

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

Istruzioni per l'uso

Per uso diagnostico *in vitro*

Solo su prescrizione medica

**INDICE**

**Informazioni generali** ..... **2**

    Usò previsto ..... 2

    Riepilogo e spiegazione del test ..... 2

    Principi della procedura ..... 2

    Avvertenze e precauzioni ..... 3

    Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti ..... 7

    Raccolta e conservazione dei campioni ..... 8

    Elaborazione dei campioni ..... 8

**Panther System** ..... **10**

    Reagenti e materiali forniti ..... 10

    Materiali richiesti e disponibili separatamente ..... 11

    Procedura di test del sistema Panther ..... 12

    Note procedurali ..... 15

**Controllo di qualità** ..... **17**

**Interpretazione dei risultati** ..... **17**

**Limitazioni** ..... **18**

**Performance analitica** ..... **19**

    Sensibilità analitica ..... 19

    Test del panel di riferimento SARS-CoV-2 della FDA ..... 20

    Reattività – Test a umido ..... 20

    Reattività - Analisi in silico ..... 21

    Specificità analitica e interferenza microbica ..... 22

    Interferenza ..... 23

    Contaminazione da carryover ..... 24

    Precisione del test ..... 24

    Equivalenza del dispositivo di raccolta ..... 25

    Riproducibilità ..... 26

**Prestazioni cliniche** ..... **27**

**Bibliografia** ..... **30**

**Informazioni di contatto e cronologia delle revisioni** ..... **31**

## Informazioni generali

### Uso previsto

Aptima™ SARS-CoV-2 Assay è test diagnostico ad amplificazione degli acidi nucleici *in vitro* destinato alla rilevazione qualitativa dell'RNA del SARS-CoV-2 isolato e purificato da tamponi nasofaringei (NP) e nasali ottenuti da individui sospetti di infezione da COVID-19 che presentano segni e sintomi di infezione delle vie respiratorie.

I risultati positivi sono indicativi della presenza dell'RNA del SARS-CoV-2; la correlazione clinica con l'anamnesi del paziente e altre informazioni diagnostiche sono necessarie per determinare lo stato di infezione del paziente. Dei risultati positivi non escludono un'infezione batterica o una coinfezione con altri virus.

I risultati negativi non precludono un'infezione da SARS-CoV-2 e non devono essere utilizzati come unica base per prendere ulteriori decisioni sulla gestione del paziente. I risultati negativi devono essere combinati con le osservazioni cliniche, con l'anamnesi del paziente e con le informazioni epidemiologiche.

Il Aptima SARS-CoV-2 Assay sul Panther™ e Panther Fusion™ Sistema è destinato all'uso da parte di personale di laboratorio clinico specificamente istruito e formato nell'uso dei sistemi Panther e Panther Fusion e nelle procedure diagnostiche *in vitro*.

### Riepilogo e spiegazione del test

I coronavirus sono una vasta famiglia di virus che possono causare malattie negli animali o nell'uomo. Nell'uomo sono diversi i coronavirus noti per causare infezioni respiratorie che vanno dal comune raffreddore a malattie più gravi come la Sindrome respiratoria mediorientale (MERS) e la Sindrome respiratoria acuta grave (SARS). Il coronavirus scoperto più di recente, il SARS-CoV-2, causa la malattia da coronavirus associata COVID-19. Tale nuovo virus e questa nuova malattia erano sconosciuti prima dello scoppio dell'epidemia a Wuhan, in Cina, a dicembre 2019.<sup>1</sup> Le persone affette da COVID-19 hanno manifestato un'ampia gamma di sintomi, che vanno da lievi a gravi. I sintomi possono manifestarsi da 2 a 14 giorni dopo l'esposizione al virus. Le persone affette da COVID-19 possono manifestare febbre o brividi, tosse, respiro corto o difficoltà respiratorie, affaticamento, dolori muscolari o corporei, mal di testa, nuova perdita di gusto o olfatto, mal di gola, congestione o naso che cola, nausea o vomito e/o diarrea.<sup>2</sup> L'11 marzo 2020, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha definito l'epidemia di COVID-19 una pandemia.<sup>3</sup> Da dicembre 2019 sono stati registrati in tutto il mondo oltre 760 milioni di casi e 6,9 milioni di decessi, ma si ritiene che il numero effettivo sia più alto.<sup>4,6</sup>

### Principi della procedura

Il Aptima SARS-CoV-2 Assay combina le tecnologie di cattura del virus, amplificazione mediata dalla trascrizione (TMA) e test cinetico doppio (DKA).

I campioni biologici vengono raccolti e trasferiti nelle rispettive provette di trasporto dei campioni. Le soluzioni di trasporto in queste provette liberano il target di RNA e lo proteggono dalla degradazione durante la conservazione. Quando il Aptima SARS-CoV-2 Assay viene eseguito in laboratorio, le molecole di RNA bersaglio vengono isolate dai campioni mediante l'uso di oligomeri di cattura tramite cattura del bersaglio che utilizza microparticelle magnetiche.

Gli oligomeri di cattura contengono sequenze complementari a regioni specifiche delle molecole target, oltre a un filamento di residui di deossadenosina. Per ciascun target viene usato un oligomero di cattura distinto. Durante la fase di ibridazione, le regioni specifiche della sequenza degli oligomeri di cattura si legano alle regioni specifiche delle molecole target. Il complesso oligomero di cattura:target viene quindi catturato fuori dalla soluzione mediante riduzione della temperatura di reazione fino a temperatura ambiente. Questa riduzione della temperatura permette che si verifichi l'ibridazione fra la regione della deossadenosina sull'oligomero di cattura e le molecole di poli-deossitimidina unite con legame covalente alle particelle magnetiche. Le microparticelle, incluse le molecole target catturate ad esse legate, vengono spinte sul lato del recipiente di reazione mediante l'uso di magneti, e il supernatante viene aspirato. Le particelle vengono sottoposte a lavaggio per rimuovere la matrice del campione residua, che potrebbe contenere inibitori della reazione di amplificazione. Una volta completate le fasi di cattura del target, i campioni sono pronti per l'amplificazione.

I dosaggi di amplificazione del target si basano sulla capacità dei primer oligonucleotidici complementari di eseguire l'ibridazione specifica e di permettere l'amplificazione enzimatica dei filamenti di acidi nucleici target. Il Aptima SARS-CoV-2 Assay replica regioni specifiche dell'RNA del virus SARS-CoV-2. Il rilevamento delle sequenze di prodotto di amplificazione dell'RNA (amplicone) viene ottenuto usando l'ibridazione dell'acido nucleico. Le sonde di acido nucleico chemiluminescente con filamento unico, che sono univoche e complementari a una regione di ciascun amplicone target e Internal Control (IC), vengono marcate con diverse molecole di estere di acridinio (AE). Le sonde marcate con AE si combinano con l'amplicone per formare ibridi stabili. Il Selection Reagent differenzia la sonda ibridata da quella non ibridata, eliminando la generazione di segnale dalla seconda. Durante la fase di rilevamento, la luce emessa dagli ibridi marcati viene misurata come segnali fotonici in un luminometro.

Tali segnali sono riportati come unità di luce relative (RLU). Nel DKA, le differenze nei profili cinetici delle sonde marcate permettono la differenziazione del segnale; i profili cinetici sono derivati dalle misurazioni delle emissioni fotoniche nella fase di lettura del rilevamento.

La reazione di rilevamento chemiluminescente per il segnale IC presenta una cinetica molto rapida di tipo "flash". La reazione di rilevamento chemiluminescente per il segnale SARS-CoV-2 è relativamente più lenta e presenta il tipo di cinetica con segnale "glow". I risultati del test si stabiliscono mediante un valore di soglia (cut-off) basato sulle RLU totali e sul tipo di curva cinetica.

Il Aptima SARS-CoV-2 Assay amplifica e rileva due regioni conservate del gene ORF1ab nella stessa reazione, utilizzando lo stesso tipo di cinetica "glow". Le due regioni non sono differenziate e l'amplificazione di una o entrambe le regioni porta a un segnale delle RLU. I risultati del test vengono determinati mediante cutoff basato sulle RLU totali e sul tipo di curva cinetica.

## Avvertenze e precauzioni

- A. Per *in vitro* uso diagnostico.
- B. Leggere attentamente l'intero foglietto illustrativo e il *Manuale dell'operatore del sistema Panther/Panther Fusion*.
- C. Per uso professionale.

**Laboratorio correlato**

- D. Solo il personale adeguatamente formato nell'utilizzo di questo test e nella manipolazione di materiali potenzialmente infettivi deve eseguire queste procedure. Se si verifica un versamento, disinfettare immediatamente seguendo le procedure del centro appropriate.
- E. Manipolare ed elaborare tutti i campioni biologici come se fossero infetti, nel rispetto delle pratiche e delle procedure di laboratorio fondamentali per una buona prassi microbiologica (GMPP). Fare riferimento alle linee guida sulla biosicurezza nei laboratori dell'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) relative alla malattia da coronavirus (COVID-19): linee guida provvisorie. [http://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-\(covid-19\)](http://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-(covid-19)).
- F. I campioni biologici potrebbero essere infettivi. Nell'eseguire questo test, adottare le precauzioni universali. I metodi adeguati di manipolazione e smaltimento vanno stabiliti dal direttore del laboratorio. Questa procedura diagnostica dovrebbe essere eseguita solo da personale adeguatamente formato nella manipolazione di materiali infettivi.<sup>6</sup>
- G. Se si sospetta un'infezione da SARS-CoV-2 sulla base degli attuali criteri di screening clinico raccomandati dalle autorità sanitarie pubbliche, i campioni biologici devono essere raccolti con le adeguate precauzioni per il controllo delle infezioni.
- H. Utilizzare solo contenitori da laboratorio monouso forniti o indicati in modo specifico come monouso.
- I. Utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale per la raccolta e la manipolazione dei campioni biologici provenienti da persone per cui si sospetta un'infezione da SARS-CoV-2, come indicato nelle Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) dei CDC.
- J. Quando si maneggiano campioni biologici e reagenti, indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio. Lavarsi accuratamente le mani dopo aver maneggiato campioni biologici e reagenti.
- K. Smaltire tutto il materiale che è entrato in contatto con campioni biologici e reagenti in conformità alle normative nazionali, internazionali e regionali in vigore.
- L. Utilizzare le buone pratiche standard per i laboratori molecolari che includono il monitoraggio ambientale. Vedere *Protocollo di monitoraggio della contaminazione di laboratorio per il sistema Panther*.

**Campione correlato**

- M. Le date di scadenza indicate sulle provette Panther Fusion Specimen Lysis Tube e sul RespDirect™ Collection Kit si riferiscono al trasferimento del campione nella provetta e non all'analisi del campione. I campioni raccolti/trasferiti in qualsiasi momento precedente a queste date di scadenza sono validi per l'analisi purché siano trasportati e conservati secondo le istruzioni incluse nel rispettivo foglietto illustrativo, anche se queste date di scadenza sono state superate.



- N. Mantenere le corrette condizioni di conservazione durante la spedizione del campione biologico per assicurarne l'integrità. La stabilità dei campioni biologici in condizioni di spedizione diverse da quelle raccomandate non è stata determinata.
- O. Evitare la contaminazione crociata durante i procedimenti di manipolazione dei campioni biologici. I campioni biologici possono contenere livelli di virus o altri organismi estremamente elevati. Assicurarsi che i contenitori dei campioni biologici non entrino in contatto tra di loro ed eliminare i materiali usati senza farli passare sopra i contenitori aperti. Cambiare i guanti se vengono a contatto con i campioni biologici.

### Analisi correlata

- P. Non utilizzare i reagenti e i controlli dopo la data di scadenza.
- Q. Conservare i componenti dei test alle condizioni di conservazione raccomandate. Vedere *Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti (pagina 7)*, e *Procedura di test del sistema Panther (pagina 12)* per maggiori informazioni.
- R. Non combinare liquidi o reagenti del test. Non rabboccare i reagenti o i fluidi; il sistema Panther verifica i livelli dei reagenti.
- S. Evitare la contaminazione microbica e da ribonucleasi dei reagenti.
- T. Nello strumento non usare materiale che può contenere tiocianato di guanidinio o materiali contenenti qualsiasi tipo di guanidinio. Potrebbero formarsi composti con alta reattività e/o altamente tossici se combinati con ipoclorito di sodio.
- U. Un reagente di questo kit è etichettato con simboli di rischio e sicurezza.

**Nota:** La comunicazione dei pericoli riflette le classificazioni delle schede di dati di sicurezza (SDS) dell'UE. Per informazioni sulla comunicazione dei pericoli specifiche per la tua regione, fai riferimento alla SDS specifica per la regione nella libreria delle schede di dati di sicurezza sul sito [www.hologic.com](http://www.hologic.com). Per maggiori informazioni sui simboli, fare riferimento alla legenda dei simboli su [www.hologic.com/package-inserts](http://www.hologic.com/package-inserts).

Informazioni sui rischi per l'UE	
<p><b>Amplification Reagent</b> <b>HEPES 25 - 30%</b></p> <p>—</p> <p>—</p>	<p>H402 - Nocivo per gli organismi acquatici. H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
<p><b>Enzyme Reagent</b> <b>Triton X-100 1 - 5%</b> <b>HEPES 1 - 5%</b></p> <p>—</p> <p>—</p>	<p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>

	<p><b>Enzyme Reconstitution Solution</b>  <b>Glicerina 20 - 25%</b>  <b>Triton X-100 5 - 10%</b>  <b>HEPES 1 - 5%</b></p> <p>—</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.  P273 - Non disperdere nell'ambiente.  P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
	<p><b>Probe Reagent</b>  <b>Sale di litio lauril solfato 35 - 40%</b>  <b>Acido succinico 10 - 15%</b></p> <p>—</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.  P273 - Non disperdere nell'ambiente.  P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
  	<p><b>Selection Reagent</b>  <b>Acido boracico 1-5%</b>  <b>Triton X-100 1-5%</b>  <b>Iodossido di sodio &lt;1%</b></p> <p><b>Pericolo</b>  H315 - Provoca irritazione cutanea  H360FD - Può nuocere alla fertilità. Può nuocere al feto.  P264 - Lavare accuratamente viso, mani ed eventuale superficie cutanea esposta dopo l'uso.  P280 - Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.  P302 + P352 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone.  P321 - Trattamento specifico (vedere le istruzioni supplementari per il primo soccorso su questa etichetta).  P332 + P313 - In caso di irritazione della pelle: consultare un medico.  P362 + P364 - Togliere tuttigli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.  P201 - Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.  P202 - Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze.  P308 + P313 - IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.  P405 - Conservare sotto chiave.  P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
	<p><b>Target Capture Reagent</b>  <b>HEPES 5-10%</b>  <b>EDTA 1-5%</b>  <b>LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1-5%</b></p> <p>—</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.  P273 - Non disperdere nell'ambiente.  P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>

## Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

- A. La tabella seguente mostra le condizioni di conservazione e la stabilità dei reagenti e dei controlli.

Reagente	Deposito non aperto	Kit aperto (ricostituito)	
		Magazzinaggio	Stabilità
Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reagent	2°C - 8°C	N/A	N/A
Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reagent	2°C - 8°C	N/A	N/A
Aptima SARS-CoV-2 Probe Reagent	2°C - 8°C	N/A	N/A
Aptima SARS-CoV-2 Internal Control	2°C - 8°C	N/A	N/A
Controllo positivo Aptima SARS-CoV-2	2°C - 8°C	N/A	N/A
Controllo negativo Aptima SARS-CoV-2	2°C - 8°C	N/A	N/A
Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reconstitution Solution	2°C - 30°C	2°C - 8°C	30 giorni
Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reconstitution Solution	2°C - 30°C	2°C - 8°C	30 giorni
Aptima SARS-CoV-2 Probe Reconstitution Solution	2°C - 30°C	2°C - 8°C	30 giorni
Aptima SARS-CoV-2 Selection Reagent	2°C - 30°C	2°C - 30°C	30 giorni
Aptima SARS-CoV-2 Target Capture Reagent	15°C - 30°C	15°C - 30°C	30 giorni

- B. Se il Selection Reagent viene conservato in frigorifero, lasciarlo raggiungere la temperatura ambiente prima di posizionarlo sul sistema Panther.
- C. Il working Target Capture Reagent (wTCR) è stabile per 30 giorni se conservato a 15°C a 30°C. Non refrigerare.
- D. Dopo la ricostituzione, il Enzyme Reagent, il Amplification Reagent e il Probe Reagent sono stabili per 30 giorni se conservati a 2°C a 8°C.
- E. Smaltire qualsiasi reagente ricostituito inutilizzato e wTCR dopo 30 giorni o dopo la data di scadenza del lotto master, a seconda di quale data cada per prima.
- F. I Controls sono stabili fino alla data indicata sulle fiale.
- G. I reagenti conservati a bordo del sistema Panther hanno una stabilità a bordo di 120 ore.
- H. Il Probe Reagent e il Probe Reagent ricostituito sono fotosensibili. Conservare i reagenti al riparo dalla luce. La stabilità specificata del reagente ricostituito si basa su un'esposizione di 12 ore del Probe Reagent ricostituito a due lampade fluorescenti da 60 W, a una distanza di 43 cm (17 pollici) e a una temperatura inferiore a 30°C. L'esposizione alla luce del Probe Reagent ricostituito deve essere limitata in maniera conforme.
- I. Una volta riscaldate fino a temperatura ambiente, alcune provette di controllo potrebbero apparire torbide o contenere precipitati. Torbidità o precipitazione associate ai controlli non hanno impatto sulle prestazioni dei controlli stessi. I Controls possono essere usati sia quando sono trasparenti sia quando sono torbidi o contengono precipitato. Se si desiderano controlli trasparenti, è possibile accelerare la solubilizzazione incubando i controlli alla fascia superiore dell'intervallo di temperatura ambiente (da 15°C a 30°C).
- J. Non congelare i reagenti.**

## Raccolta e conservazione dei campioni

**Esemplari** - Il materiale clinico raccolto dal paziente viene inserito in un sistema di trasporto appropriato. Per il Aptima SARS-CoV-2 Assay, ciò include campioni di NP e tamponi nasali raccolti nel terreno di trasporto virale (VTM/UTM) o nel terreno di trasporto migliorato (eSTM) con il kit di raccolta RespDirect.

**Campioni** - Rappresenta un termine più generico per descrivere qualsiasi materiale da analizzare nel Panther System, compresi campioni, campioni trasferiti in una provetta Panther Fusion Specimen Lysis Tube e controlli.

**Nota:** *Maneggiare tutti i campioni come se contenessero agenti potenzialmente infettivi. Utilizzare precauzioni universali.*

**Nota:** *Prestare attenzione a evitare la contaminazione incrociata durante le fasi di manipolazione dei campioni. Ad esempio, scartare il materiale usato senza passare sopra le provette aperte.*

## Raccolta di campioni

Raccogliere campioni di NP e tamponi nasali secondo la tecnica standard utilizzando un tampone con punta in poliestere, rayon o nylon. Collocare immediatamente il campione biologico di tampone in 3 mL di VTM o UTM. I campioni di NP e di tampone nasale possono essere raccolti anche con il kit di raccolta RespDirect.

I seguenti tipi di VTM/UTM sono stati verificati per l'uso con il Aptima SARS-CoV-2 Assay:

- Formulazioni Remel MicroTest M4RT, M5 o M6
- Terreno di trasporto universale Copan
- Terreno di trasporto virale universale BD
- Terreno di trasporto virale Hardy Diagnostics

## Elaborazione dei campioni

### ***Elaborazione dei campioni con la provetta Panther Fusion Specimen Lysis Tube***

1. Prima di effettuare l'analisi su Panther System, trasferire 500 µL del campione raccolto in UTM o VTM in una provetta Panther Fusion Specimen Lysis Tube.

**Nota:** *Quando si testano campioni congelati, attendere che raggiungano la temperatura ambiente prima di procedere all'elaborazione.*

### ***Elaborazione del campione con la provetta di carico diretto migliorato (kit di raccolta RespDirect)***

1. Dopo aver raccolto il campione nella provetta di carico diretto avanzato (RespDirect Collection Kit), è possibile caricarlo sul sistema Panther.

**Nota:** *Se si osservano coaguli, i campioni possono essere agitati per 5-10 minuti a 1.800 giri/min su un vortex multi-provetta (o impostazione 5 su Cat. N. 102160G).*

*In alternativa, è possibile agitare manualmente le singole provette per 15 secondi alla massima velocità su un vortex da banco standard.*

*Se precedentemente forate, richiudere le provette con un nuovo tappo perforabile prima di agitarle.*

*Se si ottiene un risultato CLT dopo un nuovo test, raccogliere un nuovo campione.*

**Nota:** *Quando si testano campioni congelati, attendere che raggiungano la temperatura ambiente prima di caricarli sul sistema Panther.*

**Nota:** *Se il laboratorio riceve una provetta Enhanced Direct Load (RespDirect Collection Kit) senza tampone o con due tamponi, il campione deve essere rifiutato.*

## Conservazione dei campioni

### *Conservazione dei campioni con la provetta Panther Specimen Lysis Tube*

1. Dopo la raccolta, i campioni di NP e di tampone nasale in VTM/UTM possono essere conservati a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C fino a 96 ore prima del trasferimento nella provetta Panther Fusion Specimen Lysis Tube. I volumi di campione rimanenti possono essere conservati a  $\leq -70^{\circ}\text{C}$ . I cicli di congelamento/scongelo devono essere ridotti al minimo a causa del potenziale rischio di degradazione del campione.
2. I campioni nella provetta Panther Fusion Specimen Lysis Tube possono essere conservati nelle seguenti condizioni:
  - A una temperatura compresa tra 15°C e 30°C fino a 6 giorni, oppure
  - a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C e -20°C e -70°C per un massimo di 3 mesi. I cicli di congelamento-scongelo devono essere ridotti al minimo a causa della potenziale degradazione del campione.
3. I campioni analizzati in precedenza devono essere coperti con una pellicola in plastica o un foglio in alluminio nuovo e pulito.
4. Se i campioni analizzati devono essere congelati o spediti, rimuovere i tappi penetrabili dalle provette dei campioni e sostituirli con nuovi tappi non penetrabili. Se i campioni devono essere spediti per essere sottoposti ad analisi in un'altra struttura, occorre mantenere le temperature consigliate. Prima di stappare i campioni precedentemente testati e richiusi, le provette possono essere centrifugate per 5 minuti a una forza centrifuga relativa (RCF) di 420 per portare tutto il liquido sul fondo della provetta. Evitare schizzi e contaminazione crociata.

### *Conservazione dei campioni con la provetta a caricamento diretto migliorata (kit di raccolta RespDirect)*

1. I campioni di NP e di tampone nasale possono essere conservati nelle seguenti condizioni:
  - A una temperatura compresa tra 15°C e 30°C fino a 6 giorni, oppure
  - a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C e -20°C e -70°C per un massimo di 3 mesi. I cicli di congelamento-scongelo devono essere ridotti al minimo a causa della potenziale degradazione del campione.
2. I campioni analizzati in precedenza devono essere coperti con una pellicola in plastica o un foglio in alluminio nuovo e pulito.
3. Se i campioni analizzati devono essere congelati o spediti, rimuovere i tappi penetrabili dalle provette dei campioni e sostituirli con nuovi tappi non penetrabili. Se i campioni devono essere spediti per essere sottoposti ad analisi in un'altra struttura, occorre mantenere le temperature consigliate. Prima di rimuovere i tappi dalle provette di campioni precedentemente analizzati che sono state richiuse, è possibile centrifugare le provette del campione per 5 minuti a una forza centrifuga relativa (RCF) di 420 per portare tutto il liquido verso il basso sul fondo della provetta. Evitare schizzi e contaminazione crociata.

## Trasporto di campioni

Mantenere le condizioni di conservazione dei campioni come descritto nella *Sezione Raccolta e conservazione dei campioni su pagina 8*.

**Nota:** I campioni devono essere spediti in conformità alle normative nazionali, internazionali e regionali in materia di trasporto.

## Panther System

Di seguito sono elencati i reagenti per il Aptima SARS-CoV-2 Assay per il sistema Panther. Accanto al nome di ciascun reagente è indicato anche il rispettivo simbolo di identificazione.

### Reagenti e materiali forniti

#### Kit di Aptima SARS-CoV-2 Assay PRD-07881

100 test (2 scatole)

**Scatola refrigerata Aptima SARS-CoV-2 (scatola 1 di 2)**  
(conservare a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C al momento del ricevimento)

Simbolo	Componente	Quantità Kit da 100 test
<b>A</b>	<b>Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reagent</b> <i>Acidi nucleici non infettivi essiccati in soluzione tamponata contenente &lt;5% agente di carica.</i>	1 fiala
<b>E</b>	<b>Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reagent</b> <i>Trascrittasi inversa e RNA polimerasi essiccate in soluzione tamponata HEPES contenente &lt;10% di reagente di carica.</i>	1 fiala
<b>P</b>	<b>Aptima SARS-CoV-2 Probe Reagent</b> <i>Sonde di DNA chemiluminescenti non infettive essiccate in soluzione tamponata di succinato contenente &lt;5% di detergente.</i>	1 fiala
<b>IC</b>	<b>Aptima SARS-CoV-2 Internal Control</b>	1 fiala

**Aptima SARS-CoV-2 Scatola a temperatura ambiente (scatola 2 di 2)**  
(conservare a una temperatura compresa tra 15°C e 30°C al momento del ricevimento)

Simbolo	Componente	Quantità Kit da 100 test
<b>AR</b>	<b>Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reconstitution Solution</b> <i>Soluzione acquosa contenente conservanti.</i>	1 x 12,2 mL
<b>ER</b>	<b>Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reconstitution Solution</b> <i>Soluzione tamponata HEPES contenente un tensioattivo e glicerina.</i>	1 x 6,6 mL
<b>PR</b>	<b>Aptima SARS-CoV-2 Probe Reconstitution Solution</b> <i>Soluzione tamponata di succinato contenente &lt;5% di detergente.</i>	1 x 15,7 mL
<b>S</b>	<b>Aptima SARS-CoV-2 Selection Reagent</b> <i>Soluzione tamponata con borato 600 mM contenente tensioattivo.</i>	1 x 45,0 mL
<b>TCR</b>	<b>Aptima SARS-CoV-2 Target Capture Reagent</b> <i>Soluzione salina tamponata contenente fase solida e oligomeri di cattura.</i>	1 x 27,0 mL
	<b>Collari di ricostituzione</b>	3
	<b>Foglio di codici a barre del lotto principale</b>	1 scheda

**Materiali richiesti e disponibili separatamente**

**Nota:** I materiali disponibili presso Hologic sono indicati con i numeri di catalogo, salvo diversa indicazione.

	<u>Cat. N.</u>
Panther System	303095
Aggiornamento modulo Panther Fusion	PRD-04173
Panther Fusion System	PRD-04172
Smaltimento continuo di liquidi e rifiuti Panther System (Panther Plus)	PRD-06067
Kit di liquidi per dosaggio Aptima <i>(Soluzione di lavaggio Aptima, tampone Aptima per fluido di disattivazione e reagente oleoso Aptima)</i>	303014 (1.000 test)
Aptima Auto Detect Kit	303013 (1000 test)
Unità multiprovetta (MTU)	104772-02
Kit dei sacchetti di rifiuti Panther	902731
Coperchio del contenitore di rifiuti Panther	504405
O Kit sessione analitica Panther <i>contiene MTU, sacchetti per rifiuti, coperchi per bidoni dei rifiuti, fluidi di analisi e rilevatori automatici</i>	303096 (5000 test)
Puntali da 1.000 µL con filtro, conduttivi, rilevatori di liquido e monouso  <i>Non tutti i prodotti sono disponibili in tutte le regioni. Contatta il tuo rappresentante per informazioni specifiche sulla regione</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04128 MME-04134 (30180117 Tecan)
Kit dei controlli Aptima SARS-CoV-2 <i>PC - Controllo positivo Aptima SARS-CoV-2. Acido nucleico non infettivo in una soluzione tamponata contenente &lt;5% di detergente. Quantità 5 x 1,7 mL</i> <i>NC - Controllo negativo Aptima SARS-CoV-2. Una soluzione tamponata contenente &lt;5% di detergente. Quantità 5 x 1,7 mL</i>	PRD-07882
Kit di raccolta RespDirect, 50 per scatola	PRD-07403
Kit unisex di raccolta dei campioni di tampone Aptima per campioni di tampone endocervicali e uretrali maschili	301041
Provette Panther Fusion Specimen Lysis Tube, 100 per sacchetto <i>la provetta contiene 0,71 mL di STM con tappo penetrabile</i>	PRD-04339
Candeggina, soluzione di ipoclorito di sodio al 5%-8,25% (0,7 M-1,16 M)	—
Guanti monouso	—
Tappi di ricambio non penetrabili	504415
Tappi di ricambio per i kit da 100 test <i>Soluzioni di ricostituzione dei Amplification, Enzyme e Probe Reagents</i> <i>TCR e Selection Reagent</i>	—  CL0041 (100 capsule) 501604 (100 capsule)

## Materiali opzionali

	<u>Cat. N.</u>
Potenziatore a base di candeggina per pulizia Hologic per la pulizia ordinaria di superfici e attrezzature	302101
Agitatore oscillante per provette	—
Vortex multiprovetta	102160G
Vortex da banco	—

## Procedura di test del sistema Panther

**Nota:** Per ulteriori informazioni sulla procedura, fare riferimento al Manuale dell'operatore del sistema Panther/Panther Fusion.

### A. Preparazione dell'area di lavoro

Pulire le superfici di lavoro dove verranno preparati reagenti e campioni. Passare sulle superfici di lavoro una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5% – 3,5% (0,35 M – 0,5 M). Lasciare la candeggina a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua. Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco sul quale verranno preparati reagenti e campioni con teli da banco di laboratorio puliti, assorbenti e plastificati.

### B. Ricostituzione del reagente/preparazione di un nuovo kit

**Nota:** Ricostituzione del reagente deve essere eseguita prima di iniziare qualsiasi lavoro sul sistema Panther.

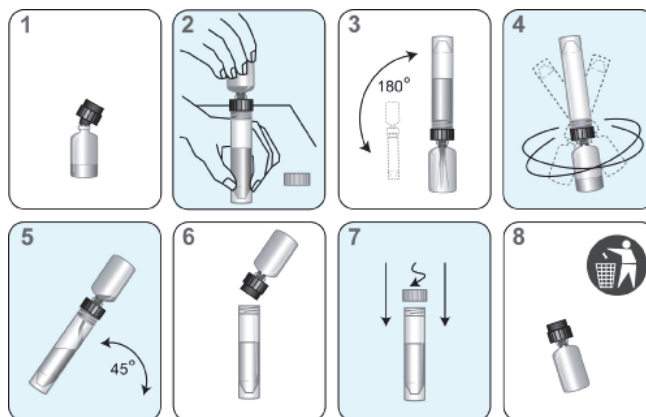
1. Prima di procedere al test, i Amplification, Enzyme e Probe Reagents devono essere ricostituiti combinando il contenuto dei flaconi di reagente liofilizzato con la soluzione di ricostituzione appropriata.
  - a. Lasciare che i reagenti liofilizzati raggiungano la temperatura ambiente (da 15°C a 30°C) prima dell'uso.
  - b. Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al rispettivo reagente liofilizzato. Prima di fissare il collare di ricostituzione, assicurarsi che la soluzione di ricostituzione e il reagente presentino simboli uguali sulle etichette.
  - c. Controllare i numeri di lotto sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati. Etichettare i tappi dei flaconi della soluzione di ricostituzione.
  - d. Aprire la fiala di vetro del reagente liofilizzato e inserire l'estremità indentata del collare di ricostituzione nell'apertura della fiala di vetro (Figura 1, Passaggio 1).
  - e. Aprire il flacone di soluzione di ricostituzione corrispondente e disporre il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
  - f. Tenendo il flacone della soluzione di ricostituzione sul banco, inserire con fermezza l'altra estremità del collare di ricostituzione nell'apertura del flacone (Figura 1, Procedimento 2).
  - g. Capovolgere lentamente i flaconi collegati. Lasciare che la soluzione scoli dal flacone nella fiala di vetro (Figura 1, Fase 3).

- h. Prendere i flaconi assemblati e agitare per almeno 10 secondi. Evitare di formare schiuma mentre si agita il flacone con movimento rotatorio (Figura 1, Fase 4)
- i. Per garantire che il reagente liofilizzato vada completamente in soluzione. Agitare nuovamente i flaconi per almeno 10 secondi, quindi muovere leggermente avanti e indietro la soluzione all'interno della fiala di vetro per mescolarla accuratamente.
- j. Controllare visivamente che il reagente sia completamente in soluzione, senza polvere, grumi o linee ondulate.
- k. Inclinare lentamente di nuovo i flaconi assemblati per consentire a tutta la soluzione di defluire nuovamente nel flacone della soluzione di ricostituzione. (Figura 1, Fase 5).
- l. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, Passaggio 6).
- m. Richiudere il flacone di plastica con il tappo con l'etichetta corrispondente al reagente oppure con uno nuovo. Non invertire i tappi. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 1, Passaggio 7).
- n. Gettare via il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, Fase 8).
- o. Mescolare accuratamente ciascun reagente capovolgendolo delicatamente prima di caricarlo sul sistema Panther.

**Option:** È consentita un'ulteriore miscelazione dei Amplification, Enzyme e Probe Reagents posizionando i flaconi di plastica richiuse su un agitatore per provette impostato a velocità moderata e inclinato per almeno 5 minuti. Assicurarsi che i reagenti siano accuratamente miscelati.

**Avvertenza** Evitare la formazione di schiuma durante la ricostituzione dei reagenti. La schiuma compromette il rilevamento del livello nel sistema Panther.

**Avvertenza** Per ottenere i risultati attesi dal test è necessaria una miscelazione adeguata dei reagenti.



**Figura 1. Processo di ricostituzione del sistema Panther**

2. Preparazione del working Target Capture Reagent (wTCR)
  - a. Abbinare i flaconi di TCR e di Internal Control (IC).
  - b. Controllare i numeri di lotto dei reagenti sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi che siano abbinati i reagenti appropriati.

- c. Aprire il flacone di TCR e disporre il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
  - d. Aprire il flacone dell'IC e versare l'intero contenuto nel flacone di TCR. È normale che nel flacone di Internal Control resti una piccola quantità di liquido.
  - e. Chiudere con il tappo il flacone di TCR e roteare con attenzione la soluzione per miscelare il contenuto. Evitare la formazione di schiuma durante questo passaggio.
  - f. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.
  - g. Eliminare il flacone e il tappo dell'IC.
3. Preparazione del Selection Reagent
- a. Controllare il numero di lotto sul flacone di reagente per assicurarsi che corrisponda al numero di lotto riportato sul foglio dei codici a barre del lotto master.
  - b. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.

**Nota:** *Miscelare accuratamente capovolgendo delicatamente tutti i reagenti prima di caricarli nel sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.*

C. Preparazione di reagenti precedentemente ricostituiti

1. I Amplification, Enzyme e Probe Reagents precedentemente ricostituiti devono essere portati a temperatura ambiente (da 15°C a 30°C) prima di iniziare il test.  
**Option:** I flaconi di plastica tappati dei Amplification, Enzyme e Probe Reagents ricostituiti possono essere posizionati su un agitatore per provette impostato a velocità moderata e inclinato per almeno 25 minuti per garantire che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente e siano completamente miscelati.
2. Se il Probe Reagent ricostituito contiene precipitato che non rientra in soluzione a temperatura ambiente, riscaldare il flacone tappato a una temperatura che non superi i 62°C per 1 o 2 minuti. Dopo questo procedimento di riscaldamento, il Probe Reagent può essere usato anche se resta del precipitato residuo. Prima di caricarlo sul sistema, miscelare il Probe Reagent capovolgendolo, facendo attenzione a non produrre schiuma.
3. Miscelare accuratamente ciascun reagente capovolgendolo con attenzione prima di caricarlo sul sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti. Questo passaggio non è necessario se i reagenti vengono caricati sul sistema direttamente dopo la miscelazione sull'agitatore oscillante per provette.
4. Evitare di riempire i flaconi dei reagenti fino all'orlo. Il Panther System riconosce e rifiuta i flaconi riempiti fino all'orlo.
5. *Per ottenere i risultati attesi dal test è necessaria una miscelazione adeguata dei reagenti.*

D. Manipolazione dei campioni biologici

**Nota:** *Preparare i campioni seguendo le istruzioni per l'elaborazione dei campioni nella sezione Raccolta e conservazione dei campioni prima di caricarli sul sistema Panther.*

1. Ispezionare le provette del campione prima di caricarle nella rastrelliera. Se una provetta del campione contiene bolle o ha un volume inferiore rispetto a quello osservato normalmente, battere delicatamente sul fondo della provetta per favorire il deposito del contenuto sulla parte inferiore.

**Nota:** Per evitare errori di elaborazione nei campioni trasferiti nella provetta Panther Fusion Specimen Lysis Tube, assicurarsi che venga aggiunto alla provetta un volume di campione adeguato. Quando si aggiunge alla provetta una quantità adeguata di campione raccolto, si ottiene un volume sufficiente per eseguire 3 estrazioni di acidi nucleici.

**Nota:** Per la provetta Enhanced Direct Load (RespDirect Collection Kit), il volume è sufficiente per eseguire 4 estrazioni di acidi nucleici.

#### E. Preparazione del sistema

1. Impostare il sistema secondo le istruzioni contenute nel *Manuale dell'operatore del sistema Panther/Panther Fusion E Note procedurali*. Assicurarsi di utilizzare rastrelliere reagenti e adattatori TCR di dimensioni appropriate.
2. Caricare i campioni.

### Note procedurali

#### A. Controlli

1. Per funzionare correttamente con il software del test Aptima per il Panther System, è necessaria una coppia di controlli. I controlli positivi e negativi Aptima SARS-CoV-2 possono essere caricati in qualsiasi posizione della rastrelliera o in qualsiasi vano dello scomparto dei campioni sul Panther System. Il pipettaggio dei campioni del paziente inizia dopo aver soddisfatto una delle seguenti due condizioni:
  - a. Una coppia di controlli è in fase di trattamento da parte del sistema.
  - b. I risultati validi dei controlli sono stati registrati nel sistema.
2. Una volta che le provette di controllo sono state pipettate e sono in fase di elaborazione per uno specifico kit di reagenti, i campioni dei pazienti possono essere analizzati con il kit associato fino a 24 ore salvo che:
  - a. I risultati dei controlli non siano validi.
  - b. Il kit di reagenti del test associato sia stato rimosso dal sistema.
  - c. Il kit di reagenti del test associato abbia superato i limiti di stabilità.
3. Ciascuna provetta di controllo Aptima può essere analizzata una sola volta. I tentativi di pipettare più di una volta dalla provetta possono causare errori di trattamento.
4. Il pipettaggio dei campioni biologici del paziente inizia dopo aver soddisfatto una delle seguenti due condizioni:
  - a. I risultati validi dei controlli sono stati registrati nel sistema.
  - b. Alcuni controlli sono in fase di trattamento da parte del sistema.

#### B. Temperatura

Per temperatura ambiente si intende una gamma di temperatura da 15°C a 30°C.

#### C. Polvere dei guanti

Come in qualsiasi sistema di reagenti, la polvere eccessiva in alcuni guanti può causare la contaminazione delle provette aperte. Si consigliano guanti privi di polvere.

#### D. Protocollo di monitoraggio della contaminazione di laboratorio per il sistema Panther

Vi sono molti fattori specifici per ciascun laboratorio che possono contribuire alla contaminazione, fra cui il volume di analisi, il flusso di lavoro, la prevalenza delle malattie e varie altre attività di laboratorio. Questi fattori vanno tenuti in considerazione quando si stabilisce la frequenza del monitoraggio della contaminazione. Gli intervalli relativi al monitoraggio della contaminazione devono essere stabiliti in base alle pratiche e alle procedure di ciascun laboratorio.

Per monitorare la contaminazione del laboratorio, può essere eseguita la seguente procedura, utilizzando il kit di raccolta dei campioni di tampone unisex Aptima per campioni di tampone endocervicale e uretrale maschile.

1. Etichettare le provette di trasporto dei tamponi con i numeri corrispondenti alle aree da analizzare.
  2. Estrarre il tampone per la raccolta del campione (tampone blu con stampa verde) dalla confezione, bagnare il tampone nel mezzo di trasporto del campione (STM) e tamponare l'area designata con un movimento circolare.
  3. Inserire immediatamente il tampone nella provetta di trasporto.
  4. Spezzare con cautela il bastoncino del tampone in corrispondenza della linea indicatrice, facendo attenzione a evitare di schizzarne il contenuto.
  5. Richiudere bene la provetta di trasporto del tampone.
  6. Ripeti i passaggi 2 a 5 per ogni area da tamponare.
- E. Se i risultati sono positivi, vedere *Interpretazione dei risultati*. Per ulteriori informazioni sul monitoraggio della contaminazione specifica del Panther System, contattare l'assistenza tecnica Hologic.

## Controllo di qualità

Una sessione analitica o il risultato di un campione biologico possono essere invalidati dal Panther System se si verificano problemi durante l'esecuzione del test. I campioni biologici con risultati non validi devono essere rianalizzati.

### Controlli negativi e positivi

Per generare risultati validi è necessario analizzare una serie di controlli del test. Ogni volta che un nuovo kit viene caricato sul sistema Panther o quando il set corrente di controlli validi è scaduto, è necessario testare una replica del controllo negativo del test e del controllo positivo del test.

Il sistema Panther è configurato per richiedere l'esecuzione dei controlli di analisi a intervalli specificati dall'amministratore, fino a 24 ore. Il software del sistema Panther avvisa l'operatore quando sono necessari controlli di analisi e non avvia nuovi test finché i controlli di analisi non vengono caricati e non hanno iniziato l'elaborazione.

Durante l'elaborazione, i criteri di accettazione dei controlli del test vengono verificati automaticamente dal sistema Panther. Per generare risultati validi, i controlli del test devono superare una serie di controlli di validità eseguiti dal sistema Panther.

Se i controlli del test superano tutti i controlli di validità, sono considerati validi per il intervallo di tempo specificato dall'amministratore. Una volta trascorso l'intervallo di tempo, i controlli del test vengono eliminati dal sistema Panther, il che richiede che venga testato un nuovo set di controlli del test prima di iniziare a prelevare nuovi campioni.

Se uno qualsiasi dei controlli del test non supera i controlli di validità, il sistema Panther invalida automaticamente i campioni interessati e richiede che venga testato un nuovo set di controlli del test prima di iniziare l'analisi di nuovi campioni.

### Internal Control

Viene aggiunto un Internal Control a ciascun campione con il wTCR. Durante l'elaborazione, i criteri di accettazione del Internal Control vengono verificati automaticamente dal software Panther System. Il rilevamento del Internal Control non è richiesto per i campioni positivi a SARS-CoV-2. Il Internal Control deve essere rilevato in tutti i campioni negativi per i target SARS-CoV-2; i campioni che non soddisfano tali criteri saranno segnalati come non validi. Ogni campione con un risultato non valido deve essere rianalizzato.

Il sistema Panther è progettato per verificare accuratamente i processi quando le procedure vengono eseguite seguendo le istruzioni fornite nel presente foglietto illustrativo e *Manuale dell'operatore del sistema Panther/Panther Fusion*.

## Interpretazione dei risultati

Il sistema Panther determina automaticamente i risultati dei test per i campioni e i controlli. Un risultato del test può essere negativo, positivo o non valido.

Il primo risultato valido è il risultato che dovrebbe essere riportato. I campioni con risultati non validi devono essere nuovamente analizzati. Se il risultato del nuovo test non è valido, è necessario raccogliere un nuovo campione.

La tabella 1 mostra i possibili risultati riportati in una sessione valida con le relative interpretazioni.

*Tabella 1: Interpretazione dei risultati*

<b>Risultato SARS-CoV-2</b>	<b>Risultato IC</b>	<b>Interpretazione</b>
Neg	Valido	SARS-CoV-2 non rilevato.
POS	Valido	SARS-CoV-2 rilevato.
Non valido	Non valido	Non valido. Si è verificato un errore nella generazione del risultato; rianalizzare il campione.

Nota: Il rilevamento del Internal Control non è richiesto per i campioni positivi a SARS-CoV-2.

## Limitazioni

- A. L'utilizzo di questo test va limitato al personale addestrato nella relativa procedura. La mancata osservanza delle istruzioni fornite può determinare risultati erranei.
- B. L'affidabilità dei risultati è subordinata alla raccolta, al trasporto, alla conservazione e al trattamento adeguati del campione biologico.
- C. Evitare la contaminazione aderendo alle buone pratiche di laboratorio e alle procedure specificate nel presente foglietto illustrativo.
- D. Un risultato positivo indica il rilevamento di acido nucleico dal virus pertinente. L'acido nucleico potrebbe persistere anche dopo che il virus non è più vitale.

## Performance analitica

### Sensibilità analitica

La sensibilità analitica (limite di rilevamento o LoD) del test Aptima SARS-CoV-2 è stata determinata testando diluizioni di tamponi clinici negativi elaborati con matrice VTM/UTM arricchita con virus SARS-CoV-2 coltivato inattivato (USA-WA1/2020; BEI Resources; NR-52281) e lo standard internazionale dell'OMS per SARS-CoV-2, NIBSC (20/146). Per il virus coltivato, sono state valutate dieci repliche di ciascuna diluizione seriale per ciascuno dei due lotti di reagenti di analisi su due sistemi Panther. Il LoD è stato determinato essere 0,01 TCID<sub>50</sub>/mL nel campione di prova (0,026 TCID<sub>50</sub>/mL nel campione puro, non elaborato) e verificato testando almeno 20 repliche aggiuntive con un lotto di reagenti di analisi. Per lo Standard internazionale dell'OMS, sono stati analizzati un minimo di 24 replicati con ciascuno dei tre lotti di reagenti utilizzando l'analisi Probit per ciascun lotto ed è stato confermato con altri 24 replicati utilizzando un singolo lotto. La concentrazione più bassa alla quale è stato osservato un rilevamento ≥95% è stata di 87,5 UI/mL (224 UI/mL nel campione puro e non elaborato). La conferma del LoD è stata eseguita anche con il RespDirect Collection Kit a 24 repliche con un singolo lotto di reagenti ed è stato osservato un rilevamento ≥95% a 27,7 UI/mL.

La sensibilità analitica del Aptima SARS-CoV-2 Assay è stata ulteriormente valutata utilizzando materiale di riferimento di tre fornitori commerciali. Sono state effettuate diluizioni seriali dei materiali degli acidi nucleici in STM e sono state testate 20 o più repliche a ciascun livello utilizzando ciascuno dei due lotti di reagenti di analisi su due sistemi Panther. Il livello di diluizione più basso che ha portato a un rilevamento ≥ 95% per i materiali di riferimento è stato di 83 copie/mL (212,5 copie/mL nel campione puro e non elaborato) ed è elencato in Tabella 2.

Tabella 2: Valutazione della sensibilità analitica del materiale di riferimento commerciale

Fornitore	Nome	Riferimento #	Lotto #	Sensibilità analitica
ZeptoMetrix	SARS-CoV-2 External Run control	NATSARS (COV2)-ERC	324332	83 copie/mL
SeraCare	AccuPex Materiale di riferimento SARS-Cov-2	0505-0126	10483977	83 copie/mL
Exact Diagnostic	SARS-CoV-2 Standard	COV019	20033001	83 copie/mL

## Test del panel di riferimento SARS-CoV-2 della FDA

La valutazione della sensibilità e della reattività crociata MERS-CoV è stata eseguita utilizzando materiale di riferimento (T1), campioni in cieco e un protocollo standard fornito dalla FDA. Lo studio ha incluso uno studio di individuazione dell'intervallo e uno studio di conferma per il LoD. Per stabilire la specificità e confermare il LoD è stato utilizzato il test del campione in cieco. Lo studio è stato eseguito sul sistema Panther completamente automatizzato. I risultati sono riassunti in Tabella 3.

Tabella 3: Riepilogo dei risultati di conferma del LoD utilizzando il panel di riferimento FDA SARS-CoV-2

Materiali di riferimento forniti dalla FDA	Tipo di campione	LoD del prodotto	Reattività crociata
SARS-CoV-2	Tamponi NP in VTM/	600 NDU/mL	N/A
MERS-CoV	UTM	N/A	ND

NDU/mL = unità rilevabili RNA NAAT/mL.

N/A = Non applicabile.

ND = Non rilevato.

## Reattività – Test a umido

La reattività del Aptima SARS-CoV-2 Assay è stata determinata testando i ceppi virali nella matrice VTM/UTM del tampone NP clinico negativo elaborato. Ogni ceppo è stato testato in triplicato a 3X LoD con un lotto di reagenti. Per i ceppi non rilevati a 3X LoD, sono stati eseguiti ulteriori test a concentrazioni più elevate fino a quando non è stata osservata una positività del 100%. Tabella 4 mostra la concentrazione più bassa di ciascun ceppo in cui è stata osservata una positività del 100%.

Tabella 4: Riepilogo della reattività analitica per SARS-CoV-2

Descrizione	Concentrazione
USA-WA1/2020*	0,03 TCID <sub>50</sub> /mL
USA-CA1/2020	0,03 TCID <sub>50</sub> /mL
USA-AZ1/2020	0,10 <sup>1</sup> TCID <sub>50</sub> /mL
USA-WI1/2020	0,03 TCID <sub>50</sub> /mL
USA/OR-OHSU-PHL00037/2021   B.1.1.7	0,03 TCID <sub>50</sub> /mL
Uganda/MUWRP-20200195568/2020   A.23.1	0,03 TCID <sub>50</sub> /mL
USA/PHC658/2021   B.1.617.2	0,03 TCID <sub>50</sub> /mL
USA/MD-HP05285/2021   B.1.617.2	0,03 TCID <sub>50</sub> /mL
USA/CA/VRLC009/2021   B.1.427	0,03 TCID <sub>50</sub> /mL
USA/CA/VRLC012/2021   P.2	0,03 TCID <sub>50</sub> /mL
USA/MD-HP03056/2021   B.1.525	0,03 TCID <sub>50</sub> /mL
USA/CA-Stanford-15_S02/2021   B.1.617.1	0,03 TCID <sub>50</sub> /mL
Perù/un-CDC-2-4069945/2021   C.37	0,03 TCID <sub>50</sub> /mL
USA/MD-HP20874/2021   B.1.1.529	0,03 TCID <sub>50</sub> /mL
USA/GA-EHC-2811C/2021   B.1.1.529	0,03 TCID <sub>50</sub> /mL

Tabella 4: Riepilogo della reattività analitica per SARS-CoV-2 (continua)

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

\*Ceppo utilizzato per stabilire il valore LoD.

<sup>1</sup> L'analisi in silico ha mostrato un'omologia del 100% con le regioni di amplificazione. La degradazione del ceppo virale o un errore nella quantificazione del TCID<sub>50</sub>/mL potrebbero aver influito sulla concentrazione al 100% di rilevamento.

<sup>2</sup> L'analisi in silico ha identificato una singola discrepanza nell'oligo della sonda per una regione. Grazie alla posizione della discrepanza e all'omologia al 100% con la seconda regione, non si prevede che il rilevamento ne risenta. La degradazione del ceppo virale o un errore nella quantificazione del TCID<sub>50</sub>/mL potrebbero aver influito sulla concentrazione al 100% di rilevamento.

## Reattività - Analisi in silico

L'inclusività del Aptima SARS-CoV-2 Assay è stata valutata utilizzando l'analisi in silico degli oligonucleotidi di cattura del target del test, dei primer di amplificazione e delle sonde di rilevamento per i sistemi target SARS-CoV-2 in relazione alle sequenze disponibili nei database genici NCBI e GISAID. Qualsiasi sequenza con informazioni mancanti o ambigue è stata rimossa dall'analisi per quella regione. Sulla base dell'analisi in silico delle sequenze GISAID e NCBI disponibili per la SARS-CoV-2 (campionamento casuale del 10% di 16.553.661 milioni di sequenze fino al 31 luglio 2023 e tutte le 508.436 sequenze dal 1° agosto 2023 al 31 gennaio 2024), si prevede che il Aptima SARS-CoV-2 Assay rilevi il 99,98% (2.136.815/2.137.175 sequenze) di tutte le sequenze valutate.

Le sequenze valutate includevano linee genetiche e varianti di interesse (VOC) o varianti sotto indagine (VUI) che potrebbero avere importanti proprietà epidemiologiche, immunologiche o patogene dal punto di vista della salute pubblica. Si prevede che tutti i lignaggi e le varianti di interesse per la salute pubblica identificati al 31 gennaio 2024 saranno rilevati; nuove sequenze e varianti continueranno a essere monitorate per verificarne l'impatto sul rilevamento da parte del Aptima SARS-CoV-2 Assay.

## Specificità analitica e interferenza microbica

La specificità analitica (reattività crociata) e l'interferenza microbica con il Aptima SARS-CoV-2 Assay sono state valutate in presenza di organismi strettamente correlati e non bersaglio. Panel composti da 48 organismi (Tabella 5) sono stati testati nella matrice VTM/UTM del tampone NP clinico negativo elaborato in assenza o presenza di SARS-CoV-2 con LoD 3X. I batteri sono stati testati a  $10^6$  CFU/mL e i virus a  $10^5$  TCID<sub>50</sub>/mL, salvo diversa indicazione. Non è stata osservata alcuna reattività crociata o interferenza microbica per nessuno dei 48 organismi testati con il Aptima SARS-CoV-2 Assay alle concentrazioni indicate. L'analisi della reattività crociata in silico di 112 sequenze GenBank valutate non ha previsto alcuna interferenza microbica da reattività crociata.

Tabella 5: Specificità analitica e interferenza microbica di Aptima SARS-CoV-2 Microrganismi

Microrganismo	Concentrazione <sup>1</sup>	Microrganismo	Concentrazione <sup>1</sup>
Adenovirus 1	$1 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Aspergillus fumigatus</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Adenovirus 7a	$1 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Bordetella parapertussis</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Ceppo CMV AD 169	$5 \times 10^3$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Bordetella pertussis</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
EBV	$1 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Candida albicans</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Enterovirus tipo 71	$1 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Coronavirus umano 229E	$1 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Coronavirus umano OC43	$1 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Escherichia coli</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Coronavirus umano HKU1 <sup>2</sup>	$1 \times 10^6$ copie/mL	<i>Fusobacterium necrophorum</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Coronavirus umano NL63	$1 \times 10^4$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Haemophilus influenzae</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Metapneumovirus umano (hMPV)	$1 \times 10^6$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Lactobacillus plantarum</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Influenza A	$1 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Legionella pneumophila</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Influenza B	$2 \times 10^3$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Moraxella catarrhalis</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Morbillo	$1 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Coronavirus MERS	$1 \times 10^4$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Mycoplasma genitalium</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Parotite	$1 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Virus parainfluenzale 1	$1 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Virus parainfluenzale 2	$1 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Neisseria meningitidis</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Virus parainfluenzale 3	$1 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Neisseria mucosa</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Virus parainfluenzale 4	$1 \times 10^3$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Pneumocystis jirovecii (PJP)</i>	$1 \times 10^6$ nuclei/mL
Virus respiratorio sinciziale	$1 \times 10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Rinovirus	$1 \times 10^4$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Stafilococcus aureus</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
SARS-coronavirus <sup>2</sup>	$1 \times 10^6$ copie/mL	<i>Staphylococcus epidermis</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Virus varicella-zoster	$1 \times 10^4$ TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
Lavaggio nasale umano in pool <sup>3</sup> - per rappresentare la flora microbica diversificata nel tratto respiratorio umano	N/A	<i>Streptococcus pyogenes</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL
		<i>Streptococcus salivaris</i>	$1 \times 10^6$ CFU/mL

<sup>1</sup> CFU = Unità formanti colonie; TCID<sub>50</sub> = Dose infettiva mediana della coltura tissutale

<sup>2</sup> Il virus coltivato e l'acido nucleico purificato dell'intero genoma per il coronavirus umano HKU1 e il coronavirus SARS non sono facilmente disponibili. Gli IVT di HKU1 e del SARS-Coronavirus corrispondenti alle regioni del gene ORF1ab interessato nel test sono stati utilizzati per valutare la reattività crociata e l'interferenza microbica.

<sup>3</sup> Invece di valutare il lavaggio nasale umano in pool, è stato eseguito il test di 30 campioni individuali di tamponi NP clinici negativi per rappresentare la flora microbica diversificata nel tratto respiratorio umano.

## Interferenza

Le sostanze interferenti endogene ed esogene (mucina, sangue intero, potenziali farmaci e prodotti da banco) che potrebbero essere presenti nei campioni sono state valutate nel Aptima SARS-CoV-2 Assay. Concentrazioni clinicamente rilevanti di sostanze potenzialmente interferenti sono state aggiunte alla matrice VTM/UTM del tampone NP clinicamente negativo e testate in assenza e in presenza del virus inattivato SARS-CoV-2 a 3X LoD. Le sostanze e le concentrazioni sono mostrate in Tabella 6.

Non è stato riscontrato alcun impatto sulle prestazioni del Aptima SARS-CoV-2 Assay per nessuna delle sostanze alla concentrazione testata.

Tabella 6: Sostanze potenzialmente interferenti

Tipo di sostanza	Nome della sostanza	Principio(i) attivo(i)	Concentrazione di prova più elevata*
Sostanza endogena	Mucina	Proteina mucina purificata	60 Mg/mL
	Sangue (umano)	N/A	2% v/v
Gocce o spray nasali	Neo-Sinefrina®	Fenilefrina	15% v/v
	Anefrin	Ossimetazolina	15% v/v
	Fisiologica	Cloruro di sodio	15% v/v
	Ventolin HFA <sup>2</sup>	Albuterolo	45 ng/mL
	QVAR® Beconase AQ <sup>2</sup>	Beclometasone	15 ng/mL
Corticosteroidi nasali	Dexacort <sup>2</sup>	Desametasone	12 Mg/mL
	Flonase	Fluticasone	v/v al 5%
	Nasacort	Triamcinolone	v/v al 5%
	Rhinocort	Budesonide	v/v al 5%
	Nasonex <sup>2</sup>	Mometasone	0,5 ng/mL
	AEROSPAN® <sup>2</sup>	Flunisolide	9,9 Mg/mL
Gel nasale	Zicam® (solievo dalle allergie)	Luffa operculata, Galphimia, Glauca, Histaminum hydrochloricum, zolfo	v/v al 5%
Pastiglie per la gola	Cepacol Super Forte	Benzocaina, mentolo	0,7 mg/mL
	Pastiglia per la gola Cold-Eeze	Gluconato di zinco	0,7 mg/mL
Farmaci antivirali	Relenza® <sup>2</sup>	Zanamivir	3,3 mg/mL
	TamiFlu <sup>2</sup>	Oseltamivir	399 ng/mL
	Virazolo <sup>2</sup>	Ribavirin	10,5 Mg/mL
Antibiotico, unguento nasale	Crema Bactroban <sup>2</sup>	Mupirocina	1,6 Mg/mL
Antibatterico, sistemico	Tobramicina <sup>2</sup>	Tobramicina	33,1 Mg/mL
Controllo del solvente	Acqua	N/A	v/v al 5%
	Dimetilsolfossido (DMSO)	N/A	v/v al 5%

\* 1 v/v: volume per volume

<sup>2</sup> Principio attivo testato, non sostanza

## Contaminazione da carryover

Il tasso di contaminazione da carryover del Aptima SARS-CoV-2 Assay è stato valutato testando panel ad alto titolo costituiti dal virus SARS-CoV-2 nella matrice VTM/UTM del tampone NP clinico negativo, arricchita a 100 TCID<sub>50</sub>/mL (10.000 volte il LoD del test). I panel positivi sono stati testati secondo uno schema a scacchiera, alternati a panel negativi. I test consistevano in 588 test validi, negativi e positivi, eseguiti su tre sistemi Panther. Il Aptima SARS-CoV-2 Assay ha osservato un tasso di carryover dello 0% (0/294).

## Precisione del test

La precisione intra-laboratorio del Aptima SARS-CoV-2 Assay è stata valutata con un panel di 4 elementi costituito dal virus nella matrice VTM/UTM del tampone NP clinico negativo. Il panel composto da 4 membri includeva un panel negativo, un alto negativo (0,1X LoD), un basso positivo (1X LoD) e uno moderatamente positivo (5X LoD). I panel sono stati testati da due operatori, utilizzando tre lotti di reagenti su tre sistemi Panther nell'arco di sei giorni. Sono state eseguite due corse al giorno per operatore, per un totale di 36 corse. Ciascuno dei quattro panel è stato testato in tre repliche per ciclo, per un totale di 108 repliche per panel.

La concordanza con i risultati attesi è stata del 100% nei membri del panel negativo, basso positivo e moderatamente positivo. Il membro del panel alto negativo era 10 volte al di sotto del LoD del test, pertanto ci si attendeva un mix di risultati positivi e negativi. Questo panel ha avuto 68/108 (63%) risultati positivi. L'accordo con i risultati attesi per tutti e quattro i panel è mostrato in Tabella 7.

Tabella 7: Concordanza dei risultati del Aptima SARS-CoV-2 Assay con i risultati attesi

Descrizione del panel	Composizione del panel	Conc. del panel TCID <sub>50</sub> /mL	Risultato atteso	N Positivo	N Testato	kRLU medio	Accordo con le previsioni (95% CI)
<b>Negativo</b>	N/A	N/A	Negativo	0	108	289	100% (96,6-100)
<b>Alto negativo</b>	0,1xLoD	0,001	N/A	68	108	627	N/A
<b>Basso positivo</b>	1,0xLoD	0,01	Positivo	108	108	1131	100% (96,6-100)
<b>Moderatamente positivo</b>	5,0xLoD	0,05	Positivo	108	108	1147	100% (96,6-100)

La variabilità totale del segnale SARS-CoV-2 misurata come %CV variava dal 2,75% al 3,84% nei membri del panel negativo, basso positivo e moderatamente positivo. Per le fonti di variazione tutti e sei i fattori valutati avevano valori %CV <3,0% come mostrato in Tabella 8. Il membro del panel alto negativo è 10 volte al di sotto del LoD del test e si prevede che il %CV per questo panel sia più alto rispetto agli altri. La fonte di variabilità più elevata per questo panel è stata la variabilità intra-sessione.

Tabella 8: Variabilità del segnale kRLU del Aptima SARS-CoV-2 Assay per membro del panel

Panel	Tra i giorni		Tra gli strumenti		Tra gli operatori		Tra i lotti		Tra le serie		All'interno delle sessioni		Totale	
	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
<b>Negativo</b>	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
<b>Alto negativo*</b>	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
<b>Basso positivo</b>	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
<b>Moderata mente positivo</b>	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

\*Il panel è stato costruito a 10 volte al di sotto del LoD del test. In questo panel è prevista una maggiore variabilità.

Nota: Nel caso in cui la variabilità di alcuni fattori sia numericamente negativa, SD e CV vengono mostrati come 0,0.

## Equivalenza del dispositivo di raccolta

L'equivalenza tra i campioni NP raccolti in VTM/UTM e i campioni NP e i tamponi nasali raccolti in RespDirect (eSTM) è stata valutata testando campioni negativi individuali e panel artificiali preparati da campioni clinici accoppiati raccolti da pazienti con sintomi di infezione respiratoria o sottoposti a screening per SARS-CoV-2. I panel artificiali sono stati preparati aggiungendo campioni di NP di donatori individuali abbinati e campioni di tamponi nasali solo per RespDirect, con SARS-CoV-2 a 2X e 5X LoD.

I risultati dei panel negativi e artificiali hanno dimostrato sensibilità e specificità comparabili tra i due dispositivi di raccolta (Tabella 9).

Tabella 9: Risultati di panel negativi e artificiali composti da campioni clinici di donatori individuali accoppiati (NP per VTM/UTM e NP/tampone nasale per RespDirect), raccolti con ciascun dispositivo di raccolta arricchito con SARS-CoV-2

Analita	Concentrazione del campione	N per dispositivo di raccolta	VTM/UTM-NP % Positivo	RespDirect-NP % Positivo	RespDirect-tampone nasale % Positivo
<b>Nessuno (Campione negativo)</b>	0	150	0	0	0
<b>SARS-CoV-2</b>	2X LoD	50	100	100	100
	5X LoD	50	100	100	100

## Riproducibilità

La riproducibilità del Aptima SARS-CoV-2 Assay è stata valutata in tre siti degli Stati Uniti utilizzando un membro del panel negativo e due positivi. L'analisi è stata eseguita utilizzando un lotto di reagenti del test e sei operatori (due per ciascun sito). Presso ogni sito, l'analisi è stata eseguita per almeno cinque giorni. Ciascuna sessione analitica è stata caratterizzata da tre repliche di ciascun elemento del panel.

Un membro del panel negativo è stato creato utilizzando campioni di tamponi NP clinici negativi aggregati in VTM/UTM elaborati in STM (ovvero matrice negativa). I membri positivi del panel sono stati creati aggiungendo concentrazioni di virus SARS-CoV-2 inattivato pari a 1-2 volte il LoD (basso positivo) o 3-5 volte il LoD (moderatamente positivo) nella matrice negativa.

La concordanza con il risultato previsto è stata 100% per tutti gli elementi del panel.

La variabilità totale del segnale SARS-CoV-2, misurata come %CV, era  $\leq 7,93\%$  (DS inferiore o uguale a 91,35) per tutti i membri del panel positivo (Tabella 10).

Tabella 10: Variabilità del segnale kRLU del Aptima SARS-CoV-2 Assay per membro del panel

Descrizione del panel	N	kRLU medio	Tra i siti		Tra operatori/ sessioni <sup>1</sup>		Tra i giorni		All'interno delle sessioni		Totale	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Negativo	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 basso 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 = coefficiente di variazione, Mod = moderato, Pos = positivo, kRLU = unità di luce relativa  $\times 1000$ , DS = deviazione standard.

<sup>1</sup> Tra operatori può essere confuso con Tra sessioni; pertanto, le stime Tra operatori e Tra sessioni vengono combinate in Tra operatori/sessioni.

## Prestazioni cliniche

Sono stati eseguiti due studi clinici. Le prestazioni cliniche del Aptima SARS-CoV-2 Assay sono state stimate in campioni di NP raccolti in modo prospettico nello studio clinico 1 e in campioni di tampone nasale raccolti in modo prospettico nello studio clinico 2.

### Studio clinico 1: Studio clinico prospettico - Campioni di tampone nasofaringeo

Questo studio è stato condotto per dimostrare le caratteristiche delle prestazioni cliniche del Aptima SARS-CoV-2 Assay nei campioni di tampone NP. È stato condotto uno studio prospettico multicentrico utilizzando campioni di tamponi NP residui di individui di sesso maschile e femminile di tutte le età che presentavano segni e/o sintomi di infezione respiratoria compatibili con COVID-19, virus dell'influenza o RSV. Quattro ospedali pediatrici/adolescenziali, privati e/o universitari statunitensi partecipanti hanno fornito in modo prospettico campioni di tamponi NP rimanenti conservati in un mezzo di trasporto virale (VTM). Questi campioni sono stati testati in tre siti statunitensi con il Aptima SARS-CoV-2 Assay.

Il Aptima SARS-CoV-2 Assay è stato valutato per le prestazioni SARS-CoV-2 confrontando i risultati ottenuti da campioni di tampone NP in UTM/VTM con un algoritmo di confronto composito (CCA) costituito da due test molecolari SARS-CoV-2 EUA della FDA statunitense altamente sensibili e un test PCR convalidato seguito da sequenziamento bidirezionale (PCR/BDS). Un risultato CCA finale è stato assegnato quando due dei tre risultati del test di confronto erano concordanti.

Dei 1646 campioni arruolati durante lo studio, 300 sono stati raccolti tra giugno 2020 e luglio 2020, mentre i restanti 1346 sono stati raccolti tra gennaio 2023 e aprile 2023. Sono stati testati in totale 1646 campioni di tampone NP in serie valide di Aptima SARS-CoV-2 Assay, di cui 9 (0,5%) con risultati iniziali non validi. Dopo aver ripetuto il test, tutti i 1646 campioni hanno prodotto risultati finali validi. Il set di dati finale era costituito da 1495 campioni di tamponi NP valutabili, di cui 1195 (79,9%) testati freschi e 300 (20,1%) testati dopo il congelamento; 149 campioni di tamponi NP sono stati esclusi dall'analisi a causa di una manipolazione errata nei siti.

Le informazioni demografiche per i 1495 individui valutabili sono fornite in Tabella 11.

*Tabella 11: Riepilogo dei dati demografici dei soggetti per i campioni di tampone NP raccolti prospetticamente valutabili*

<b>Totale</b>		1.495
<b>Sesso</b>	Femmina	842 (56,3%)
	Maschio	651 (43,5%)
	Sconosciuto	2 (0,1%)
<b>Età (anni)</b>	Media	33,3
	Mediana	29,0
	Intervallo	0 – 98
	<5	270 (18,1%)
	5-21	373 (24,9%)
	22-59	499 (33,4%)
	≥60	353 (23,6%)

Le prestazioni del Aptima SARS-CoV-2 Assay con campioni di tampone NP prospettici sono riassunte in Tabella 12. La percentuale di accordo positivo (PPA) è stata calcolata come  $100\% \times (TP / (TP + FN))$ . Vero positivo (TP) indica che sia l'Aptima SARS-CoV-2 Assay che il CCA hanno avuto un risultato positivo per SARS-CoV-2, mentre falso negativo (FN) indica che il risultato dell'Aptima SARS-CoV-2 Assay è stato negativo mentre il CCA è stato positivo. La percentuale di accordo negativa (NPA) è stata calcolata come  $100\% \times (TN / (TN + FP))$ . Vero negativo (TN) indica che sia il Aptima SARS-CoV-2 Assay che il CCA hanno avuto risultati negativi, mentre falso positivo (FP) indica che il risultato del Aptima SARS-CoV-2 Assay è stato positivo mentre il CCA è stato negativo. I campioni NP che hanno ottenuto risultati discordanti sono stati sottoposti a ulteriori test con un test molecolare US FDA EUA SARS-CoV-2, se il volume lo ha consentito.

Tabella 12: Prestazioni del Aptima SARS-CoV-2 Assay con campioni di tampone NP

Tipo di campione di tampone NP	Accordo percentuale positivo			Accordo percentuale negativo		
	TP/(TP+FN)	%	95% CI <sup>1</sup>	TN/(FP+TN)	%	95% CI <sup>1</sup>
Fresco <sup>2</sup>	80/82	97,6	91,5-99,3	1107/1113	99,5	98,8-99,8
Congelato <sup>2</sup>	44/48	91,7	80,4-96,7	251/252	99,6	97,8-99,9
Generale	124/130 <sup>3</sup>	95,4	90,3-97,9	1358/1365 <sup>4</sup>	99,5	98,9-99,8

CI = intervallo di confidenza, FN = falso negativo, FP = falso positivo, TN = vero negativo, TP = vero positivo.

<sup>1</sup> Punteggio CI.

<sup>2</sup> Tutti i campioni freschi sono stati raccolti nel 2023. Tutti i campioni congelati sono stati raccolti nel 2020.

<sup>3</sup> Un (1) campione con un risultato falso negativo è risultato negativo al test molecolare SARS-CoV-2 della FDA statunitense EUA, mentre 4 sono risultati positivi e 1 ha avuto un risultato inconcludente utilizzando lo stesso test. Tutti e 6 i campioni presentavano valori Ct elevati dai test di confronto ( $Ct \geq 30,3$ ) e dal test di risoluzione discordante ( $Ct \geq 30,29$ ), suggerendo bassi carichi virali SARS-CoV-2.

<sup>4</sup> Un (1) campione con un risultato falso positivo è risultato positivo al test molecolare SARS-CoV-2 della FDA statunitense EUA, mentre 5 sono risultati negativi e 1 non ha avuto alcun risultato utilizzando lo stesso test.

## Studio clinico 2: Studio clinico prospettico - Campioni di tampone nasale

Questo studio è stato condotto per dimostrare le caratteristiche delle prestazioni cliniche del Aptima SARS-CoV-2 Assay nei campioni di tampone nasale. Le prestazioni cliniche del Aptima SARS-CoV-2 Assay sono state valutate utilizzando campioni di tampone nasale raccolti in uno studio clinico prospettico multicentrico. Durante la stagione respiratoria 2022-2023, sono stati arruolati in nove siti statunitensi geograficamente ed etnicamente diversi individui di sesso maschile e femminile di tutte le età che presentavano segni e/o sintomi di infezione respiratoria compatibili con COVID-19, virus influenzale o RSV. Sono stati raccolti in modo prospettico due campioni di tampone nasale da ciascun individuo (in un contesto clinico): un campione raccolto utilizzando un tampone flocculato sintetico da un operatore sanitario (HCP) e conservato in UTM/VTM; un campione raccolto dal paziente o dall'HCP utilizzando un tampone flocculato sintetico e conservato in UTM/VTM oppure utilizzando il tampone flocculato RespDirect e conservato in una provetta di cattura diretta contenente eSTM (RespDirect Collection Kit).

Il Aptima SARS-CoV-2 Assay è stato valutato per le prestazioni SARS-CoV-2 confrontando i risultati ottenuti da campioni di tampone nasale in UTM/VTM o in eSTM con un algoritmo di confronto composito (CCA) costituito da due test molecolari SARS-CoV-2 EUA FDA statunitense altamente sensibili e un test PCR/BDS convalidato. Un risultato CCA finale è stato assegnato quando due dei tre risultati del test di confronto erano concordanti.

Dei 2301 soggetti arruolati, sei non soddisfacevano i criteri di ammissibilità e sono stati ritirati. Sono stati testati in totale 2241 campioni in UTM/VTM ed eSTM provenienti da 2295 soggetti non ritirati in serie di Aptima SARS-CoV-2 Assay validi, inclusi 23 (1,0%) con risultati iniziali non validi. Dopo il nuovo test, 13 campioni hanno prodotto risultati validi e 10 hanno prodotto risultati finali non validi, per un totale di 2231 (99,6%) campioni con risultati finali validi. Altri 118 soggetti non sono stati valutabili a causa del prelievo del campione, di risultati Aptima mancanti/non validi o di un risultato CCA sconosciuto, lasciando 2177 individui valutabili per le analisi delle prestazioni, inclusi 1159 con campioni di tampone nasale valutabili in UTM/VTM e 1018 con campioni di tampone nasale valutabili in eSTM.

Le informazioni demografiche per i 2177 individui valutabili sono fornite in Tabella 13.

*Tabella 13: Riepilogo dei dati demografici dei soggetti per i campioni di tampone nasale raccolti in modo prospettico*

<b>Totale</b>		2.177
<b>Sesso</b>	Femmina	1287 (59,1%)
	Maschio	890 (40,9%)
<b>Età (anni)</b>	Media	40,7
	Mediana	40,0
	Intervallo	0 – 90
<b>Stato vaccinale COVID-19</b>	Completamente vaccinato	1451 (66,7%)
	Parzialmente vaccinato	106 (4,9%)
	Non vaccinato	601 (27,6%)
	Sconosciuto	19 (0,9%)
<b>Numero di giorni dall'insorgenza dei sintomi</b>	Media	4,6
	Mediana	3,0
	Intervallo	0 – 60

Le prestazioni del Aptima SARS-CoV-2 Assay con campioni di tampone nasale prospettico sono riassunte in Tabella 14. La percentuale di concordanza PPA e NPA è stata calcolata come descritto per lo studio clinico 1.

*Tabella 14: Prestazioni del Aptima SARS-CoV-2 Assay con campioni di tampone nasale*

Tipo di campione di tampone nasale	Accordo percentuale positivo			Accordo percentuale negativo		
	TP/ (TP+FN)	%	95% CI <sup>1</sup>	TN/ (FP+TN)	%	95% CI <sup>1</sup>
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
Generale	246/251	98,0	95,4-99,1	1884/1926	97,8	97,1-98,4

CI = intervallo di confidenza, eSTM = terreno di trasporto migliorato, FN = falso negativo, FP = falso positivo, TN = vero negativo, TP = vero positivo, UTM/VTM = terreno di trasporto universale/virale.

<sup>1</sup> Punteggio CI.

## Bibliografia

1. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/locs/2020/outbreak-of-2019-novel-coronavirus-2019-ncov-in-wuhan-china.html>. Consultato il 24 febbraio 2025.
2. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/covid/signs-symptoms/index.html>. Consultato il 24 febbraio 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>. Consultato il 24 febbraio 2025.
5. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19). <https://data.who.int/dashboards/covid19/deaths?n=o>. Consultato il 24 febbraio 2025.
6. **Clinical & Laboratory Standards Institute.** Document M29 Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Sito web CLSI [https://www.cdc.gov/niosh/healthcare/respiratory-protection/?CDC\\_AAref\\_Val=https://www.cdc.gov/niosh/npptl/hospresptoolkit/hazardeval.html](https://www.cdc.gov/niosh/healthcare/respiratory-protection/?CDC_AAref_Val=https://www.cdc.gov/niosh/npptl/hospresptoolkit/hazardeval.html). Consultato il 24 febbraio 2025.

## Informazioni di contatto e cronologia delle revisioni



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

Per l'indirizzo e-mail e il numero di telefono dell'assistenza tecnica e del servizio clienti specifici del Paese, visitare [www.hologic.com/support](http://www.hologic.com/support).

Eventuali incidenti gravi che si verificano in relazione al dispositivo nell'Unione Europea devono essere segnalati al produttore e all'autorità competente dello Stato Membro in cui risiede l'utente e/o il paziente.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion, RespDirect e i loghi associati sono marchi commerciali e/o marchi commerciali registrati di Hologic, Inc. e/o delle sue consociate negli Stati Uniti e/o in altri Paesi. Tutti gli altri marchi commerciali che possono apparire in questo foglietto illustrativo appartengono ai rispettivi proprietari.

Questo prodotto potrebbe essere coperto da uno o più brevetti statunitensi identificati su [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

©2017-2025 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-32201-701 Rev. 001  
2025-09

Cronologia delle revisioni	Data	Descrizione
AW-32201-701 Rev. 001	Settembre 2025	• Versione iniziale