worden gemengd.

2. Als gereconstitueerd Probe Reagent precipitaat bevat dat niet terugkeert naar oplossing op kamertemperatuur, verwarm de fles met dop dan gedurende 1 tot 2 minuten bij een temperatuur die niet hoger is dan 62 °C. Na deze verwarmingsstap kan het Probe Reagent zelfs worden gebruikt als er precipitaat achterblijft. Meng het Probe Reagent door het om te keren zonder dat er schuim wordt gevormd, voordat u het in het systeem plaatst.
3. Meng grondig door alle reagentia voorzichtig om te keren voordat u ze in het systeem plaatst. Voorkom schuimvorming tijdens het omkeren van reagentia. Deze stap is niet vereist als reagentia direct na mengen met de schudmachine op het systeem worden geplaatst.
4. Flessen met reagentia mogen niet helemaal worden gevuld. Het Panther systeem herkent flessen die te vol zijn gemaakt en verworpt deze.
5. *Om de verwachte testresultaten te behalen, is het noodzakelijk dat de reagentia adequaat worden gemengd.*

D. Specimenafhandeling

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

1. Inspecteer monsterbuizen voordat u ze in het monsterrek plaatst. Als een monsterbuis luchtbelletjes bevat of een lager volume dan normaliter waargenomen wordt, tik dan voorzichtig op de onderkant van de buis om de inhoud naar de bodem te laten zinken.

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

Opmerking: *Voor de Enhanced Direct Load Tube (RespDirect-afnamekit) is er voldoende volume om 4 nucleïnezuurextracties uit te voeren.*

E. Voorbereiding van het systeem

1. Stel het systeem in volgens de instructies in de *Handleiding voor de operator van het Panther/Panther Fusion-systeem* En *Procedurele aantekeningen*. Gebruik reagensrekken en TCR-adapters van het juiste formaat.
2. Monsters laden.

Procedurele aantekeningen

A. Controls

1. Om de Aptima assaysoftware voor het Panther systeem goed te gebruiken, is één paar controles vereist. De Aptima SARS-CoV-2 positieve en negatieve controlebuizen kunnen in elke rekpositie en in elke rij van het monstercompartiment op het Panther systeem worden geplaatst. Patiëntspecimens worden gepipetteerd wanneer aan een van de volgende twee voorwaarden is voldaan:
 - a. Enkele controles worden momenteel verwerkt door het systeem.
 - b. Geldige resultaten voor de controles worden in het systeem geregistreerd.
2. Nadat de controlebuisjes zijn gepipetteerd en worden verwerkt voor een specifieke reagenskit, kunnen patiëntspecimens tot 24 uur lang met de bijbehorende kit worden verwerkt tenzij:
 - a. Controls-resultaten zijn niet geldig.
 - b. De bijbehorende assayreagentia-kit is uit het systeem verwijderd.
 - c. De bijbehorende assayreagenskit heeft de stabiliteitsgrenzen overschreden.
3. Elk Aptima-contralebuisje kan slechts één keer worden getest. Als vaker dan één keer wordt geprobeerd uit de monsterbuis te pipetteren, dan kan dit leiden tot verwerkingsfouten.
4. Patiëntspecimens kunnen worden gepipetteerd wanneer aan een van de volgende twee voorwaarden is voldaan:
 - a. Geldige resultaten voor de controles worden in het systeem geregistreerd.
 - b. Op het systeem worden op dit moment een paar controles verwerkt.

B. Temperatuur

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

C. Handschoenpoeder

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

D. Protocol voor het monitoren van laboratoriumverontreiniging voor het Panther-systeem

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

Om te monitoren op besmetting in het laboratorium, kan de volgende procedure worden gevolgd met behulp van de Aptima unisex kit voor het maken van endocervicale uitstrijkjes en voor urethrale uitstrijkjes bij mannen:

1. Label transportbuizen met nummers die overeenkomen met de gebieden die getest moeten worden.
 2. Haal het wattenstaafje voor het afnemen van het monster (blauw wattenstaafje met groene opdruk) uit de verpakking, bevochtig het wattenstaafje met het monstertransportmedium (STM) en neem het aangewezen gebied af met een cirkelvormige beweging.
 3. Plaats het uitstrijkje onmiddellijk in de transportbuis.
 4. Breek het stokje van het wattenstaafje af bij de lijn; wees voorzichtig om te zorgen dat de inhoud niet opspat.
 5. Sluit het buisje voor het transport van het wattenstaafje goed af.
 6. Herhaal stappen 2 naar 5 voor elk gebied dat moet worden afgenomen.
- E. Als de resultaten positief zijn, zie *Interpretatie van resultaten*. Neem contact op met de technische ondersteuning van Hologic voor aanvullende verontreinigingscontrole-informatie die specifiek is voor het Panther systeem.

Kwaliteitscontrole

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

Negatieve en positieve controles

Voor geldige resultaten moet een set assaycontroles worden getest. Elke keer dat een nieuwe kit in het Panther-systeem wordt geladen of wanneer de huidige set geldige controles is verlopen, moet er één replicaat van de negatieve assaycontrole en de positieve assaycontrole worden getest.

Het Panther-systeem is zo geconfigureerd dat testcontroles met een door de beheerder opgegeven interval van maximaal 24 uur moeten worden uitgevoerd. Software op het Panther-systeem waarschuwt de operator wanneer er testcontroles nodig zijn en start geen nieuwe testen totdat de testcontroles zijn geladen en de verwerking is begonnen.

Tijdens de verwerking worden de criteria voor acceptatie van de analysecontroles automatisch geverifieerd door het Panther-systeem. Om geldige resultaten te genereren, moeten de testcontroles een reeks geldigheidscontroles doorstaan die worden uitgevoerd door het Panther-systeem.

Als de controles van de test alle geldigheidscontroles doorstaan, worden ze als geldig beschouwd voor de door de beheerder opgegeven tijdsinterval. Wanneer het tijdsinterval is verstreken, vervallen de testcontroles volgens het Panther-systeem. Er moet dan een nieuwe set testcontroles worden getest voordat er met nieuwe monsters wordt begonnen.

Als een van de assaycontroles de geldigheidscontroles niet doorstaat, verklaart het Panther-systeem de betrokken monsters automatisch ongeldig en moet er een nieuwe set assaycontroles worden getest voordat er met nieuwe monsters wordt begonnen.

Internal Control

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

Het Panther-systeem is ontworpen om processen nauwkeurig te verifiëren wanneer procedures worden uitgevoerd volgens de instructies in deze bijsluiters en de *Handleiding voor de bediening van het Panther/Panther Fusion-systeem*.

Interpretatie van resultaten

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

Het eerste geldige resultaat is het resultaat dat gerapporteerd moet worden. Monsters met ongeldige resultaten moeten opnieuw worden getest. Als het resultaat bij een nieuwe test ongeldig is, moet er een nieuw specimen worden afgenomen.

Tabel 1 toont de mogelijke resultaten die zijn gerapporteerd in een geldige run, inclusief interpretaties van de resultaten.

Tabel 1: Resultaatinterpretatie

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

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

Beperkingen

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

Analytische prestaties

Analytische gevoeligheid

De analytische gevoeligheid (detectielimiet of LoD) van de Aptima SARS-CoV-2 Assay werd bepaald door het testen van verdunningen van verwerkte negatieve klinische NP-swab VTM/UTM-matrix verrijkt met geïnactiveerd gekweekt SARS-CoV-2-virus (USA-WA1/2020; BEI Resources; NR-52281) en de internationale standaard van de WHO voor SARS-CoV-2, NIBSC (20/146). Voor het gekweekte virus werden tien replicaties van elke seriële verdunning geëvalueerd voor elk van twee testreagenspartijen in twee Panther-systemen. De LoD werd vastgesteld op 0,01 TCID₅₀/mL in het testmonster (0,026 TCID₅₀/mL in het onverwerkte monster) en geverifieerd door minimaal 20 extra replicaties te testen met één assay-reagenspartij. Voor de WHO Internationale standaard zijn een minimum van 24 herhalingen getest met elk van de drie reagenspartijen met Probit-analyse voor iedere partij. Dit werd bevestigd met 24 extra herhalingen die gebruik maakten van één partij. De laagste concentratie waarbij ≥95% detectie werd waargenomen, was 87,5 IE/mL (224 IE/mL in het pure, onverwerkte monster). LoD-bevestiging werd ook uitgevoerd met de RespDirect-afnamekit bij 24 replicaties met één reagenspartij en er werd een detectiepercentage van ≥95% waargenomen bij 27,7 IE/mL.

De analytische gevoeligheid van de Aptima SARS-CoV-2 Assay werd bovendien geëvalueerd met behulp van referentiemateriaal van drie commerciële leveranciers. Seriële verdunningen van de nucleïnezuurmateriaal werden gemaakt in STM en 20 of meer replicaties op elk niveau werden getest met behulp van elk van twee assay-reagentiapartijen in twee Panther-systemen. Het laagste verdunningsniveau dat resulteerde in ≥95% detectie voor de referentiematerialen was 83 kopieën/mL (212,5 kopieën/mL in het onverwerkte monster) en staat vermeld in Tabel 2.

Tabel 2: Analytische gevoeligheidsevaluatie van commercieel referentiemateriaal

Leverancier	Naam	Referentie #	Lot #	Analytische gevoeligheid
ZeptoMetrix	SARS-CoV-2 controle externe run	NATSARS(COV2)- ERC	324332	83 kopieën/mL
SeraCare	AccuPlex SARS-Cov-2 Referentiemateriaal	0505-0126	10483977	83 kopieën/mL
Exact Diagnostic	SARS-CoV-2 standaard	COV019	20033001	83 kopieën/mL

FDA SARS-CoV-2 Referentiepaneltest

De evaluatie van de gevoeligheid en MERS-CoV kruisreactiviteit werd uitgevoerd met behulp van referentiemateriaal (T1), geblindeerde monsters en een standaardprotocol van de FDA. Het onderzoek omvatte een bereikbepalingsonderzoek en een bevestigingsonderzoek voor LoD. Om de specificiteit vast te stellen en de LoD te bevestigen, werd gebruikgemaakt van geblindeerde monstertests. Het onderzoek werd uitgevoerd op het volledig geautomatiseerde Panther-systeem. De resultaten zijn samengevat in Tabel 3.

Tabel 3: Samenvatting van de LoD-bevestigingsresultaten met behulp van het FDA SARS-CoV-2-referentiepanel

Referentiematerialen verstrekkt door de FDA	Type specimen	Product LoD	Kruisreactiviteit
SARS-CoV-2	NP-uitstrijkjes in VTM/UTM	600 NDU/mL	N.v.t.
MERS-CoV		N.v.t.	ND

NDU/mL = RNA NAAT detecteerbare eenheden/mL.

N.v.t. = Niet van toepassing

ND = Niet gedetecteerd.

Reactiviteit – Natte testen

De reactiviteit van de Aptima SARS-CoV-2 Assay werd bepaald door het testen van virusstammen in een verwerkte negatieve klinische NP-swab VTM/UTM-matrix. Elke stam werd driemaal getest bij 3X LoD met één reagenspartij. Voor stammen die niet werden gedetecteerd bij 3X LoD, werden aanvullende testen uitgevoerd bij hogere concentraties totdat 100% positief werd waargenomen. Tabel 4 toont de laagste concentratie van elke stam waarbij 100% positiefheid werd waargenomen.

Tabel 4: Analytische reactiviteitssamenvatting voor SARS-CoV-2

Beschrijving	Concentratie
VS-WA1/2020*	0,03 TCID ₅₀ /mL
VS-CA1/2020	0,03 TCID ₅₀ /mL
VS-AZ1/2020	0,10 ¹ TCID ₅₀ /mL
VS-WI1/2020	0,03 TCID ₅₀ /mL
VS/OR-OHSU-PHL00037/2021 B.1.1.7	0,03 TCID ₅₀ /mL
Oeganda/MUWRP-20200195568/2020 A.23.1	0,03 TCID ₅₀ /mL
VS/PHC658/2021 B.1.617.2	0,03 TCID ₅₀ /mL
VS/MD-HP05285/2021 B.1.617.2	0,03 TCID ₅₀ /mL
VS/CA/VRLC009/2021 B.1.427	0,03 TCID ₅₀ /mL
VS/CA/VRLC012/2021 P.2	0,03 TCID ₅₀ /mL
VS/MD-HP03056/2021 B.1.525	0,03 TCID ₅₀ /mL
VS/CA-Stanford-15_S02/2021 B.1.617.1	0,03 TCID ₅₀ /mL
Peru/un-CDC-2-4069945/2021 C.37	0,03 TCID ₅₀ /mL
VS/MD-HP20874/2021 B.1.1.529	0,03 TCID ₅₀ /mL
VS/GA-EHC-2811C/2021 B.1.1.529	0,03 TCID ₅₀ /mL

Tabel 4: Analytische reactiviteitssamenvatting voor SARS-CoV-2 (vervolg)

Beschrijving	Concentratie
VS/MD-HP30386/2022 BA.4	0,03 TCID ₅₀ /mL
VS/COR-22-063113/2022 BA.5	0,03 TCID ₅₀ /mL
Zuid-Afrika/CERI-KRISP-K040013/2022 BA.5	0,03 TCID ₅₀ /mL
VS/MD-HP38861/2022 BQ.1.1	0,03 TCID ₅₀ /mL
VS/MD-HP40900/2022 XBB.1.5	0,10 ¹ TCID ₅₀ /mL
VS/MD-HP47865/2023 XBB.2.3	0,03 TCID ₅₀ /mL
VS/MD-HP46933/2023 EG.1.2	0,03 TCID ₅₀ /mL
VS/MD-HP47946/2023 EG.5.1	0,03 TCID ₅₀ /mL
VS/CA-Stanford-139_S35/2023 XBB.1.9	0,10 ¹ TCID ₅₀ /mL
VS/CA-Stanford-139_S23/2023 XBB.1.16	0,10 ¹ TCID ₅₀ /mL
VS/MI-UM-10052670540/2023 BA.2.86	0,10 ² TCID ₅₀ /mL
VS/New York-PV96109/2023 JN.1	0,15 ¹ TCID ₅₀ /mL
VS/MD-HP49152/2023 HV.1	0,015 TCID ₅₀ /mL

*Stam gebruikt om LoD vast te stellen.

¹ In-silico-analyse toonde 100% homologie met amplificatieregio's. De afbraak van de virusvoorraad of fouten bij de kwantificering van TCID₅₀/mL kunnen van invloed zijn geweest op de concentratie bij 100% detectie.

² In silico-analyse identificeerde één enkele mismatch in de probe-oligo voor één regio. Vanwege de locatie van de mismatch en de 100% homologie met de tweede regio, wordt verwacht dat dit geen invloed heeft op de detectie. De afbraak van de virusvoorraad of fouten bij de kwantificering van TCID₅₀/mL kunnen van invloed zijn geweest op de concentratie bij 100% detectie.

Reactiviteit-in silico-analyse

De inclusiviteit van de Aptima SARS-CoV-2 Assay werd geëvalueerd met behulp van in silico-analyse van de oligo's voor het vastleggen van doelwitten van de assay, amplificatieprimers en detectieprobes voor de SARS-CoV-2-doelsystemen in relatie tot sequenties die beschikbaar zijn in de gendatabases van NCBI en GISAID. Elke sequentie met ontbrekende of dubbelzinnige sequentie-informatie werd uit de analyse voor die regio verwijderd. Gebaseerd op de in silico-analyse van GISAID- en NCBI-sequenties die beschikbaar zijn voor SARS-CoV-2 (10% willekeurige bemonstering van 16.553.661 miljoen sequenties tot en met 31 juli 2023 en alle 508.436 sequenties van 1 augustus 2023 tot en met 31 januari 2024), de Aptima SARS-CoV-2 Assay zal naar verwachting 99,98% (2.136.815/2.137.175 sequenties) van alle geëvalueerde sequenties detecteren.

De geëvalueerde sequenties omvatten lijnen en varianten van zorg (VOC) of varianten die in onderzoek zijn (VUI) die vanuit het perspectief van de volksgezondheid belangrijke epidemiologische, immunologische of pathogene eigenschappen kunnen hebben. Naar verwachting zullen alle voor de volksgezondheid interessante afstammingslijnen en varianten die tot en met 31 januari 2024 zijn geïdentificeerd, worden gedetecteerd. Nieuwe sequenties en varianten worden voortdurend gemonitord op de impact op de detectie door de Aptima SARS-CoV-2 Assay.

Analytische specificiteit en microbiële interferentie

De analytische specificiteit (kruisreactiviteit) en microbiële interferentie met de Aptima SARS-CoV-2 Assay werden geëvalueerd in de aanwezigheid van nauw verwante en niet-doelorganismen. Panelen bestaande uit 48 organismen (Tabel 5) werden getest in verwerkte negatieve klinische NP-uitstrijkje VTM/UTM-matrix in de afwezigheid of aanwezigheid van 3X LoD SARS-CoV-2.

Bacteriën werden getest bij 10^6 CFU/mL en virussen werden getest bij 10^5 TCID₅₀ /mL, tenzij anders aangegeven. Er werd geen kruisreactiviteit of microbiële interferentie waargenomen bij de 48 organismen die werden getest in de Aptima SARS-CoV-2 Assay bij de aangegeven concentraties. In silico-kruisreactiviteitsanalyse van 112 geëvalueerde GenBank-sequenties voorspelde dat er geen microbiële interferentie zou optreden door kruisreactiviteit.

Tabel 5: Analytische specificiteit van Aptima SARS-CoV-2 en microbiële interferentiemicro-organismen

Micro-organisme	Concentratie ¹	Micro-organisme	Concentratie ¹
Adenovirus 1	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Aspergillus fumigatus</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
Adenovirus 7a	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Bordetella parapertussis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
CMV-stam AD 169	5x10 ³ TCID ₅₀ /mL	<i>Bordetella pertussis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
EBV	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
Enterovirus type 71	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
Humaan coronavirus 229E	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
Humaan coronavirus OC43	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
Menselijk coronavirus HKU1 ²	1x10 ⁶ kopieën/mL	<i>Fusobacterium necrophorum</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
Humaan coronavirus NL63	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	<i>Haemophilus influenzae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
Humaan metapneumovirus (hMPV)	1x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
Influenza A	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Legionella pneumophila</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
Influenza B	2x10 ³ TCID ₅₀ /mL	<i>Moraxella catarrhalis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
Mazelen	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
MERS-coronavirus	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
Bof	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
Parainfluenza virus 1	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
Parainfluenzavirus 2	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
Parainfluenzavirus 3	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Neisseria-slijmvlies</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
Parainfluenzavirus 4	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	<i>Pneumocystis jirovecii (PJP)</i>	1x10 ⁶ kernen/mL
Respiratoir syncytieel virus	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
Rhinovirus	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
SARS-coronavirus ²	1x10 ⁶ kopieën/mL	<i>Staphylococcus epidermis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
Varicella-zostervirus	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
Gepoolde menselijke neusspoeling ³ - om de diverse microbiële flora in de menselijke luchtwegen weer te geven	N.v.t.	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁶ CFU/mL
		<i>Streptococcus salivaris</i>	1x10 ⁶ CFU/mL

¹ CFU = kolonievormende eenheden; TCID₅₀ = mediane infectieuze dosis voor weefselkweek

² Gekweekt virus en gezuiverd nucleïnezuur uit het hele genoom voor het humane coronavirus HKU1 en SARS-coronavirus zijn niet zomaar verkrijgbaar. IVT's van HKU1 en SARS-coronavirus overeenkomstig de gebieden van het ORF1ab-gen die de assay als target heeft werden gebruikt om de kruisreactiviteit en microbiële interferentie te evalueren.

³ In plaats van het evalueren van gepoolde menselijke neusspoelingen, werden 30 individuele negatieve klinische NP-uitstrijkjes om de diverse microbiële flora in de menselijke luchtwegen in kaart te brengen.

Interferentie

Interfererende endogene en exogene stoffen (mucine, volbloed, potentiële medicijnen en vrij verkrijgbare producten) die mogelijk in de monsters aanwezig zijn, werden geëvalueerd in de Aptima SARS-CoV-2 Assay. Klinisch relevante concentraties van mogelijk interfererende stoffen werden toegevoegd aan de gepoolde klinisch negatieve NP-swab VTM/UTM-matrix en getest in afwezigheid en aanwezigheid van geïnactiveerd SARS-CoV-2-virus bij 3X LoD. De stoffen en concentraties worden weergegeven in Tabel 6.

Er werd geen effect op de prestaties van de Aptima SARS-CoV-2 Assay waargenomen voor de stoffen in de geteste concentratie.

Tabel 6: Potentieel interfererende stoffen

Soort stof	Naam van de stof	Actief ingrediënt(en)	Hoogste testconcentratie*
Endogeen	Mucine	Gezuiverd mucine-eiwit	60 µg/mL
	Bloed (humaan)	N.v.t.	2% v/v
Neussprays of -druppels	Neo-Synephrine®	Fenylefrine	15% v/v
	Anefrin	Oxymetazoline	15% v/v
	Zoutoplossing	Natriumchloride	15% v/v
	Ventolin HFA ²	Albuterol	45 ng/mL
Nasale corticosteroiden	QVAR® Beconase AQ ²	Beclomethason	15 ng/mL
	Dexacort ²	Dexamethason	12 µg/mL
	Flonase	Fluticason	5% v/v
	Nasacort	Triamcinolon	5% v/v
	Rhinocort	Budesonide	5% v/v
	Nasonex ²	Mometason	0,5 ng/mL
	AEROSPAN® ²	Flunisolide	9,9 µg/mL
Neusgel	Zicam® (Allergieverlichting)	Luffa operculata, galphimia, glauca, histaminum hydrochloricum, zwavel	5% v/v
Zuigtabletten voor de keel	Cepacol Extra Strength	Benzocaïne, menthol	0,7 mg/mL
	Keelpastilles tegen verkoudheid	Zinkgluconaat	0,7 mg/mL
Antivirale geneesmiddelen	Relenza® ²	Zanamivir	3,3 mg/mL
	TamiFlu ²	Oseltamivir	399 ng/mL
	Virazole ²	Ribavirine	10,5 µg/mL
Antibiotica, neuszalf	Bactroban crème ²	Mupirocine	1,6 µg/mL
Antibacterieel,	Tobramycine ²	Tobramycine	33,1 µg/mL
Oplosmiddelcontrole	Water	N.v.t.	5% v/v
	Dimethylsulfoxide (DMSO)	N.v.t.	5% v/v

* v/v: volume voor volume

² Actief ingrediënt getest, geen stof

Overdrachtsverontreiniging

De overdrachtsbesmettingsgraad van de Aptima SARS-CoV-2 Assay werd beoordeeld door het testen van panelen met een hoge titer bestaande uit SARS-CoV-2-virus in een negatieve klinische NP-swab VTM/UTM-matrix, verrijkt met 100 TCID₅₀/mL (10.000 maal de assay-LoD). Positieve panelen werden getest in een dambordpatroon, afgewisseld met negatieve panelen. Er werden 588 negatieve en positieve, geldige tests uitgevoerd in drie Panther-systemen. De Aptima SARS-CoV-2 Assay observeerde een overdrachtspercentage van 0% (0/294).

Precisie van de test

De binnen-laboratoriumprecisie van de Aptima SARS-CoV-2 Assay werd geëvalueerd met een panel van 4 leden bestaande uit virus in een negatieve klinische NP-swab VTM/UTM-matrix. Het panel met vier leden bestond uit een negatief, een hoog negatief (0,1x LoD), een laag positief (1x LoD) en een matig positief (5x LoD) panel. De panelen werden getest door twee operators, die drie reagensbatches op drie Panther Systems gebruikten, gedurende zes dagen. Er werden twee runs per operator per dag uitgevoerd, wat een totaal van 36 runs opleverde. Elk van de vier panelen werd getest in drie replicaties per run, voor een totaal van 108 replicaties per paneel.

De overeenstemming met de verwachte resultaten was 100% bij de panelleden Negatief, Laag Positief en Matig Positief. Het High Negative panellid lag 10x onder de LoD van de assay, waardoor een mix van positieve en negatieve resultaten werd verwacht. Dit panel had 68/108 (63%) positieve resultaten. De overeenstemming met de verwachte resultaten voor alle vier de panelen wordt getoond in Tabel 7.

Tabel 7: Overeenkomst tussen de resultaten van de Aptima SARS-CoV-2 Assay en de verwachte resultaten

Paneelbe-schrijving	Paneelsamen-stelling	Paneel conc. TCID ₅₀ /mL	Verwacht resultaat	N Positief	N Getest	Gemid-delde kRLU	Overeenkomst met verwacht (95% BI)
Negatief	N.v.t.	N.v.t.	Negatief	0	108	289	100% (96,6-100)
Hoog negatief	0,1xLoD	0,001	N.v.t.	68	108	627	N.v.t.
Laagpositief	1,0xLoD	0,01	Positief	108	108	1131	100% (96,6-100)
Gemiddeld positief	5,0xLoD	0,05	Positief	108	108	1147	100% (96,6-100)

De totale SARS-CoV-2-signaalvariabiliteit, gemeten als %CV, varieerde van 2,75% tot 3,84% bij de panelleden die negatief, laag positief en matig positief waren. Voor de bronnen van variatie hadden alle zes geëvalueerde factoren %CV-waarden <3,0%, zoals weergegeven in Tabel 8. Het High Negative panellid ligt 10x onder de assay LoD en de %CV voor dit panel zal naar verwachting hoger zijn dan de andere. De grootste bron van variabiliteit voor dit panel was de variabiliteit binnen de reeks.

Tabel 8: kRLU-signaalvariabiliteit van de Aptima SARS-CoV-2 Assay door panellid

Paneel	Tussen dagen		Tussen instrumenten		Tussen operatoren		Tussen partijen		Tussen runs		Binnen runs		Totaal	
	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Negatief	0,91	0,31	4,97	1,72	0,0	0,0	4,04	1,40	0,0	0,0	6,75	2,33	9,35	3,23
Hoog negatief*	30,45	4,85	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	244,08	38,91	245,97	39,21
Laagpositief	6,46	0,57	6,74	0,60	0,0	0,0	28,10	2,48	0,0	0,0	31,77	2,81	43,43	3,84
Gemiddeld positief	8,53	0,74	5,59	0,49	0,0	0,0	22,98	2,00	11,06	0,96	15,59	1,36	31,59	2,75

*Het paneel is gebouwd tot 10x onder de assay-LoD. Er wordt een hogere variabiliteit verwacht in dit paneel.

Opmerking: Indien de variatie van bepaalde factoren numeriek negatief is, worden SD en CV weergegeven als 0,0.

Equivalentie van afnamehulpmiddel

De equivalentie tussen NP-specimens afgenomen in VTM/UTM en NP- en neusuitstrijkjes afgenomen in RespDirect (eSTM) werd geëvalueerd door het testen van individuele negatieve specimens en geconstrueerde panelen die waren voorbereid uit gepaarde klinische monsters afgenomen van patiënten met symptomen van een luchtweginfectie of die een SARS-CoV-2-screening hadden ondergaan. Geconstrueerde panelen werden bereid door individuele donorpaar-NP-specimens en neusuitstrijkjes voor alleen RespDirect te verrijken met SARS-CoV-2 tot 2X en 5X LoD.

De resultaten van de negatieve en kunstmatige panelen lieten een vergelijkbare gevoeligheid en specificiteit zien tussen de twee afnamehulpmiddelen (Tabel 9).

Tabel 9: Resultaten van negatieve en geconstrueerde panelen amengesteld uit gepaarde individuele donor klinische specimens (NP voor VTM/UTM en NP/neusuitstrijkje voor RespDirect), afgenomen met elk afnamehulpmiddel verrijkt met SARS-CoV-2

Analyt	Monsterconcentratie	N per afnamehulpmiddel	VTM/UTM-NP % Positief	RespDirect-NP % Positief	RespDirect-neusuitstrijkje % Positief
Geen (Negatief monster)	0	150	0	0	0
SARS-CoV-2	2X LoD	50	100	100	100
	5X LoD	50	100	100	100

Reproduceerbaarheid

De reproduceerbaarheid van de Aptima SARS-CoV-2 Assay werd op drie locaties in de VS geëvalueerd met één negatief en twee positief panellid. De testen werden uitgevoerd met behulp van een partij testreagentia en zes gebruikers (twee op elke locatie). Bij elke locatie werden testen uitgevoerd gedurende ten minste vijf dagen. Elke run werd bij elk panellid drie keer herhaald.

Er werd een negatief panellid gecreëerd met behulp van gepoolde negatieve klinische NP-uitstrijkjes in VTM/UTM, verwerkt tot STM (d.w.z. negatieve matrix). Positieve panelleden werden gecreëerd door 1-2X LoD (laag positief) of 3-5X LoD (matig positief) concentraties van geïnactiveerd SARS-CoV-2-virus in de negatieve matrix te injecteren.

De overeenkomst met de verwachte resultaten was 100% voor alle panelleden. De totale SARS-CoV-2-signaalvariabiliteit, gemeten als %CV, was $\leq 7,93\%$ (SD kleiner dan of gelijk aan 91,35) voor alle positieve panelleden (Tabel 10).

Tabel 10: kRLU-sigitaalvariabiliteit van de Aptima SARS-CoV-2 Assay door panellid

Paneelbeschrijving	N	Gemiddelde kRLU	Tussen locaties		Tussen Operators/Runs ¹		Tussen dagen		Binnen runs		Totaal	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Negatief	90	286,0	27,04	9,45	25,42	8,89	0,45	0,16	6,55	2,29	37,69	13,18
SARS-CoV-2 Lage Pos	90	1152,2	67,79	5,88	15,16	1,32	25,06	2,18	53,77	4,67	91,35	7,93
SARS-CoV-2 Mod Pos	90	1163,7	77,30	6,64	36,60	3,15	4,10	0,35	26,67	2,29	89,68	7,71

CV = variatiecoëfficiënt, Mod = matig, Pos = positief, kRLU = relatieve lichteheid $\times 1000$, SD = standaarddeviatie.

¹ Between Operator kan worden verward met Between Run; daarom worden Between Operator- en Between Run-schattingen gecombineerd in Between Operator/Run.

Klinische prestaties

Er zijn twee klinische onderzoeken uitgevoerd. De klinische prestaties van de Aptima SARS-CoV-2 Assay werden geschat in prospectief afgenomen NP-specimens in klinische studie 1 en in prospectief afgenomen neusuitstrijkjes in klinische studie 2.

Klinische studie 1: Prospectieve klinische studie - Nasofaryngeale uitstrijkjes

Deze studie werd uitgevoerd om de klinische prestatiekenmerken van de Aptima SARS-CoV-2 Assay in NP-uitstrijkjes aan te tonen. Er werd een prospectief multicenteronderzoek uitgevoerd met behulp van resterende NP-uitstrijkjes van mannelijke en vrouwelijke personen van alle leeftijden die tekenen en/of symptomen vertoonden van een luchtweginfectie die past bij COVID-19, het influenzavirus of RSV. Vier deelnemende Amerikaanse kinder- en jeugdziekenhuizen, particuliere ziekenhuizen en/of universitaire ziekenhuizen hebben prospectief restanten van NP-uitstrijkjes verstrekt, opgeslagen in viraal transportmedium (VTM). Deze monsters werden op drie locaties in de VS getest met de Aptima SARS-CoV-2 Assay.

De Aptima SARS-CoV-2 Assay werd geëvalueerd op SARS-CoV-2-prestaties door de resultaten van NP-uitstrijkjes in UTM/VTM te vergelijken met een samengesteld vergelijkingsalgoritme (CCA) bestaande uit twee uiterst gevoelige Amerikaanse FDA EUA SARS-CoV-2 moleculaire tests en een gevalideerde PCR gevolgd door bidirectionele sequentiebepaling (PCR/BDS)-test. Een definitief CCA-resultaat werd toegekend wanneer twee van de drie resultaten van de vergelijkingstests overeenstemden.

Van de 1646 specimens die tijdens het onderzoek werden opgenomen, werden er 300 afgenomen tussen juni 2020 en juli 2020, terwijl de resterende 1346 werden afgenomen tussen januari 2023 en april 2023. In totaal werden 1646 NP-uitstrijkjes getest in geldige Aptima SARS-CoV-2 Assay-runs, waaronder 9 (0,5%) met aanvankelijk ongeldige resultaten. Bij hertesten leverden alle 1646 monsters geldige eindresultaten op. De uiteindelijke dataset bestond uit 1495 evalueerbare NP-uitstrijkjes, waarvan 1195 (79,9%) vers getest waren en 300 (20,1%) na invriezen. 149 NP-uitstrijkjes werden uitgesloten van analyse vanwege onjuiste behandeling op de locaties.

Demografische informatie voor de 1495 evalueerbare personen is beschikbaar in Tabel 11.

Tabel 11: Samenvatting van de demografische gegevens van proefpersonen voor evalueerbare, prospectief afgenomen NP-uitstrijkjes

Totaal		1495
Sekse	Vrouwelijk	842 (56,3%)
	Mannelijk	651 (43,5%)
	Onbekend	2 (0,1%)
Leeftijd (jaren)	Gemiddeld	33,3
	Mediaan	29,0
	Bereik	0 – 98
	<5	270 (18,1%)
	5-21	373 (24,9%)
	22-59	499 (33,4%)
	≥60	353 (23,6%)

De prestaties van de Aptima SARS-CoV-2 Assay met prospectieve NP-uitstrijkjes worden samengevat in Tabel 12. Positieve procentuele overeenkomst (PPA) werd berekend als $100\% \times (TP / (TP + FN))$. Echt positief (TP) geeft aan dat zowel de Aptima SARS-CoV-2 Assay als de CCA een positief resultaat voor SARS-CoV-2 opleverden. Vals negatief (FN) geeft aan dat het resultaat van de Aptima SARS-CoV-2 Assay negatief was, terwijl de CCA positief was. Negatieve procentuele overeenkomst (NPA) werd berekend als $100\% \times (TN / (TN + FP))$. Echt negatief (TN) geeft aan dat zowel de Aptima SARS-CoV-2 Assay als de CCA negatieve resultaten hadden, en vals positief (FP) geeft aan dat het resultaat van de Aptima SARS-CoV-2 Assay positief was, terwijl de CCA negatief was. NP-specimens die afwijkende resultaten opleverden, ondergingen aanvullende tests met een moleculaire SARS-CoV-2-test van de Amerikaanse FDA EUA, mits het volume dit toeliet.

Tabel 12: Prestaties van de Aptima SARS-CoV-2 Assay met NP-uitstrijkjes

NP-uitstrijkje specimentype	Positieve procentuele overeenkomst			Negatieve procentuele overeenkomst		
	TP/ (TP+FN)	%	95% CI ¹	TN/ (FP+TN)	%	95% CI ¹
Vers ²	80/82	97,6	91,5-99,3	1107/1113	99,5	98,8-99,8
Bevroren ²	44/48	91,7	80,4-96,7	251/252	99,6	97,8-99,9
Totaal	124/130 ³	95,4	90,3-97,9	1358/1365 ⁴	99,5	98,9-99,8

CI = betrouwbaarheidsinterval, FN = vals negatief, FP = vals positief, TN = waar negatief, TP = waar positief.

¹ CI-score.

² Alle verse monsters werden in 2023 afgenomen. Alle bevroren monsters werden in 2020 afgenomen.

³ Eén (1) specimen met een vals-negatief resultaat testte negatief voor SARS-CoV-2 met een moleculaire SARS-CoV-2-test van de Amerikaanse FDA EUA, terwijl 4 specimens positief testten en 1 specimen een niet-doorslaggevend resultaat had met dezelfde test. Alle 6 monsters hadden hoge Ct-waarden uit de vergelijkingstests (Ct \geq 30,3) en de discordante resolutietest (Ct \geq 30,29), wat duidt op een lage SARS-CoV-2-virale lading.

⁴ Eén (1) specimen met een vals-positief resultaat testte positief voor SARS-CoV-2 met een Amerikaanse FDA EUA SARS-CoV-2 moleculaire test, terwijl 5 specimens negatief testten en 1 specimen geen resultaat had met dezelfde test.

Klinische studie 2: Prospectieve klinische studie - Neusuitstrijkjes

Deze studie werd uitgevoerd om de klinische prestatiekenmerken van de Aptima SARS-CoV-2 Assay in neusuitstrijkjes aan te tonen. De klinische prestaties van de Aptima SARS-CoV-2 Assay werden geëvalueerd met behulp van neusuitstrijkjes die werden afgenomen in een prospectief onderzoek in meerdere centra. Mannelijke en vrouwelijke personen van alle leeftijden die tekenen en/of symptomen vertoonden van een luchtweginfectie die paste bij COVID-19, het influenzavirus of RSV, werden tijdens het ademhalingsseizoen 2022-2023 ingeschreven op negen geografisch en etnisch diverse locaties in de VS. Er werden prospectief twee neusuitstrijkjes van elk individu afgenomen (in een klinische setting): één specimen werd door een zorgprofessional (HCP) afgenomen met een synthetisch gevlokt wattenstaafje en bewaard in UTM/VTM; één specimen werd door de patiënt of de zorgprofessional afgenomen met een synthetisch gevlokt wattenstaafje en bewaard in UTM/VTM of met het RespDirect gevlokte wattenstaafje en bewaard in een Direct Capture Tube met eSTM (RespDirect-afnamekit).

De Aptima SARS-CoV-2 Assay werd geëvalueerd op SARS-CoV-2-prestaties door de resultaten van neusuitstrijkjes in UTM/VTM of in eSTM te vergelijken met een samengesteld vergelijkingsalgoritme (CCA) bestaande uit twee uiterst gevoelige Amerikaanse FDA EUA SARS-CoV-2 moleculaire tests en een gevalideerde PCR/BDS-assay. Een definitief CCA-resultaat werd toegekend wanneer twee van de drie resultaten van de vergelijkingstests overeenstemden.

Van de 2301 ingeschreven proefpersonen voldeden er zes niet aan de toelatingscriteria en werden zij teruggetrokken. In totaal werden 2241 monsters in UTM/VTM en eSTM van 2295 niet-teruggetrokken proefpersonen getest in geldige Aptima SARS-CoV-2 Assay-runs, waaronder 23 (1,0%) met aanvankelijk ongeldige resultaten. Bij een hertest leverden 13 monsters geldige resultaten op en 10 monsters leverden uiteindelijk ongeldige resultaten op. In totaal waren er 2231 (99,6%) monsters met uiteindelijk geldige resultaten. Nog eens 118 proefpersonen konden niet worden beoordeeld vanwege het terugtrekken van monsters, ontbrekende/ongeldige Aptima-resultaten of een onbekend CCA-resultaat. Hierdoor bleven 2177 personen over die wel konden worden beoordeeld voor de prestatieanalyses, waaronder 1159 met evalueerbare neusuitstrijkjes in UTM/VTM en 1018 met evalueerbare neusuitstrijkjes in eSTM.

Demografische informatie voor de 2177 evalueerbare personen is beschikbaar in Tabel 13.

Tabel 13: Samenvatting van de demografische gegevens van proefpersonen voor prospectief afgenomen neusuitstrijkjes

Totaal		2177
Sekse	Vrouwelijk	1287 (59,1%)
	Mannelijk	890 (40,9%)
Leeftijd (jaren)	Gemiddeld	40,7
	Mediaan	40,0
	Bereik	0 – 90
COVID-19-vaccinatiestatus	Volledig gevaccineerd	1451 (66,7%)
	Gedeeltelijk gevaccineerd	106 (4,9%)
	Ongevaccineerd	601 (27,6%)
	Onbekend	19 (0,9%)
Aantal dagen sinds het begin van de symptomen	Gemiddeld	4,6
	Mediaan	3,0
	Bereik	0 – 60

De prestaties van de Aptima SARS-CoV-2 Assay met prospectieve neusuitstrijkjes worden samengevat in Tabel 14. De procentuele overeenkomst tussen PPA en NPA werd berekend zoals beschreven voor klinische studie 1.

Tabel 14: Prestaties van de Aptima SARS-CoV-2 Assay met neusuitstrijkjes

Type neusuitstrijkje type	Positieve procentuele overeenkomst			Negatieve procentuele overeenkomst		
	TP/ (TP+FN)	%	95% CI ¹	TN/ (FP+TN)	%	95% CI ¹
UTM/VTM	138/143	96,5	92,1-98,5	992/1016	97,6	96,5-98,4
RespDirect eSTM	108/108	100	96,6-100	892/910	98,0	96,9-98,7
Totaal	246/251	98,0	95,4-99,1	1884/1926	97,8	97,1-98,4

CI = betrouwbaarheidsinterval, eSTM = verbeterd specimentransportmedium, FN = vals-negatief, FP = vals-positief, TN = echt-negatief, TP = echt-positief, UTM/VTM = universeel/viraal transportmedium.

¹ CI-score.

Bibliografie

1. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/ocs/2020/outbreak-of-2019-novel-coronavirus-2019-ncov-in-wuhan-china.html>. Geraadpleegd op 24 februari 2025.
2. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/covid/signs-symptoms/index.html>. Geraadpleegd op 24 februari 2025.
3. Cucinotta D. and Vanelli M. WHO Declares COVID-19 a Pandemic. *Acta Biomed.* 2020 Mar 19;91(1):157-160. doi: 10.23750/abm.v91i1.9397.
4. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19). <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases>. Geraadpleegd op 24 februari 2025.
5. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19). <https://data.who.int/dashboards/covid19/deaths?n=o>. Geraadpleegd op 24 februari 2025.
6. **Clinical & Laboratory Standards Institute.** Document M29 Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. CLSI-website https://www.cdc.gov/niosh/healthcare/respiratory-protection/?CDC_AAref_Val=https://www.cdc.gov/niosh/npptl/hospresptoolkit/hazardeval.html. Geraadpleegd op 24 februari 2025.

Contactgegevens en revisiegeschiedenis



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australian Sponsor
Hologic (Australia & New
Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Voor landspecifieke e-mailadressen en telefoonnummers van de technische ondersteuning en klantenservice, gaat u naar www.hologic.com/support.

Ernstige incidenten die zich in verband met het hulpmiddel in de Europese Unie voordoen, moeten worden gemeld aan de fabrikant en de bevoegde autoriteit van de lidstaat waar de gebruiker en/of de patiënt is gevestigd.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion, RespDirect en bijbehorende logo's zijn handelsmerken en/of geregistreerde handelsmerken van Hologic, Inc. en/of haar dochterondernemingen in de Verenigde Staten en/of andere landen. Alle overige handelsmerken in deze bijsluiters zijn eigendom van hun respectieve eigenaars.

Dit product valt mogelijk onder een of meer Amerikaanse patenten. Deze zijn te vinden op www.hologic.com/patents.

©2017-2025 Hologic, Inc. Alle rechten voorbehouden.

AW-32201-1501 Rev. 001
2025-09

Revisiegeschiedenis	Datum	Beschrijving
AW-32201-1501 Rev. 001	September 2025	• Eerste release