

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

Instrucciones de uso
 Para uso diagnóstico *in vitro*.
 Solo con prescripción médica

CONTENIDO

Información general **2**

 Usado previsto 2

 Resumen y explicación de la prueba 2

 Principios del procedimiento 2

 Advertencias y precauciones 3

 Requisitos de manipulación y almacenamiento de reactivos 7

 Recogida y almacenamiento de muestras 8

 Procesamiento de muestras 8

Panther System **11**

 Reactivos y materiales suministrados 11

 Materiales necesarios y disponibles por separado 12

 Procedimiento de prueba del Panther System 13

 Notas del procedimiento 16

Control de calidad **18**

Interpretación de resultados **18**

Limitaciones **19**

Rendimiento analítico **20**

 Sensibilidad analítica 20

 Pruebas del panel de referencia del SARS-CoV-2 de la FDA 21

 Pruebas de reactividad en húmedo 21

 Reactividad: Análisis *in silico* 22

 Especificidad analítica e interferencia microbiana 22

 Interferencia 24

 Contaminación remanente 25

 Precisión del ensayo 25

 Equivalencia de dispositivos de recolección 26

 Reproducibilidad 27

Rendimiento clínico **28**

Bibliografía **31**

Información de contacto e historial de revisiones **32**

Información general

Uso previsto

El Aptima™ SARS-CoV-2 Assay es una prueba diagnóstica de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* destinada a la detección cualitativa de ácido ribonucleico (RNA) del SARS-CoV-2 aislado y purificado a partir de hisopos nasofaríngeos (NP) y nasales obtenidos de individuos sospechosos de infección por COVID-19, que presentan signos y síntomas de una infección del tracto respiratorio.

Los resultados positivos indican la presencia de RNA de SARS-CoV-2; se requiere una correlación clínica con el historial del paciente y otra información de diagnóstico para determinar el estado de infección del paciente. Los resultados positivos no descartan infecciones bacterianas ni coinfección con otros virus.

Los resultados negativos no excluyen la infección por SARS-CoV-2 y no deben usarse como el único criterio para las decisiones de gestión del paciente. Los resultados negativos deben combinarse con observaciones clínicas, el historial del paciente y la información epidemiológica.

El Aptima SARS-CoV-2 Assay en el Panther™ y el Panther Fusion™ System está previsto para su uso por parte del personal de laboratorio clínico con formación e instrucción específicas sobre el funcionamiento del Panther System y el Panther Fusion System, y sobre procedimientos de diagnóstico *in vitro*.

Resumen y explicación de la prueba

Los coronavirus conforman una amplia familia de virus que pueden causar enfermedades en animales o humanos. En humanos, se conocen varios coronavirus que provocan infecciones respiratorias que abarcan desde el resfriado común hasta enfermedades más graves como el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS) y el síndrome respiratorio agudo severo (SARS). El coronavirus descubierto más recientemente, SARS-CoV-2, causa la enfermedad asociada con coronavirus COVID-19. Este nuevo virus y enfermedad eran desconocidos hasta que surgió el brote en Wuhan (China), en diciembre de 2019.¹ Los enfermos de COVID-19 han notificado una amplia gama de síntomas, que abarcan desde síntomas leves a enfermedad grave. Los síntomas pueden aparecer entre 2 y 14 días tras la exposición al virus. Las personas con COVID-19 pueden presentar fiebre o escalofríos, tos, falta de aire o dificultad para respirar, fatiga, dolores musculares o corporales, dolor de cabeza, nueva pérdida del sentido del olfato o del gusto, dolor de garganta, congestión o secreción nasal, náuseas o vómito, o diarrea.² El 11 de marzo de 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasificó el brote de COVID-19 como pandemia.³ Se han registrado más de 760 millones de casos y 6,9 millones de muertes en todo el mundo desde diciembre de 2019, pero se cree que el número real es mayor.^{4,6}

Principios del procedimiento

El Aptima SARS-CoV-2 Assay combina las tecnologías de captura seleccionada, amplificación mediada por transcripción (TMA) y ensayo de cinética doble (DKA).

Las muestras se recogen y, a continuación, se transfieren a sus respectivos tubos de transporte. Las soluciones de transporte contenidas en estos tubos liberan la diana del RNA, lo que ofrece protección contra la degradación durante el almacenamiento. Al procesar el Aptima SARS-CoV-2 Assay en el laboratorio, las moléculas del RNA diana se aíslan de los especímenes mediante el

uso de oligómeros de captura a través de captura seleccionada que emplea micropartículas magnéticas. Los oligómeros de captura contienen secuencias complementarias para regiones específicas de las moléculas diana, así como una cadena de residuos de desoxiadenosina. Se utiliza un oligómero de captura distinto para cada diana. Durante el paso de hibridación, las regiones específicas de la secuencia de los oligómeros de captura se unen a regiones específicas de las moléculas diana. El complejo oligómero de captura diana se captura y extrae a continuación de la solución mediante la disminución de la temperatura de la reacción hasta alcanzar la temperatura ambiente. Esta disminución de temperatura permite que se produzca la hibridación entre la región de la deoxiadenosina del oligómero de captura y las moléculas de polideoxitimidina que están unidas covalentemente a las partículas magnéticas. Las micropartículas, incluidas las moléculas diana capturadas unidas a ellas, se desplazan al lado del tubo de reacción utilizando imanes y se aspira el sobrenadante. Las partículas se lavan para eliminar la matriz de muestras residual, que puede contener inhibidores de la reacción de amplificación. Una vez finalizados los pasos de captura seleccionada, los especímenes están listos para la amplificación.

Los ensayos de amplificación específica se basan en la capacidad de los cebadores de los oligonucleótidos complementarios para anclar de forma específica y permitir la amplificación enzimática de las cadenas de ácido nucleico seleccionadas. El Aptima SARS-CoV-2 Assay replica regiones específicas del RNA del virus SARS-CoV-2. La detección de las secuencias del producto de amplificación del RNA (amplicón) se logra empleando hibridación de ácido nucleico. Las sondas de ácido nucleico quimioluminiscentes monocatenarias, que son exclusivas y complementarias para una región de cada amplicón diana y amplicón de control interno (IC), están marcadas con diferentes moléculas de éster de acridinio (AE). Las sondas marcadas con AE se combinan con el amplicón para formar híbridos estables. El Selection Reagent diferencia las sondas hibridadas de las sondas sin hibridar y elimina la generación de señal de las sondas sin hibridar. Durante el paso de detección, se mide la luz emitida por los híbridos marcados como señales de fotones en un luminómetro y se notifica como unidades relativas de luz (RLU). En el DKA, las diferencias en los perfiles cinéticos de las sondas marcadas permiten la diferenciación de la señal; los perfiles cinéticos se derivan de mediciones de la emisión de fotones durante el tiempo de lectura de detección. La reacción de detección quimioluminiscente para la señal de IC tiene cinéticas muy rápidas y el tipo cinético “flasher”. La reacción de detección quimioluminiscente para la señal del SARS-CoV-2 es relativamente más lenta y tiene el tipo cinético “glower”. Los resultados del ensayo se determinan mediante un valor límite con base en las RLU totales y el tipo de curva cinética.

El Aptima SARS-CoV-2 Assay amplifica y detecta dos regiones conservadas del gen ORF1ab en la misma reacción, utilizando el mismo tipo cinético “glower”. Las dos regiones no son diferenciadas y la amplificación de una o de las dos regiones provoca la señal de RLU. Los resultados del ensayo se determinan mediante un valor límite con base en las RLU totales y el tipo de curva cinética.

Advertencias y precauciones

- A. Para uso diagnóstico *in vitro*.
- B. Lea detenidamente todo el prospecto y el *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System*.
- C. Para uso profesional.

Información para los laboratorios

- D. Estos procedimientos solo deben realizarlos personal formado adecuadamente en el uso de este ensayo y en la manipulación de material potencialmente infeccioso. Si se produce algún vertido, desinfecte inmediatamente siguiendo los procedimientos adecuados del centro.
- E. Manipule y procese todos los especímenes como si fueran infecciosos siguiendo las prácticas y procedimientos del laboratorio, que resultan básicos con arreglo a las buenas prácticas y procedimientos microbiológicos (GMPP). Consulte las directrices provisionales de bioseguridad en laboratorios de la OMS con respecto a la enfermedad del coronavirus (COVID-19). [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. Las muestras pueden ser infecciosas. Tome las precauciones universales al realizar este ensayo. El director del laboratorio debe establecer métodos de manipulación y eliminación adecuados. Solo se debe permitir la realización de este procedimiento de diagnóstico al personal con la formación necesaria en manipulación de materiales infecciosos.⁶
- G. Ante la sospecha de infección por SARS-CoV-2 con base en los criterios clínicos aplicables actualmente y recomendados por las autoridades sanitarias, las muestras deben recogerse adoptando las precauciones adecuadas de control de infecciones.
- H. Utilice únicamente el instrumental de laboratorio desechable suministrado o especificado.
- I. Utilice el equipo de protección personal adecuado al recoger y manipular especímenes de individuos sospechosos de estar infectados con SARS-CoV-2 como describen las Directrices provisionales de bioseguridad en laboratorios para la manipulación y el procesamiento de especímenes asociados con el nuevo coronavirus 2019 (2019-nCoV) de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC).
- J. Utilice guantes desechables sin polvo, gafas protectoras y batas de laboratorio al manipular muestras y reactivos. Lávese las manos cuidadosamente después de manipular las muestras y los reactivos.
- K. Deseche todos los materiales que hayan estado en contacto con las muestras y los reactivos, según las normas regionales, nacionales e internacionales vigentes.
- L. Utilice las buenas prácticas estándar para laboratorios moleculares, incluida la vigilancia medioambiental. Consulte *Protocolo de control de la contaminación del laboratorio para el Panther System*.

Información sobre las muestras

- M. Las fechas de vencimiento que figuran en los Panther Fusion Specimen Lysis Tubes y en el kit de recolección RespDirect™ se refieren a la transferencia de la muestra al tubo y no a la prueba de la muestra. Las muestras recogidas/transferidas en cualquier momento antes de estas fechas de caducidad son válidas para las pruebas siempre que hayan sido transportadas y almacenadas de acuerdo con el prospecto, incluso si las fechas de caducidad indicadas en el tubo de transferencia han vencido.



- N. Mantenga las condiciones de almacenamiento apropiadas durante el envío de muestras para garantizar su integridad. No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de envío distintas a las recomendadas.
- O. Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de muestras. Las muestras pueden contener concentraciones extremadamente altas de virus u otros microorganismos. Asegúrese de que los recipientes de muestras no entren en contacto unos con otros, y deseche los materiales usados sin hacerlos pasar por los recipientes abiertos. Cambie de guantes si entran en contacto con las muestras.

Información sobre el ensayo

- P. No utilice los reactivos ni los controles después de la fecha de caducidad.
- Q. Guarde los componentes del ensayo bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas. Consulte *Requisitos de manipulación y almacenamiento de reactivos* (página 7) y *Procedimiento de prueba del Panther System* (página 13) para obtener más información.
- R. No combine los reactivos ni los fluidos del ensayo. No rellene los reactivos ni los fluidos; el Panther System verifica los niveles de reactivo.
- S. Evite la contaminación microbiana y por ribonucleasa de los reactivos.
- T. No utilice materiales que puedan contener tiocianato de guanidina ni ningún otro material que contenga guanidina en el instrumento. Pueden formarse compuestos elevadamente reactivos o tóxicos si se combinan con hipoclorito de sodio.
- U. Un reactivo de este kit está etiquetado con símbolos de riesgo y seguridad.

Nota: La comunicación de peligros refleja las clasificaciones de las fichas de datos de seguridad (SDS) de la UE. Para obtener información sobre la comunicación de peligros específica de su región, consulte la SDS específica de la región en la Biblioteca de fichas de datos de seguridad en www.hologic.com. Para obtener más información sobre los símbolos, consulte la leyenda de los símbolos en www.hologic.com/package-inserts.

Información sobre riesgos de la UE	
<p>Amplification Reagent HEPES 25-30 %</p> <p>—</p>	<p>—</p> <p>H402 - Nocivo para los organismos acuáticos. H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.</p>
<p>Enzyme Reagent Triton X-100 1-5 % HEPES 1-5 %</p> <p>—</p>	<p>—</p> <p>H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.</p>

<p>Enzyme Reconstitution Solution <i>Glicerina 20-25 %</i> <i>Triton X-100 5-10 %</i> <i>HEPES 1-5 %</i></p> <p>—</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.</p>
<p>Probe Reagent <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt al 35-40 %</i> <i>Ácido butanodiólico al 10-15 %</i></p> <p>—</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.</p>
<p>Selection Reagent <i>Ácido bórico al 1-5 %</i> <i>Tritón X-100 al 1-5 %</i> <i>Hidróxido de sodio <1 %</i></p> <p></p> <p>Peligro H315 - Provoca irritación cutánea. H360FD - Puede perjudicar la fertilidad. Puede dañar el feto.</p> <p></p> <p>P264 - Lavarse la cara, las manos y las áreas de la piel expuestas concienzudamente tras la manipulación. P280 - Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P302 + P352 - EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante agua y jabón. P321 - Se necesita un tratamiento específico (ver las instrucciones adicionales de primeros auxilios en la SDS). P332 + P313 - En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico. P362 + P364 - Quitar las prendas contaminadas y lávelas antes de volver a usarlas. P201 - Solicitar instrucciones especiales antes de su uso. P202 - No manipular la sustancia antes de haber leído y comprendido todas las precauciones de seguridad. P308 + P313 - EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Consultar a un médico. P405 - Guardar bajo llave. P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.</p>
<p>Target Capture Reagent <i>HEPES AL 5-10 %</i> <i>ÁCIDO ETILENDIAMINOTETRACETICO AL 1-5 %</i> <i>LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATEAL 1-5 %</i></p> <p>—</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Eliminar el contenido/envase en una planta autorizada de eliminación de residuos.</p>

Requisitos de manipulación y almacenamiento de reactivos

- A. La tabla siguiente muestra las condiciones de conservación y la estabilidad de los reactivos y los controles.

Reactivo	Almacenamiento sin abrir	Kit abierto (reconstituido)	
		Almacenamiento	Estabilidad
Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reagent	De 2 °C a 8 °C	N/A	N/A
Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reagent	De 2 °C a 8 °C	N/A	N/A
Aptima SARS-CoV-2 Probe Reagent	De 2 °C a 8 °C	N/A	N/A
Control interno Aptima SARS-CoV-2	De 2 °C a 8 °C	N/A	N/A
Control positivo Aptima SARS-CoV-2	De 2 °C a 8 °C	N/A	N/A
Control negativo Aptima SARS-CoV-2	De 2 °C a 8 °C	N/A	N/A
Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reconstitution Solution	De 2 °C a 30 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días
Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reconstitution Solution	De 2 °C a 30 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días
Aptima SARS-CoV-2 Probe Reconstitution Solution	De 2 °C a 30 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días
Aptima SARS-CoV-2 Selection Reagent	De 2 °C a 30 °C	De 2 °C a 30 °C	30 días
Aptima SARS-CoV-2 Target Capture Reagent	De 15 °C a 30 °C	De 15 °C a 30 °C	30 días

- B. Si el Selection Reagent se almacena refrigerado, permita que alcance la temperatura ambiente antes de colocarlo en el Panther System.
- C. El working Target Capture Reagent (wTCR) permanece estable durante 30 días cuando se almacena entre 15 °C y 30 °C. No refrigerar.
- D. Después de la reconstitución, el Enzyme Reagent, el Amplification Reagent y el Probe Reagent permanecen estables durante 30 días cuando se almacenan a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C.
- E. Deseche los reactivos reconstituidos y el wTCR sin usar después de 30 días o una vez pasada la fecha de caducidad del lote maestro, lo que suceda primero.
- F. Los controles son estables hasta la fecha indicada en los viales.
- G. Los reactivos almacenados en el Panther System tienen 120 horas de estabilidad en el instrumento.
- H. El Probe Reagent y el Probe Reagent reconstituido son fotosensibles. Almacene los reactivos protegidos de la luz. La estabilidad reconstituida especificada se basa en 12 horas de exposición del Probe Reagent reconstituido a dos bombillas fluorescentes de 60 W, a una distancia de 43 cm (17 pulg.) y a una temperatura inferior a 30 °C. La exposición a la luz del Probe Reagent reconstituido debe limitarse consecuentemente.

- I. Una vez calentados a temperatura ambiente, algunos tubos de controles pueden presentar turbidez o contener precipitados. La turbidez o la precipitación asociada a los controles no afecta al rendimiento del control. Los controles se pueden utilizar tanto si presentan un aspecto claro como turbio/precipitado. Si se desean controles claros, se puede acelerar la solubilización incubándolos en el extremo superior del rango de temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C).
- J. **No congele los reactivos.**

Recogida y almacenamiento de muestras

Muestras: material clínico recogido del paciente y colocado en un sistema de transporte adecuado. Para el Aptima SARS-CoV-2 Assay, esto incluye muestras de hisopados nasales y NP recolectadas en medio de transporte viral (VTM/UTM) o medio de transporte de especímenes mejorado (eSTM) con el kit de recolección RespDirect.

Muestras: representan un término más genérico para describir cualquier material para analizar en el Panther System, incluidos los especímenes, los especímenes transferidos a un tubo de lisado de muestras Panther Fusion y los controles.

Nota: *Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes posiblemente infecciosos. Respete las precauciones universales.*

Nota: *Tenga cuidado de evitar la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de muestras. Por ejemplo, deseche el material usado sin hacerlo pasar sobre tubos abiertos.*

Recogida de muestras

Recoja muestras de hisopados NP y nasales de acuerdo con la técnica estándar utilizando un hisopo con punta de poliéster, rayón o nailon. Coloque inmediatamente la muestra de hisopado en 3 ml de VTM o UTM. También se pueden recolectar muestras de hisopados NP y nasales con el kit de recolección RespDirect.

Los siguientes tipos de VTM/UTM se verificaron para su uso con el Aptima SARS-CoV-2 Assay:

- Formulaciones MicroTest Remel, M4RT, M5 o M6
- Medio de transporte universal Copan
- Medio de transporte viral universal BD
- Medio de transporte viral de Hardy Diagnostics

Procesamiento de muestras

Procesamiento de muestras con el Panther Fusion Specimen Lysis Tube

1. Antes de realizar la prueba en el sistema Panther, transfiera 500 µL de la muestra recolectada en UTM o VTM a un Panther Fusion Specimen Lysis Tube.

Nota: *Al analizar una muestra congelada, permita que alcance la temperatura ambiente antes del procesamiento.*

Procesamiento de muestras con el tubo de carga directa mejorado (kit de recolección RespDirect)

1. Después de recolectar la muestra en el tubo de carga directa mejorado (kit de recolección RespDirect), la muestra se puede cargar en el Panther System.

Nota: Si se observan coágulos, las muestras se pueden agitar en un vórtice de varios tubos durante 5 a 10 minutos a 1800 rpm (o en la configuración 5 en el Cat. N.º 102160G).

Como alternativa, los tubos individuales pueden agitarse manualmente durante 15 segundos a la velocidad máxima en un agitador vórtice de banco estándar.

Si ya se perforaron previamente, vuelva a tapar los tubos con una tapa penetrable nueva antes de agitarlos.

Si se obtiene un resultado CLT al volver a realizar la prueba, recolecte una nueva muestra.

Nota: Al probar una muestra congelada, deje que esta alcance la temperatura ambiente antes de cargarla en el Panther System.

Nota: Si el laboratorio recibe un tubo de carga directa mejorada (kit de recolección RespDirect) sin hisopo o con dos hisopos, la muestra se debe rechazar.

Almacenamiento de muestras*Almacenamiento de muestras con el Panther Fusion Specimen Lysis Tube*

1. Después de la recolección, las muestras de hisopados nasales y NP en VTM/UTM se pueden almacenar a una temperatura de 2 °C a 8 °C hasta 96 horas antes de transferirlas al tubo de lisis de muestras Panther Fusion. Los volúmenes de muestra restantes se pueden almacenar en ≤-70 °C. Se deben minimizar los ciclos de congelación y descongelación debido al potencial de degradación de la muestra.
2. Las muestras en el tubo de lisis de muestras Panther Fusion se pueden almacenar en las siguientes condiciones:
 - Entre 15 °C y 30 °C hasta 6 días, o
 - entre 2 °C y 8 °C, -20 °C y -70 °C por hasta 3 meses. Los ciclos de congelación y descongelación deben minimizarse debido al potencial riesgo de degradación de la muestra.
3. Las muestras previamente analizadas deben cubrirse con un papel de aluminio o una película de plástico limpios y nuevos.
4. Si es necesario congelar o enviar las muestras analizadas, quite los tapones perforables y coloque tapones no perforables nuevos en los tubos de muestras. Si es necesario enviar las muestras para su análisis a otro laboratorio, se deben mantener las temperaturas recomendadas. Antes de destapar las muestras anteriormente analizadas y tapadas, se deben centrifugar los tubos de muestras durante 5 minutos a una fuerza centrífuga relativa (RCF) de 420 para llevar todo el líquido al fondo del tubo. Evite salpicaduras y todo tipo de contaminación cruzada.

Almacenamiento de muestras con el tubo de carga directa mejorado (kit de recolección RespDirect)

1. Las muestras de hisopados NP y nasales se pueden almacenar en las siguientes condiciones:
 - Entre 15 °C y 30 °C hasta 6 días, o
 - entre 2 °C y 8 °C, -20 °C y -70 °C por hasta 3 meses. Los ciclos de congelación y descongelación deben minimizarse debido al potencial riesgo de degradación de la muestra.
2. Las muestras previamente analizadas deben cubrirse con un papel de aluminio o una película de plástico limpios y nuevos.
3. Si es necesario congelar o enviar las muestras analizadas, quite los tapones perforables y coloque tapones no perforables nuevos en los tubos de muestras. Si es necesario enviar las muestras para su análisis a otro laboratorio, se deben mantener las temperaturas recomendadas. Antes de destapar las muestras previamente analizadas y volver a taparlas, los tubos de muestras se pueden centrifugar durante 5 minutos a 420 RCF para llevar todo el líquido al fondo del tubo. Evite salpicaduras y todo tipo de contaminación cruzada.

Transporte de muestras

Mantenga las condiciones de almacenamiento de los especímenes tal como se describe en la sección *Recogida y almacenamiento de especímenes* en la página 8.

Nota: *Los especímenes deben enviarse respetando las normativas de transporte regional, nacional e internacional aplicables.*

Panther System

Los reactivos del Aptima SARS-CoV-2 Assay para el uso con el Panther System se indican a continuación. Los símbolos de identificación de los reactivos también se indican junto al nombre del reactivo.

Reactivos y materiales suministrados

Kit de Aptima SARS-CoV-2 Assay PRD-07881

100 pruebas (2 cajas)

Caja refrigerada Aptima SARS-CoV-2 (caja 1 de 2) (conservar entre 2 °C y 8 °C tras la recepción)

Símbolo	Componente	Cantidad Kit de 100 pruebas
A	Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reagent <i>Ácidos nucleicos no infecciosos desecados en solución de tampón. <5 % agente de carga.</i>	1 vial
E	Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reagent <i>Transcriptasa inversa y RNA polimerasa desecadas en solución de tampón HEPES con <10 % de reactivo de carga.</i>	1 vial
P	Aptima SARS-CoV-2 Probe Reagent <i>Sondas de ácido desoxirribonucleico (DNA) quimioluminiscentes no infecciosas desecadas en solución de tampón succinato con <5 % de detergente.</i>	1 vial
IC	Control interno Aptima SARS-CoV-2	1 vial

Caja a temperatura ambiente Aptima SARS-CoV-2 (caja 2 de 2) (conservar entre 15 °C y 30 °C tras la recepción)

Símbolo	Componente	Cantidad Kit de 100 pruebas
AR	Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reconstitution Solution <i>Solución acuosa con conservantes.</i>	1 × 12,2 ml
ER	Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reconstitution Solution <i>Solución de tampón HEPES con un surfactante y glicerol.</i>	1 × 6,6 ml
PR	Aptima SARS-CoV-2 Probe Reconstitution Solution <i>Solución de tampón succinato con <5 % de detergente.</i>	1 × 15,7 ml
S	Aptima SARS-CoV-2 Selection Reagent <i>Solución de tampón borato 600 mM con surfactante.</i>	1 × 45,0 ml
TCR	Aptima SARS-CoV-2 Target Capture Reagent <i>Solución salina de tampón con oligómeros de captura y fase sólida.</i>	1 × 27,0 ml
	Collares de reconstitución	3
	Hoja de códigos de barras del lote maestro	1 hoja

Materiales necesarios y disponibles por separado

Nota: A menos que se indique lo contrario, los materiales comercializados por Hologic aparecen en la lista con su número de referencia.

	<u>N.º de referencia</u>
Panther System	303095
Actualización del módulo Panther Fusion	PRD-04173
Panther Fusion System	PRD-04172
Sistema Panther de desecho continuo de líquidos y residuos (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de fluidos del ensayo Aptima <i>(Solución de lavado Aptima, tampón para fluido de desactivación Aptima y reactivo de aceite Aptima)</i>	303014 (1000 pruebas)
Kit Aptima Auto Detect	303013 (1000 pruebas)
Unidades multitubo (MTU)	104772-02
Juego de bolsas de desechos Panther	902731
Tapa del recipiente de desechos Panther	504405
O el kit de ciclo del Panther <i>contiene MTU, bolsas de desechos, tapas del recipiente de desechos, fluidos del ensayo y reactivos Auto Detect</i>	303096 (5000 pruebas)
Puntas, 1000 µL filtradas, conductoras, detectoras de líquido y desechables <i>No todos los productos están disponibles en todas las regiones. Comuníquese con su representante para obtener información específica de la región</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04128 MME-04134 (30180117 Tecan)
Kit de controles Aptima SARS-CoV-2 <i>PC: Control positivo Aptima SARS-CoV-2. Ácido nucleico no infeccioso en una solución de tampón con <5 % de detergente. Cantidad 5 × 1,7 ml</i> <i>NC: Control negativo Aptima SARS-CoV-2. Una solución tamponada que contiene <5 % detergente. Cantidad 5 × 1,7 ml</i>	PRD-07882
Kit de recolección RespDirect, 50 por caja	PRD-07403
Kit de recolección de muestras de hisopado unisex Aptima para muestras de hisopado endocervical y uretral masculino	301041
Panther Fusion Specimen Lysis Tubes, 100 por bolsa <i>El tubo contiene 0,71 ml de STM con un tapón perforable</i>	PRD-04339
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5 % al 8,25 % (0,7 M a 1,16 M)	—
Guantes desechables	—
Tapones no perforables de repuesto	504415
Tapones de repuesto para los kits de 100 pruebas <i>Soluciones de reconstitución de los Amplification, Enzyme y Probe Reagents</i> <i>TCR y Selection Reagent</i>	— CL0041 (100 tapones) 501604 (100 tapones)

Materiales opcionales

	<u>N.º de referencia</u>
Potenciador de lejía Hologic para limpieza <i>para la limpieza sistemática de las superficies y el equipo</i>	302101
Balancín para tubos	—
Mezclador vórtex multitubo	102160G
Mezclador vórtex de sobremesa	—

Procedimiento de prueba del Panther System

Nota: Consulte el Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System para obtener más información sobre los procedimientos.

A. Preparación del área de trabajo

Limpie las superficies de trabajo en las que se van a preparar los reactivos y las muestras. Limpie las superficies de trabajo con una solución de hipoclorito de sodio entre el 2,5 % y el 3,5 % (0,35 M y 0,5 M). Deje que la solución de hipoclorito de sodio permanezca en contacto con las superficies por lo menos 1 minuto y luego enjuague con agua. No permita que la solución de hipoclorito de sodio se seque. Cubra la superficie de la mesa en la que se vayan a preparar los reactivos y las muestras con cubiertas absorbentes limpias con forro de plástico para mesas de laboratorio.

B. Reconstitución y preparación de reactivos de un nuevo kit

Nota: La reconstitución de reactivos debe realizarse antes de iniciar cualquier tarea con el Panther System.

1. Antes del análisis, los Amplification, Enzyme y Probe Reagents deben reconstituirse combinando el contenido de las botellas de reactivo liofilizado con la solución de reconstitución adecuada.
 - a. Deje que los reactivos liofilizados alcancen la temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) antes de utilizarlos.
 - b. Empareje cada solución de reconstitución con su reactivo liofilizado. Antes de fijar el anillo de reconstitución, asegúrese de que los símbolos de las etiquetas de la solución de reconstitución y del reactivo sean iguales.
 - c. Compruebe los números de lote en la hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que se han emparejado los reactivos adecuados. Etiquete las tapas de los frascos de solución de reconstitución.
 - d. Abra el vial de vidrio del reactivo liofilizado e inserte con firmeza el extremo ranurado del collar de reconstitución en la abertura del vial de vidrio (Figura 1, paso 1).
 - e. Abra la solución de reconstitución correspondiente y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.
 - f. Mientras sostiene el frasco con la solución de reconstitución sobre la mesa, inserte firmemente el otro extremo del collar de reconstitución en la abertura del frasco (Figura 1, paso 2).

- g. Invierta lentamente el conjunto de los frascos. Deje que la solución pase del frasco al vial de vidrio (Figura 1, paso 3).
- h. Levante el conjunto de frascos y agítelo durante al menos 10 segundos. Evite que se forme espuma al agitar el frasco. (Figura 1, paso 4).
- i. Para garantizar que el reactivo liofilizado entre completamente en solución. Agite las botellas nuevamente durante al menos 10 segundos y luego agite suavemente la solución dentro del frasco de vidrio hacia adelante y hacia atrás para mezclar completamente.
- j. Verifique visualmente para ver si el reactivo está completamente en solución sin polvo, grumos o líneas onduladas.
- k. Incline lentamente de nuevo el conjunto de frascos para permitir que toda la solución vuelva al frasco de solución de reconstitución. (Figura 1, paso 5).
- l. Retire el collar de reconstitución y el vial de cristal (Figura 1, paso 6).
- m. Tape la botella de plástico con la tapa etiquetada que guardó y que corresponde al reactivo o con una tapa nueva. No desajuste las tapas. Anote las iniciales del usuario y la fecha de reconstitución en la etiqueta (Figura 1, paso 7).
- n. Deseche el collar de reconstitución y el vial de vidrio (Figura 1, paso 8).
- o. Mezcle bien cada reactivo mediante inversión moderada antes de cargarlo en el Panther System.

Opción: Para una mezcla adicional de los Amplification, Enzyme y Probe Reagents, coloque los frascos de plástico tapados en un balancín para tubos ajustado a una velocidad e inclinación moderadas durante un mínimo de 5 minutos. Asegúrese de que los reactivos estén bien mezclados.

Advertencia: Evite que se forme espuma al reconstituir los reactivos. La espuma afecta a la detección del nivel en el Panther System.

Advertencia: Es necesario que la mezcla de los reactivos sea adecuada para conseguir los resultados del ensayo previstos.

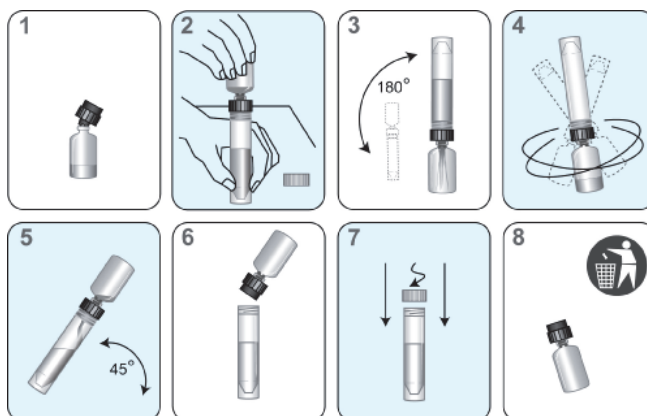


Figura 1. Proceso de reconstitución del Panther System

2. Preparación del working Target Capture Reagent (wTCR)
 - a. Empareje los frascos apropiados de TCR e IC.
 - b. Compruebe los números de lote de los reactivos en la hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que se han emparejado los reactivos adecuados en el kit.
 - c. Abra el frasco de TCR y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.
 - d. Abra el frasco de IC y vierta todo su contenido en el frasco de TCR. Es normal que quede una pequeña cantidad de líquido en el frasco de IC.
 - e. Tape el frasco de TCR y agite la solución con una rotación moderada para mezclar el contenido. Evite que se forme espuma durante este paso.
 - f. Anote las iniciales del usuario y la fecha actual en la etiqueta.
 - g. Deseche el frasco de IC y el tapón.
3. Preparación del Selection Reagent
 - a. Verifique el número de lote del frasco del reactivo para asegurarse de que coincida con el número de lote de la hoja de códigos de barras del lote maestro.
 - b. Anote las iniciales del usuario y la fecha actual en la etiqueta.

Nota: Mezcle bien todos los reactivos mediante inversión moderada antes de cargarlos en el sistema. Evite la formación de espuma durante la inversión de los reactivos.

C. Preparación de los reactivos reconstituidos previamente

1. Los Amplification, Enzyme y Probe Reagents previamente reconstituidos deben alcanzar la temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) antes de que se inicie el ensayo.

Opción: Los frascos de plástico tapados de Amplification, Enzyme y Probe Reagents reconstituidos pueden colocarse en un balancín para tubos a una velocidad e inclinación moderadas durante un mínimo de 25 minutos para garantizar que los reactivos alcancen la temperatura ambiente y se mezclen bien.

2. Si el Probe Reagent reconstituido contiene precipitado que no se disuelve a temperatura ambiente, caliente el frasco tapado a una temperatura que no exceda de 62 °C durante 1 a 2 minutos. Después de este paso de calentamiento, el Probe Reagent se puede utilizar aunque queden residuos del precipitado. Mezcle el Probe Reagent por inversión, con cuidado para evitar la formación de espuma, antes de cargarlo en el sistema.
3. Mezcle bien cada reactivo mediante inversión suave antes de cargarlo en el sistema. Evite la formación de espuma durante la inversión de los reactivos. Este paso puede omitirse si los reactivos se cargan en el sistema directamente tras realizar la mezcla en el balancín para tubos.
4. No rellene los frascos de reactivo. El Panther System reconocerá y rechazará los frascos que se hayan rellenado.
5. *Es necesario que la mezcla de los reactivos sea adecuada para conseguir los resultados del ensayo previstos.*

D. Manipulación de las muestras

Nota: Prepare las muestras siguiendo las instrucciones de procesamiento de muestras indicadas en la sección Recogida y almacenamiento de muestras antes de cargarlos en el Panther System.

1. Inspeccione los tubos de muestras antes de cargarlos en la gradilla. Si un tubo de muestras contiene burbujas o tiene un volumen inferior de lo que se observa generalmente, golpee moderadamente la parte inferior del tubo para transferir el contenido al fondo.

Nota: En el caso de muestras transferidas al Panther Fusion Specimen Lysis Tube, para evitar un error de procesamiento, asegúrese de añadir el volumen de muestra adecuado al tubo. Cuando se añade al tubo la muestra recogida adecuada, hay volumen suficiente para realizar 3 extracciones de ácido nucleico.

Nota: Para el tubo de carga directa mejorada (kit de recolección RespDirect), hay volumen suficiente para realizar 4 extracciones de ácidos nucleicos.

E. Preparación del sistema

1. Prepare el sistema de acuerdo con las instrucciones del *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System* y *Notas del procedimiento*. Asegúrese de utilizar las gradillas para reactivos y los adaptadores de TCR del tamaño adecuado.
2. Cargue las muestras.

Notas del procedimiento

A. Controles

1. Para trabajar correctamente con el software del ensayo Aptima para el Panther System, se requiere un par de controles. Los controles positivo y negativo Aptima SARS-CoV-2 pueden cargarse en cualquier posición de la gradilla o en cualquier carril del compartimento de muestras en el Panther System. El pipeteo de la muestra del paciente comenzará cuando se cumpla una de las dos siguientes condiciones:
 - a. El sistema está procesando actualmente un par de controles.
 - b. Existen resultados válidos para los controles registrados en el sistema.
2. Una vez que los tubos de controles se hayan pipeteado y se estén procesando para un kit de reactivos específico, los especímenes del paciente pueden analizarse con el kit asociado hasta 24 horas, a menos que:
 - a. Los resultados de los controles sean válidos.
 - b. El kit de reactivos del ensayo asociado se retira del sistema.
 - c. El kit de reactivos de ensayo asociado haya superado los límites de estabilidad.
3. Cada tubo de control Aptima se puede analizar una vez. Intentar pipetearlos más de una vez puede generar errores de procesamiento.
4. El pipeteo de la muestra del paciente comienza cuando se cumple una de las dos siguientes condiciones:
 - a. Existen resultados válidos para los controles registrados en el sistema.
 - b. El sistema está procesando actualmente un par de controles.

B. Temperatura

La temperatura ambiente se define como de 15 °C a 30 °C.

C. Polvo de guantes

Como sucede en cualquier sistema de reactivos, el exceso de talco en algunos guantes puede ser causa de contaminación de los tubos abiertos. Se recomienda utilizar guantes sin polvo.

D. Protocolo de control de la contaminación del laboratorio para el Panther System

Existen numerosos factores específicos de los laboratorios que pueden contribuir a la contaminación, incluido el volumen análisis, el flujo de trabajo, la prevalencia de la enfermedad y otras actividades de laboratorio. Estos factores deben tenerse en cuenta al establecer la frecuencia de supervisión de la contaminación. Los intervalos para el control de la contaminación deben establecerse en función de las prácticas y los procedimientos de cada laboratorio.

Para controlar la contaminación del laboratorio, se puede realizar el siguiente procedimiento mediante el uso del kit de recolección de muestras de hisopado unisex Aptima para muestras de hisopado endocervical y uretral masculino:

1. Etiquete los tubos de transporte de hisopado con los números correspondientes a las áreas que se van a analizar.
2. Retire la torunda de recogida de muestras (torunda con vástago azul y texto impreso verde) de su embalaje, humedezca la torunda en el medio de transporte de muestras (STM) y aplique la torunda en el área designada ejerciendo un movimiento circular.
3. Inserte inmediatamente la torunda en el tubo de transporte.
4. Rompa con cuidado el vástago de la torunda por la línea marcada; tenga cuidado de que el contenido no salpique.
5. Vuelva a tapar bien el tubo de transporte de la torunda.
6. Repita los pasos del 2 al 5 en todas las áreas en las que se vaya a aplicar la torunda.

E. Si los resultados son positivos, consulte *Interpretación de resultados*. Para obtener información adicional específica para el Panther System sobre el control de la contaminación, consulte al servicio de asistencia técnica de Hologic.

Control de calidad

El Panther System puede invalidar el resultado de un ciclo o de una muestra si se producen problemas al llevar a cabo el ensayo. Las muestras con resultados no válidos deben analizarse de nuevo.

Controles negativo y positivo

Para generar resultados válidos, se debe analizar un conjunto de controles del ensayo. Debe analizarse una réplica del control de ensayo negativo y del control de ensayo positivo cada vez que se cargue un nuevo kit en el Panther System o cuando el conjunto actual de controles válidos haya caducado.

El Panther System está configurado para que los controles de ensayo se ejecuten en un intervalo especificado por el administrador de hasta 24 horas. El software del Panther System alerta al usuario cuando es necesario ejecutar controles de ensayo y no se iniciarán nuevas pruebas hasta que se hayan cargado los controles de ensayo y se haya iniciado su procesamiento.

Durante el procesamiento, el Panther System verifica automáticamente los criterios de aceptación de los controles de ensayo. Para generar resultados válidos, los controles de ensayo deben superar una serie de comprobaciones de validez realizadas por el Panther System.

Si los controles de ensayo superan todas las comprobaciones de validez, se considerarán válidos para el intervalo de tiempo especificado por el administrador. Cuando haya transcurrido dicho intervalo de tiempo, el Panther System invalidará los controles de ensayo, lo que requiere que se analice un nuevo conjunto de controles de ensayo antes de iniciar el procesamiento de nuevas muestras.

Si alguno de los controles de ensayo no supera las comprobaciones de validez, el Panther System invalida automáticamente las muestras afectadas y exige que se analice un nuevo conjunto de controles de ensayo antes de iniciar el procesamiento de nuevas muestras.

Control interno

Se añade un control interno a cada muestra con el wTCR. Durante el procesamiento, el software del Panther System verifica automáticamente los criterios de validación del control interno. No se requiere la detección del control interno para las muestras positivas para SARS-CoV-2. El control interno debe detectarse en todas las muestras negativas para objetivos de SARS-CoV-2. Las muestras que no cumplan dicho criterio se informarán como no válidas. Todas las muestras con un resultado no válido deberán volver a analizarse.

El Panther System se ha diseñado para verificar con precisión los procesos cuando los procedimientos se realizan según las instrucciones indicadas en este prospecto y el *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System*.

Interpretación de resultados

El Panther System determina automáticamente los resultados de la prueba para muestras y controles. El resultado de la prueba puede ser negativo, positivo o no válido.

El primer resultado válido es el resultado que debe informarse. Las muestras con resultados no válidos deben volver a analizarse. Si el resultado no es válido tras la nueva prueba, se deberá recolectar una nueva muestra.

La Tabla 1 muestra los posibles resultados notificados en un ciclo válido y las interpretaciones de los resultados.

Tabla 1: Interpretación de resultados

Resultado de SARS-CoV-2	Resultado de IC	Interpretación
Neg.	Válido	SARS-CoV-2 no detectado.
POS	Válido	SARS-CoV-2 detectado.
No válido	No válido	No válido. Se ha producido un error en la generación del resultado; volver a analizar la muestra.

Nota: la detección del control interno no es necesaria para las muestras que son positivas por SARS-CoV-2.

Limitaciones

- A. El uso de este ensayo está limitado al personal con la debida formación para realizar el procedimiento. El incumplimiento de estas instrucciones puede producir resultados erróneos.
- B. La obtención de resultados fiables depende de la adecuación de la recogida, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento de las muestras.
- C. Evite la contaminación siguiendo las prácticas adecuadas de laboratorio y los procedimientos especificados en este prospecto.
- D. Un resultado positivo indica la detección de ácido nucleico del virus correspondiente. El ácido nucleico puede persistir aun después de que el virus ya no sea viable.

Rendimiento analítico

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica (límite de detección o LoD) del Aptima SARS-CoV-2 Assay se determinó probando diluciones de una matriz VTM/UTM de hisopado nasofaríngeo clínico negativo procesado enriquecida con el virus SARS-CoV-2 cultivado inactivado (USA-WA1/2020; Recursos BEI; NR-52281) y el estándar internacional de la OMS para el SARS-CoV-2, NIBSC (20/146). Para el virus cultivado, se evaluaron diez réplicas de cada dilución seriada para cada uno de los dos lotes de reactivos de ensayo en dos Panther Systems. Se determinó que el LoD era 0,01 TCID₅₀/ml en la muestra de prueba (0,026 TCID₅₀/ml en la muestra pura, sin procesar) y se verificó probando un mínimo de 20 réplicas adicionales con un lote de reactivo de ensayo. Para la norma internacional de la OMS, se analizó un mínimo de 24 réplicas con cada uno de los tres lotes de reactivos mediante análisis Probit para cada lote y se confirmó con 24 réplicas adicionales utilizando un solo lote. La concentración más baja a la que se observó una detección $\geq 95\%$ fue de 87,5 IU/ml (224 IU/ml en la muestra pura sin procesar). La confirmación del LoD también se realizó con el kit de recogida RespDirect en 24 réplicas con un solo lote de reactivo y se observó una detección de $\geq 95\%$ a 27,7 IU/ml.

La sensibilidad analítica del Aptima SARS-CoV-2 Assay se evaluó adicionalmente empleando material procedente de tres proveedores comerciales. Las diluciones seriadas de los materiales de ácido nucleico se realizaron en STM y se analizaron 20 o más réplicas en cada nivel utilizando cada uno de los dos lotes de reactivos de ensayo en dos Panther Systems. El nivel de dilución más bajo que resultó en una detección $\geq 95\%$ para los materiales de referencia fue de 83 copias/ml (212,5 copias/ml en la muestra pura, sin procesar) y se enumeran en Tabla 2.

Tabla 2: Evaluación de la sensibilidad analítica del material de referencia comercial

Proveedor	Nombre	N.º de referencia	N.º de lote	Sensibilidad analítica
ZeptoMetrix	Control de ejecución externa para SARS-CoV-2	NATSARS(COV2)-ERC	324332	83 copias/ml
SeraCare	AccuPlex Material de referencia de SARS-Cov-2	0505-0126	10483977	83 copias/ml
Diagnóstico exacto	Estándar SARS-CoV-2	COV019	20033001	83 copias/ml

Pruebas del panel de referencia del SARS-CoV-2 de la FDA

La evaluación de la sensibilidad y la reactividad cruzada del MERS-CoV se realizó utilizando material de referencia (T1), muestras ciegas y un protocolo estándar proporcionado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA). El estudio incluyó un estudio de búsqueda de rango y un estudio confirmatorio para LoD. Se utilizaron pruebas de muestra ciegas para establecer la especificidad y confirmar el LoD. El estudio se realizó en el Panther System totalmente automatizado. Los resultados se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3: Resumen de los resultados de confirmación de LoD utilizando el panel de referencia SARS-CoV-2 de la FDA

Material de referencia proporcionados por la FDA	Tipo de muestra	Nivel de detalle del producto	Reactividad cruzada
SARS-CoV-2	Hisopados NP en VTM/UTM	600 NDU/ml	N/A
MERS-CoV		N/A	ND

NDU/ml = unidades detectables de RNA NAAT/ml.

N/A = No aplicable.

ND = No detectado.

Pruebas de reactividad en húmedo

La reactividad del Aptima SARS-CoV-2 Assay se determinó probando cepas del virus en una matriz VTM/UTM de hisopado NP clínico negativo procesado. Cada cepa se probó por triplicado a 3X LoD con un lote de reactivo. Para las cepas no detectadas a 3X LoD, se realizaron pruebas adicionales a concentraciones más altas hasta que se observó un 100 % de positividad. Tabla 4 muestra la concentración más baja de cada cepa en la que se observó un 100 % de positividad.

Tabla 4: Resumen de reactividad analítica del SARS-CoV-2

Descripción	Concentración
USA-WA1/2020*	0,03 TCID ₅₀ /ml
USA-CA1/2020	0,03 TCID ₅₀ /ml
USA-AZ1/2020	0,10 ¹ TCID ₅₀ /ml
USA-WI1/2020	0,03 TCID ₅₀ /ml
USA/OR-OHSU-PHL00037/2021 B.1.1.7	0,03 TCID ₅₀ /ml
Uganda/MUWRP-20200195568/2020 A.23.1	0,03 TCID ₅₀ /ml
USA/PHC658/2021 B.1.617.2	0,03 TCID ₅₀ /ml
USA/MD-HP05285/2021 B.1.617.2	0,03 TCID ₅₀ /ml
USA/CA/VRLC009/2021 B.1.427	0,03 TCID ₅₀ /ml
USA/CA/VRLC012/2021 P.2	0,03 TCID ₅₀ /ml
USA/MD-HP03056/2021 B.1.525	0,03 TCID ₅₀ /ml
USA/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
USA/MD-HP20874/2021 B.1.1.529	0,03 TCID ₅₀ /ml
USA/GA-EHC-2811C/2021 B.1.1.529	0,03 TCID ₅₀ /ml
USA/MD-HP30386/2022 BA.4	0,03 TCID ₅₀ /ml

Tabla 4: Resumen de reactividad analítica del SARS-CoV-2 (continuación)

Descripción	Concentración
USA/COR-22-063113/2022 BA.5	0,03 TCID ₅₀ /ml
South Africa/CERI-KRISP-K040013/2022 BA.5	0,03 TCID ₅₀ /ml
USA/MD-HP38861/2022 BQ.1.1	0,03 TCID ₅₀ /ml
USA/MD-HP40900/2022 XBB.1.5	0,10 ¹ TCID ₅₀ /ml
USA/MD-HP47865/2023 XXB.2.3	0,03 TCID ₅₀ /ml
USA/MD-HP46933/2023 EG.1.2	0,03 TCID ₅₀ /ml
USA/MD-HP47946/2023 EG.5.1	0,03 TCID ₅₀ /ml
USA/CA-Stanford-139_S35/2023 XBB.1.9	0,10 ¹ TCID ₅₀ /ml
USA/CA-Stanford-139_S23/2023 XBB.1.16	0,10 ¹ TCID ₅₀ /ml
USA/MI-UM-10052670540/2023 BA.2.86	0,10 ² TCID ₅₀ /ml
USA/New York-PV96109/2023 JN.1	0,15 ¹ TCID ₅₀ /ml
USA/MD-HP49152/2023 HV.1	0,015 TCID ₅₀ /ml

* Cepa utilizada para establecer el LoD.

¹ El análisis *in silico* mostró un 100 % de homología con las regiones de amplificación. La degradación de las existencias de virus o un error en la cuantificación de TCID₅₀/ml pueden haber afectado la concentración al 100 % de detección.

² El análisis *in silico* identificó un único desajuste en el oligo de sonda para una región. Debido a la ubicación del desajuste y la homología del 100 % con la segunda región, no se espera que la detección se vea afectada. La degradación de las existencias de virus o un error en la cuantificación de TCID₅₀/ml pueden haber afectado la concentración al 100 % de detección.

Reactividad: Análisis *in silico*

La inclusividad del Aptima SARS-CoV-2 Assay se evaluó mediante el análisis *in silico* de los oligos de captura del objetivo del ensayo, los cebadores de amplificación y las sondas de detección para los sistemas objetivo del SARS-CoV-2 en relación con las secuencias disponibles en las bases de datos de genes NCBI y GISAID. Se eliminó cualquier secuencia con información ausente o ambigua del análisis para esta región de interés. Basado en el análisis *in silico* de las secuencias GISAID y NCBI disponibles para el SARS-CoV-2 (muestreo aleatorio del 10 % de 16 553 661 de secuencias hasta el 31 de julio de 2023 y todas las 508 436 secuencias del 1 de agosto de 2023 al 31 de enero de 2024), se prevé que el Aptima SARS-CoV-2 Assay detecte el 99,98 % (2 136 815/2 137 175 secuencias) de todas las secuencias evaluadas.

Las secuencias evaluadas incluyeron linajes y variantes preocupantes (VOC) o variantes bajo investigación (VUI) que pueden tener propiedades epidemiológicas, inmunológicas o patogénicas importantes desde una perspectiva de la salud pública. Se prevé que se detecten todos los linajes y variantes de interés para la salud pública identificados al 31 de enero de 2024; se seguirán monitoreando nuevas secuencias y variantes para determinar su impacto en la detección mediante el Aptima SARS-CoV-2 Assay.

Especificidad analítica e interferencia microbiana

Se evaluaron la especificidad analítica (reactividad cruzada) y la interferencia microbiana con el Aptima SARS-CoV-2 Assay en presencia de organismos estrechamente relacionados y no objetivo. Paneles compuestos por 48 organismos (Tabla 5) se probaron en una matriz VTM/UTM de hisopo NP clínico negativo procesado en ausencia o presencia de 3X LoD SARS-CoV-2.

Las bacterias se probaron a 10⁶ CFU/ml y los virus se probaron a 10⁵ TCID₅₀/ml, excepto donde se indique lo contrario. No se observó reactividad cruzada ni interferencia microbiana en

ninguno de los 48 organismos probados en el Aptima SARS-CoV-2 Assay en las concentraciones indicadas. El análisis de reactividad cruzada *in silico* de 112 secuencias GenBank evaluadas no predijo ninguna interferencia microbiana por reactividad cruzada.

Tabla 5: Microorganismos de interferencia microbiana y especificidad analítica del Aptima SARS-CoV-2 Assay

Microorganismo	Concentración ¹	Microorganismo	Concentración 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
Cepa CMV 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 tipo 71	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Coronavirus humano 229E	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Coronavirus humano OC43	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Coronavirus humano HKU1 ²	1x10 ⁶ copias/ml	<i>Fusobacterium necrophorum</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Coronavirus humano NL63	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	<i>Haemophilus influenzae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Metapneumovirus humano (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
Sarampión	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Coronavirus-MERS	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Paperas	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Virus de la parainfluenza 1	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Virus de la parainfluenza 2	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Virus de la parainfluenza 3	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Neisseria mucosa</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Virus de la parainfluenza 4	1x10 ³ TCID ₅₀ /ml	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	1x10 ⁶ núcleos/ml
Virus respiratorio sincitial	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
Coronavirus SARS ²	1x10 ⁶ copias/ml	<i>Staphylococcus epidermis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Virus varicela-zóster	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Lavado nasal humano combinado ³ : para representar la diversa flora microbiana presente en el tracto respiratorio humano	N/A	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
		<i>Streptococcus salivaris</i>	1x10 ⁶ CFU/ml

¹ UFC = Unidades formadoras de colonias; TCID₅₀ = Dosis infecciosa media en cultivo de tejidos

² El virus cultivado y el ácido nucleico purificado del genoma completo para el coronavirus humano HKU1 y el coronavirus SARS no se encuentran fácilmente disponibles. Se utilizaron los IVT de los coronavirus HKU1 y SARS correspondientes a las regiones del gen ORF1ab diana del ensayo para evaluar la reactividad cruzada y la interferencia microbiana.

³ En lugar de evaluar lavados nasales humanos mezclados, se analizaron 30 especímenes de hisopado NP clínicos negativos individuales para representar la diversa flora microbiana en el tracto respiratorio humano.

Interferencia

Se evaluaron en el Aptima SARS-CoV-2 Assay las sustancias interferentes endógenas y exógenas (mucina, sangre completa, posibles medicamentos y productos de venta libre) que pueden estar presentes en las muestras. Se agregaron concentraciones clínicamente relevantes de sustancias potencialmente interferentes a la matriz VTM/UTM de hisopo NP clínico negativo agrupado y se analizaron en ausencia y presencia del virus inactivado SARS-CoV-2 a 3X LoD. Las sustancias y concentraciones se muestran en Tabla 6.

No se observó ningún impacto en el rendimiento del Aptima SARS-CoV-2 Assay para ninguna de las sustancias en la concentración probada.

Tabla 6: Sustancias potencialmente interferentes

Tipo de sustancia	Nombre de la sustancia	Ingredientes activos	Concentración de prueba más alta*
Endógeno	Mucina	Proteína de mucina purificada	60 µg/ml
	Sangre (humana)	N/A	2 % v/v
Espráis o gotas nasales	Neo-Synephrine®	Fenilefrina	15 % v/v
	Anefrina	Oximetazolina	15 % v/v
	Salino	Cloruro de sodio	15 % v/v
	Ventolín HFA ²	Albuterol	45 ng/ml
Corticoesteroides nasales	QVAR® Beconase AQ ²	Beclometasona	15 ng/ml
	Dexacort ²	Dexametasona	12 µg/ml
	Flonasa	Fluticasona	5 % v/v
	Nasacort	Triamcinolona	5 % v/v
	Rhinocort	Budesonida	5 % v/v
	Nasonex ²	Mometasona	0,5 ng/ml
	AEROSPAN® ²	Flunisolida	9,9 µg/ml
Gel nasal	Zicam® (Alivio de la alergia)	Luffa operculata, Galphimia, Glauca, Histaminum hydrochloricum, azufre	5 % v/v
Pastillas para la garganta	Cepacol Extra Strength	Benzocaína, mentol	0,7 mg/ml
	Pastillas para la garganta Cold-Eeze	Gluconato de zinc	0,7 mg/ml
Medicamentos antivirales	Relenza® ²	Zanamivir	3,3 mg/ml
	TamiFlu ²	Oseltamivir	399 ng/ml
	Virazole ²	Ribavirina	10,5 µg/ml
Antibiótico, pomada nasal	Bactroban crema ²	Mupirocina	1,6 µg/ml
Antibiótico, sistémico	Tobramicina ²	Tobramicina	33,1 µg/ml
Control de solventes	Agua	N/A	5 % v/v
	Dimetilsulfóxido (DMSO)	N/A	5 % v/v

¹ v/v: volumen por volumen

² Ingrediente activo probado, no sustancia

Contaminación remanente

La tasa de contaminación por arrastre del Aptima SARS-CoV-2 Assay se evaluó probando paneles de alto título que consistían en el virus SARS-CoV-2 en una matriz VTM/UTM de hisopo NP clínico negativo, enriquecida con 100 TCID₅₀/ml (10 000 veces el LoD del ensayo). Los paneles positivos se probaron en un patrón de tablero de ajedrez, alternando con paneles negativos. Las pruebas consistieron en 588 pruebas válidas, tanto negativas como positivas, en tres Panther System. En el Aptima SARS-CoV-2 Assay se observó una tasa de arrastre del 0 % (0/294).

Precisión del ensayo

La precisión dentro del laboratorio del Aptima SARS-CoV-2 Assay se evaluó con un panel de 4 miembros que constaba del virus en una matriz VTM/UTM de hisopo NP clínico negativo. El panel de 4 miembros incluyó un panel Negativo, un Alto Negativo (0,1X LoD), un Bajo Positivo (1X LoD) y un panel Moderado Positivo (5X LoD). Los paneles fueron probados por dos operadores, utilizando tres lotes de reactivos en tres Panther System durante seis días. Se realizaron dos ejecuciones por operador por día para un total de 36 ejecuciones. Cada uno de los cuatro paneles se probó en tres réplicas por ejecución para un total de 108 réplicas por panel.

El acuerdo con los resultados esperados fue del 100 % en los miembros del panel Negativo, Positivo Bajo y Positivo Moderado. El miembro del panel de alto nivel negativo estaba 10 veces por debajo del LoD del ensayo, por lo tanto, se esperaba una combinación de resultados positivos y negativos. Este panel tuvo 68/108 (63 %) resultados positivos. La concordancia con los resultados esperados para los cuatro paneles se muestra en Tabla 7.

Tabla 7: Concordancia de los resultados del Aptima SARS-CoV-2 Assay con los resultados esperados

Descripción del panel	Composición del panel	Panel Conc. TCID ₅₀ /ml	Resultado previsto	N positivo	N Probado	Media de kRLU	Acuerdo con lo esperado (IC del 95 %)
Negativo	N/A	N/A	Negativo	0	108	289	100 % (96,6-100)
Alto negativo	0,1 x LoD	0,001	N/A	68	108	627	N/A
Positiva baja	1,0 x LoD	0,01	Positivo	108	108	1131	100 % (96,6-100)
Positiva moderada	5,0 x LoD	0,05	Positivo	108	108	1147	100 % (96,6-100)

La variabilidad total de la señal del SARS-CoV-2 medida como %CV osciló entre el 2,75 % y el 3,84 % en los miembros del panel Negativo, Positivo bajo y Positivo moderado. Para las fuentes de variación, los seis factores evaluados tuvieron valores %CV <3,0 % como se muestra en Tabla 8. El miembro del panel de alto valor negativo está 10 veces por debajo del LoD del ensayo y se espera que el %CV para este panel sea más alto que el de los demás. La mayor fuente de variabilidad para este panel fue la variabilidad dentro de la ejecución.

Tabla 8: Variabilidad de la señal kRLU del Aptima SARS-CoV-2 Assay por miembro del panel

Panel	Entre días		Entre instrumentos		Entre operarios		Entre lotes		Entre análisis		Dentro de ciclos		Total	
	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
Negativo	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
Alto Negativo*	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
Positiva baja	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
Positiva moderada	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

* El panel fue construido 10 veces por debajo del LoD del ensayo. Se espera una mayor variabilidad en este panel.

Nota: En el caso de que la variabilidad de algunos factores sea numéricamente negativa, la DE y el CV se muestran como 0,0.

Equivalencia de dispositivos de recolección

Se evaluó la equivalencia entre las muestras nasofaríngeas recogidas en VTM/UTM y las muestras nasofaríngeas y nasales recogidas en RespDirect (eSTM) mediante el análisis de muestras negativas individuales y paneles artificiales preparados a partir de muestras clínicas emparejadas recogidas de pacientes con síntomas de infección respiratoria o sometidos a pruebas de detección del SARS-CoV-2. Se prepararon paneles artificiales añadiendo muestras de NP emparejadas de donantes individuales y muestras de hisopos nasales solo para RespDirect, con SARS-CoV-2 a 2X y 5X LoD.

Los resultados de los paneles negativos y artificiales demostraron una sensibilidad y especificidad comparables entre los dos dispositivos de recolección (Tabla 9).

Tabla 9: Resultados de paneles negativos y artificiales compuestos por muestras clínicas de donantes individuales emparejadas (NP para VTM/UTM e hisopo NP/nasal para RespDirect), recogidas con cada dispositivo de recolección enriquecido con SARS-CoV-2.

Analito	Concentración de la muestra	N por dispositivo de recolección	VTM/UTM-NP % positivo	RespDirect-NP % positivo	Hisopo nasal RespDirect % positivo
Ninguno (muestra negativa)	0	150	0	0	0
SARS-CoV-2	2 x LoD	50	100	100	100
	5 x LoD	50	100	100	100

Reproducibilidad

Se evaluó la reproducibilidad del Aptima SARS-CoV-2 Assay en tres sitios de EE. UU. utilizando un miembro del panel negativo y dos positivos. Las pruebas se realizaron empleando un lote de reactivos de ensayo y seis usuarios (dos en cada centro). En cada centro, se realizan ensayos durante al menos cinco días. Cada ciclo tuvo tres réplicas de cada muestra del panel.

Se creó un miembro del panel negativo utilizando muestras de hisopos nasofaríngeos clínicos negativos agrupados en VTM/UTM procesados en STM (es decir, matriz negativa). Los miembros del panel positivo se crearon añadiendo concentraciones de 1-2X LoD (positivo bajo) o 3-5X LoD (positivo moderado) del virus inactivado del SARS-CoV-2 a la matriz negativa.

La concordancia con los resultados previstos fue del 100 % para todas las muestras del panel. La variabilidad total de la señal del SARS-CoV-2, medida como %CV, fue $\leq 7,93$ % (DE menor o igual a 91,35) para todos los miembros positivos del panel (Tabla 10).

Tabla 10: Variabilidad de la señal kRLU del Aptima SARS-CoV-2 Assay por miembro del panel

Descripción del panel	N	Media de kRLU	Entre centros		Entre operadores/ ejecuciones ¹		Entre días		Dentro de ciclos		Total	
			DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	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
Positivo bajo del SARS-CoV-2	90	1152,2	67,79	5,88	15,16	1,32	25,06	2,18	53,77	4,67	91,35	7,93
Posición modificada del SARS-CoV-2	90	1163,7	77,30	6,64	36,60	3,15	4,10	0,35	26,67	2,29	89,68	7,71

CV = coeficiente de variación, Mod = moderado, Pos = positivo, kRLU = unidad de luz relativa \times 1000, DE = desviación estándar.

¹ Entre operadores puede confundirse con Entre ejecuciones; por lo tanto, las estimaciones Entre operadores y Entre ejecuciones se combinan en Entre operadores/ejecuciones.

Rendimiento clínico

Se realizaron dos estudios clínicos. El rendimiento clínico del Aptima SARS-CoV-2 Assay se estimó en muestras de NP recolectadas prospectivamente en el Estudio clínico 1 y en muestras de hisopos nasales recolectadas prospectivamente en el Estudio clínico 2.

Estudio clínico 1: Estudio clínico prospectivo: muestras de hisopado nasofaríngeo

Este estudio se realizó para demostrar las características del desempeño clínico del Aptima SARS-CoV-2 Assay en muestras de hisopos nasofaríngeos. Se realizó un estudio prospectivo multicéntrico utilizando muestras de hisopos nasofaríngeos residuales de personas de ambos sexos y de todas las edades que presentaban signos o síntomas de infección respiratoria compatibles con COVID-19, virus de la influenza o RSV. Cuatro hospitales pediátricos y adolescentes, privados o universitarios participantes de EE. UU. proporcionaron prospectivamente muestras de hisopados nasofaríngeos remanentes almacenadas en un medio de transporte viral (VTM). Estas muestras se probaron en tres sitios de EE. UU. con el Aptima SARS-CoV-2 Assay.

Se evaluó el rendimiento del Aptima SARS-CoV-2 Assay comparando sus resultados de muestras de hisopos NP en UTM/VTM con un algoritmo comparador compuesto (CCA) que consta de dos pruebas moleculares de SARS-CoV-2 EUA de la FDA de EE. UU. altamente sensibles y una PCR validada seguida de un ensayo de secuenciación bidireccional (PCR/BDS). Se asignó un resultado CCA final cuando dos de los tres resultados del ensayo comparativo concordaban.

De las 1646 muestras inscritas durante el estudio, 300 se recolectaron entre junio de 2020 y julio de 2020, mientras que las 1346 restantes se recolectaron entre enero de 2023 y abril de 2023. Se analizaron un total de 1646 muestras de hisopos nasofaríngeos en ejecuciones válidas del Aptima SARS-CoV-2 Assay, incluidas 9 (0,5 %) con resultados iniciales no válidos. Tras realizar nuevas pruebas, las 1646 muestras arrojaron resultados finales válidos. El conjunto de datos final consistió en 1495 muestras de hisopos nasofaríngeos evaluables, incluidas 1195 (79,9 %) analizadas frescas y 300 (20,1 %) analizadas después de la congelación; 149 muestras de hisopos nasofaríngeos se excluyeron del análisis debido a un manejo inadecuado en los sitios.

La información demográfica de los 1495 individuos evaluables se proporciona en Tabla 11.

Tabla 11: Resumen de la demografía de los sujetos para muestras de hisopado nasofaríngeo evaluables recolectadas prospectivamente

Total		1495
Sexo	Mujer	842 (56,3 %)
	Hombre	651 (43,5 %)
	Desconocido	2 (0,1 %)
Edad (años)	Media	33,3
	Mediana	29,0
	Intervalo	0-98
	<5	270 (18,1 %)
	5-21	373 (24,9 %)
	22-59	499 (33,4 %)
	≥60	353 (23,6 %)

El rendimiento del Aptima SARS-CoV-2 Assay con muestras prospectivas de hisopados nasofaríngeos se resume en Tabla 12. El porcentaje de acuerdo positivo (PPA) se calculó como $100 \% \times [TP/(TP + FN)]$. Un verdadero positivo (VP) indica que tanto el Aptima SARS-CoV-2 Assay como el CCA tuvieron un resultado positivo para SARS-CoV-2, y un falso negativo (FN) indica que el resultado del ensayo Aptima SARS-CoV-2 fue negativo mientras que el CCA fue positivo. El porcentaje de acuerdo negativo (NPA) se calculó como $100 \% \times [TN/(TN + FP)]$. Un verdadero negativo (VN) indica que tanto el Aptima SARS-CoV-2 Assay como el CCA tuvieron resultados negativos, y un falso positivo (FP) indica que el resultado del Aptima SARS-CoV-2 Assay fue positivo mientras que el CCA fue negativo. Las muestras de NP que obtuvieron resultados discordantes se sometieron a pruebas adicionales con una prueba molecular SARS-CoV-2 EUA de la FDA de EE. UU., si el volumen lo permitía.

Tabla 12: Rendimiento del Aptima SARS-CoV-2 Assay con muestras de hisopado nasofaríngeo

Tipo de muestra de hisopado NP	Porcentaje de concordancia positiva			Porcentaje de concordancia negativa		
	TP/ (TP + FN)	%	CI ¹ del 95 %	TN/ (FP + TN)	%	CI ¹ del 95 %
Fresco ²	80/82	97,6	91,5-99,3	1107/1113	99,5	98,8-99,8
Congelado ²	44/48	91,7	80,4-96,7	251/252	99,6	97,8-99,9
General	124/130 ³	95,4	90,3-97,9	1358/1365 ⁴	99,5	98,9-99,8

CI = intervalo de confianza, FN = falso negativo, FP = falso positivo, TN = verdadero negativo, TP = verdadero positivo.

¹ CI de la puntuación.

² Todas las muestras frescas se recolectaron en 2023. Todas las muestras congeladas se recolectaron en 2020.

³ Una (1) muestra con un resultado falso negativo dio negativo para SARS-CoV-2 con una prueba molecular para SARS-CoV-2 con autorización de uso de emergencia de la FDA de EE. UU., mientras que 4 dieron positivo y 1 tuvo un resultado no concluyente utilizando el mismo ensayo. Las 6 muestras tuvieron valores Ct altos en los ensayos de comparación (Ct \geq 30,3) y ensayo de resolución discordante (Ct \geq 30,29), lo que sugiere cargas virales bajas de SARS-CoV-2.

⁴ Una (1) muestra con un resultado falso positivo dio positivo para SARS-CoV-2 con una prueba molecular para SARS-CoV-2 con autorización de uso de emergencia de la FDA de EE. UU., mientras que 5 dieron negativo y 1 no tuvo ningún resultado usando el mismo ensayo.

Estudio clínico 2: Estudio clínico prospectivo: muestras de hisopado nasal

Este estudio se realizó para demostrar las características del desempeño clínico del Aptima SARS-CoV-2 Assay en muestras de hisopos nasales. El rendimiento clínico del Aptima SARS-CoV-2 Assay se evaluó utilizando muestras de hisopos nasales recolectadas en un estudio clínico prospectivo y multicéntrico. Se inscribieron individuos masculinos y femeninos de todas las edades que presentaban signos o síntomas de infección respiratoria compatibles con COVID-19, virus de la influenza o VSR en nueve sitios geográfica y étnicamente diversos de EE. UU. durante la temporada respiratoria 2022-2023. Se recolectaron prospectivamente dos muestras de hisopos nasales de cada individuo (en un entorno clínico): una muestra recolectada con un hisopo flocado sintético por un profesional de la salud (HCP) y almacenada en UTM/VTM; una muestra recolectada por el paciente o el HCP con un hisopo flocado sintético y almacenada en UTM/VTM o con el hisopo flocado RespDirect y almacenada en un tubo de captura directa que contiene eSTM (kit de recolección RespDirect).

Se evaluó el rendimiento del Aptima SARS-CoV-2 Assay comparando sus resultados de muestras de hisopos nasales en UTM/VTM o en eSTM con un algoritmo comparador compuesto (CCA) que consta de dos pruebas moleculares de SARS-CoV-2 EUA de la FDA de EE. UU. altamente sensibles y un ensayo PCR/BDS validado. Se asignó un resultado CCA final cuando dos de los tres resultados del ensayo comparativo concordaban.

De los 2301 sujetos inscritos, seis no cumplieron los criterios de elegibilidad y fueron retirados. Se analizaron un total de 2241 muestras en UTM/VTM y eSTM de 2295 sujetos no retirados en ejecuciones válidas del Aptima SARS-CoV-2 Assay, incluidas 23 (1,0 %) con resultados iniciales no válidos. Al volver a realizar la prueba, 13 muestras arrojaron resultados válidos y 10 arrojaron resultados finales no válidos, para un total de 2231 (99,6 %) muestras con resultados finales válidos. Otros 118 sujetos no fueron evaluables debido al retiro de muestras, resultados de Aptima faltantes o no válidos o un resultado de CCA desconocido, lo que dejó 2177 individuos evaluables para los análisis de desempeño, incluidos 1159 con muestras de hisopos nasales evaluables en UTM/VTM y 1018 con muestras de hisopos nasales evaluables en eSTM.

La información demográfica de las 2177 personas evaluables se proporciona en Tabla 13.

Tabla 13: Resumen de la demografía de los sujetos para muestras de hisopados nasales recolectadas prospectivamente

Total		2177
Sexo	Mujer	1287 (59,1 %)
	Hombre	890 (40,9 %)
Edad (años)	Media	40,7
	Mediana	40,0
	Intervalo	0-90
Estado de vacunación contra la COVID-19	Completamente vacunado	1451 (66,7 %)
	Parcialmente vacunado	106 (4,9 %)
	No vacunado	601 (27,6 %)
	Desconocido	19 (0,9 %)
Número de días desde el inicio de los síntomas	Media	4,6
	Mediana	3,0
	Intervalo	0-60

El rendimiento del Aptima SARS-CoV-2 Assay con muestras prospectivas de hisopos nasales se resume en Tabla 14. El porcentaje de acuerdo (PPA y NPA) se calculó como se describe para el Estudio clínico 1.

Tabla 14: Rendimiento del Aptima SARS-CoV-2 Assay con muestras de hisopos nasales

Tipo de muestra de hisopado nasal	Porcentaje de concordancia positiva			Porcentaje de concordancia negativa		
	TP/ (TP + FN)	%	CI ¹ del 95 %	TN/ (FP + TN)	%	CI ¹ del 95 %
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
General	246/251	98,0	95,4-99,1	1884/1926	97,8	97,1-98,4

CI = intervalo de confianza, eSTM = medio de transporte de muestras mejorado, FN = falso negativo, FP = falso positivo, TN = verdadero negativo, TP = verdadero positivo, UTM/VTM = medio de transporte universal/viral.

¹ CI de la puntuación.

Bibliografía

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

Información de contacto e historial de revisiones



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

Para obtener la dirección de correo y el teléfono de la asistencia técnica y la atención al cliente específicos de cada país, visite www.hologic.com/support.

Los incidentes graves relacionados con el dispositivo en la Unión Europea deben ser notificados al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el cual se encuentre el usuario o el paciente.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion, RespDirect y sus logotipos asociados son marcas comerciales o registradas de Hologic, Inc. o sus filiales en Estados Unidos o en otros países. Todas las demás marcas comerciales que puedan aparecer en este prospecto pertenecen a sus respectivos propietarios.

Este producto puede estar cubierto por una o más patentes de Estados Unidos que se detallan en www.hologic.com/patents.

©2017-2025 Hologic, Inc. Todos los derechos reservados.

AW-32201-301 Rev. 001
2025-09

Revisión histórica	Fecha	Descripción
AW-32201-301 Rev. 001	Septiembre de 2025	• Lanzamiento inicial