

REV AUTHORED BY S. LOWMAN	DATE 07/06/20	 	
REV DRAFTED BY S. LOWMAN	DATE 07/06/20		
PROPRIETARY: This document contains proprietary data of Hologic, Inc. No disclosure, reproduction or use of any part thereof may be made except by written permission from Hologic.	TITLE PI, CE-IVD, APTIMA SARS-COV-2 ASSAY, PANTHER SYSTEM CZECH	DOCUMENT NUMBER AW-21491-2601	REV 001
REV. RELEASE DATE: 07/10/2020		SIZE A	SHEET 1 OF 1

## Test Aptima™ SARS-CoV-2 (Systém Panther™)

Pro diagnostické použití *in vitro*.

Pouze pro export z USA.

### OBSAH

<b>Obecné informace</b> .....	<b>2</b>
Určené použití .....	2
Shrnutí a vysvětlení testu .....	2
Principy postupu .....	3
Varování a bezpečnostní opatření .....	4
Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi .....	5
Odběr a skladování vzorků .....	6
Přeprava klinických vzorků .....	9
<b>Systém Panther</b> .....	<b>10</b>
Reagensie a materiály, které jsou součástí dodávky .....	10
Materiály požadované a dostupné samostatně .....	11
Provádění testování na systému Panther .....	12
Poznámky k postupu .....	15
<b>Kontrola kvality</b> .....	<b>16</b>
<b>Interpretace výsledků</b> .....	<b>17</b>
<b>Omezení</b> .....	<b>17</b>
<b>Výkon testu Panther SARS-CoV-2</b> .....	<b>18</b>
<b>Literatura</b> .....	<b>23</b>

## Obecné informace

### Určené použití

Test Aptima™ SARS-CoV-2 je amplifikační diagnostický test nukleové kyseliny *in vitro* určený pro kvalitativní detekci RNA z viru SARS-CoV-2 izolovaného a vyčištěného ze vzorků výtěrů z nosohltanu, nosu, střední skořepky a orofaryngu, nasofaryngeálního výplachu/aspirátu nebo nazálního aspirátu získaných od jedinců splňujících klinická a/nebo epidemiologická kritéria onemocnění COVID-19.

Výsledky slouží k identifikaci RNA viru SARS-CoV-2. RNA viru SARS-CoV-2 je obecně detekovatelná ve vzorcích horních cest dýchacích v průběhu akutní fáze infekce. Pozitivní výsledky ukazují na přítomnost viru SARS-CoV-2 RNA a pro stanovení stavu infekce pacienta je nezbytná klinická korelace s anamnézou pacienta a další diagnostické informace. Pozitivní výsledky nevylučují bakteriální infekci nebo koinfekci jinými viry.

Negativní výsledky nevylučují infekci virem SARS-CoV-2 a neměly by být používány jako jediný podklad pro rozhodnutí o léčbě pacienta. Negativní výsledky musí být dány do kontextu s klinickým pozorováním, anamnézou pacienta a epidemiologickými informacemi.

Test Aptima SARS-CoV-2 v systémech Panther™ a Panther Fusion™ je určen pro použití pracovníky klinické laboratoře, kteří jsou speciálně poučeni a vyškoleni v používání systému Panther a Panther Fusion a diagnostických postupů *in vitro*.

### Shrnutí a vysvětlení testu

Koronaviry jsou velká skupina virů, které mohou způsobovat různá onemocnění zvířat nebo lidí. Jak je známo, u člověka některé koronaviry způsobují respirační infekce od běžného nachlazení až po závažnější onemocnění, jako je například tzv. blízkovýchodní respirační syndrom (MERS) a těžký akutní respirační syndrom (SARS). Poslední objevený koronavirus, SARS-CoV-2, způsobuje související koronavirové onemocnění COVID-19. Tento nový virus a onemocnění byly před vypuknutím nákazy v čínském Wu-chanu v prosinci 2019 neznámé.<sup>1</sup>

Mezi nejčastější příznaky onemocnění COVID-19 patří horečka, únava a suchý kašel. Někteří pacienti mohou trpět bolestí, nosní kongescí, rýmou, bolestí v krku, novou ztrátou chuti nebo čichu nebo průjmem. Tyto příznaky jsou obvykle mírné a začínají se projevovat postupně. Někteří lidé se nakazí, ale nerozvinou se u nich žádné příznaky a necítí se nemocně. Nemoc se může šířit prostřednictvím respiračních kapiček, které vznikají, když infikovaná osoba kašle nebo kýchá. Tyto kapičky mohou přistát v ústech nebo nosech lidí, kteří se nacházejí poblíž, nebo mohou být případně vdechnuty do plic.<sup>2</sup> Tyto kapičky také mohou přistát na objektech a površích v blízkosti osoby. Ostatní lidé se mohou virem SARS-CoV-2 nakazit, když se dotknou těchto předmětů nebo povrchů a poté se dotknou očí, nosu nebo úst.

Virus, který způsobuje onemocnění COVID-19, infikuje lidi a snadno se šíří z člověka na člověka.<sup>3</sup> Dne 11. března 2020 byla Světovou zdravotnickou organizací (WHO) epidemie onemocnění COVID-19 charakterizována jako pandemie.<sup>4,5</sup>

## Principy postupu

Test Aptima SARS-CoV-2 kombinuje technologie záchytu cíle, transkripčně zprostředkované amplifikace (TMA) a dvojité kinetické analýzy (DKA).

Vzorky se odebírají a přenášejí do příslušných transportních zkumavek. Transportní roztoky v těchto zkumavkách uvolňují cíle RNA a chrání je před degradací během skladování. Když se test Aptima SARS-CoV-2 provádí v laboratoři, jsou cílové molekuly RNA izolovány ze vzorků za použití záchytových oligomerů pomocí technologie záchytu cíle, která využívá magnetické mikročástice. Záchytové oligomery obsahují sekvence komplementární ke specifickým oblastem cílových molekul a řetězce deoxyadenosinových zbytků. Pro každý cíl je použit samostatný záchytový oligomer. Během hybridizačního kroku se sekvencně specifické oblasti záchytových oligomerů vážou na specifické oblasti cílových molekul. Komplex záchytového oligomeru a cíle se poté vychytá z roztoku snížením teploty reakce na pokojovou teplotu. Díky tomuto snížení teploty může proběhnout hybridizace mezi deoxyadenosinovou oblastí záchytového oligomeru a polydeoxythymidinovými molekulami, které jsou kovalentně navázané na magnetické částice. Mikročástice, včetně zachycených cílových molekul, které jsou k nim navázány, jsou pomocí magnetů přitaženy ke stranám reakční nádoby a supernatant se odsaje. Částice se promyjí, aby se odstranila zbytková matrice vzorku, která může obsahovat inhibitory amplifikační reakce. Po dokončení kroků záchytu cíle jsou vzorky připraveny k amplifikaci.

Testy amplifikace cíle jsou založeny na schopnosti komplementárních oligonukleotidových primerů specificky zesílit a umožňovat enzymatickou amplifikaci cílových řetězců nukleové kyseliny. Test Aptima SARS-CoV-2 replikuje specifické oblasti RNA viru SARS-CoV-2. Detekce sekvencí produktů amplifikace RNA (amplikon) se provádí za použití hybridizace nukleových kyselin. Jednovláknové chemiluminiscenční sondy nukleové kyseliny, které jsou unikátní a komplementární k oblasti každého cílového amplikonu a amplikonu pro vnitřní kontrolu (Internal Control (IC) amplicon), jsou značeny různými molekulami akridinium esteru (AE). Sondy označené AE se kombinují s ampliconem za vzniku stabilních hybridů. Selekční reagentie rozlišuje hybridizovanou od nehybridizované sondy, čímž eliminuje generování signálu z nehybridizované sondy. Během detekčního kroku se světlo emitované z označených hybridů měří jako fotonové signály v luminometru, které jsou vykazovány jako relativní světelné jednotky (RLU). Při DKA umožňují rozdíly mezi kinetickými profily značených sond diferenciaci signálu. Kinetické profily jsou odvozeny z měření výstupu fotonů při načítání detekce. Chemiluminiscenční detekční reakce pro signál IC má velmi rychlou kinetiku a má kinetický typ „flasher“. Chemiluminiscenční detekční reakce pro signál viru SARS-CoV-2 je relativně pomalejší a má kinetický typ „glower“. Výsledky testu jsou určeny mezní hodnotou vycházející z celkového počtu RLU a typu kinetické křivky.

Test Aptima SARS-CoV-2 amplifikuje a detekuje dvě konzervované oblasti genu ORF1ab stejnou reakcí za použití stejného kinetického typu „glower“. Tyto dvě oblasti nejsou diferencované a amplifikace jedné nebo obou těchto oblastí vede k vygenerování signálu RLU. Výsledky testu jsou určeny mezní hodnotou vycházející z celkového počtu RLU a typu kinetické křivky.

## Varování a bezpečnostní opatření

- A. Pro diagnostické použití *in vitro*. Přečtěte si pozorně celou tuto příbalovou informaci a *uživatelskou příručku systému Panther / Panther Fusion*.
- B. Tyto postupy mohou provádět pouze pracovníci s náležitým školením v použití tohoto testu a zacházení s potenciálně infekčními materiály. Dojde-li k rozliti, ihned proveďte dezinfekci za použití vhodných postupů daného pracoviště.
- C. Se všemi vzorky zacházejte, jako by byly infekční, za použití bezpečných laboratorních postupů. Viz Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with 2019-nCoV (Prozatímní pokyny pro laboratorní biologickou bezpečnost při manipulaci a zpracování vzorků spojených s 2019-nCoV). <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>.
- D. Vzorky mohou být infekční. Při provádění tohoto testu dodržujte univerzální bezpečnostní opatření. Je třeba, aby vedoucí laboratoře stanovil správné postupy manipulace s jednorázovým materiálem a postupy jeho likvidace. Tuto diagnostickou proceduru smí provádět pouze personál adekvátně vyškolený v manipulaci s infekčními materiály.<sup>6</sup>
- E. Pokud na základě současných kritérií klinického vyšetření doporučených orgány veřejného zdraví existuje podezření na infekci virem SARS-CoV-2, je třeba vzorky odebrat za přijetí příslušných preventivních opatření pro kontrolu infekce.
- F. Používejte pouze dodané nebo určené jednorázové laboratorní vybavení.
- G. Při odběru a manipulaci se vzorky od osob, u kterých existuje podezření na infekci virem SARS-CoV-2, používejte vhodné osobní ochranné prostředky, jak je uvedeno v prozatímních pokynech pro laboratorní biologickou bezpečnost při manipulaci a zpracování vzorků spojených s novým typem koronaviru 2019 (2019-nCoV) CDC.
- H. Při manipulaci se vzorky a reagensy používejte jednorázové rukavice bez talku, ochranné brýle a laboratorní pláště. Po manipulaci se vzorky a reagensy si pečlivě omyjte ruce.
- I. Všechny materiály, který přišel do kontaktu se vzorky a reagensy, zlikvidujte v souladu s příslušnými národními, mezinárodními a regionálními předpisy.
- J. Data expirace uvedená na zkumavkách pro lýzu vzorku pro systém Panther Fusion, zkumavkách pro lýzu vzorku Hologic, soupravě pro odběr vzorků Aptima Multitest, soupravě pro odběr vzorků Aptima Unisex a soupravě pro transfer vzorků Aptima se týkají převodu vzorku do zkumavky a nikoliv testování vzorku. Vzorky odebrané/přenesené před těmito daty expirace jsou validní pro testování za předpokladu, že byly přepravovány a skladovány v souladu s příslušnou příbalovou informací, a to i když tato data expirace již uplynula.
- K. Chcete-li zajistit integritu vzorku, zajistěte při přepravě vzorků vhodné přepravní podmínky. Stabilita vzorků za jiných než doporučených přepravních podmínek nebyla hodnocena.
- L. Při manipulaci se vzorky zabraňte křížové kontaminaci. Vzorky mohou obsahovat extrémně vysoké koncentrace virů nebo jiných organismů. Zajistěte, aby se jednotlivé nádoby se vzorky vzájemně nedotýkaly, a při likvidaci použitých materiálů je nepřenášejte nad otevřenými nádobkami. Pokud se dotknete vzorku, vyměňte si rukavice.

- M. Nepoužívejte reagenty a kontroly po datu expirace.
- N. Skladujte složky testu za doporučených podmínek skladování. Další informace viz *Požadavky na skladování reagentů a zacházení s nimi* (strana 5) a *Provádění testování v systému Panther* (strana 12).
- O. Neslévejte žádné reagenty nebo kapaliny z testu. Nedolévejte reagenty nebo kapaliny; systém Panther ověřuje hladiny reagentů.
- P. Zabraňte mikrobiální a ribonukleázové kontaminaci reagentů.
- Q. Nepoužívejte na nástroj materiál, který může obsahovat guanidinium thiokyanát ani žádné materiály obsahující guanidin. Při smísení s chlornanem sodným se mohou tvořit vysoce reaktivní a/nebo toxické sloučeniny.
- R. Reagenty v této sadě jsou označeny rizikovými a bezpečnostními symboly.

**Poznámka:** Informace o nebezpečí jsou v souladu s klasifikacemi bezpečnostních listů (SDS) EU. Pokud jde o informace pro komunikaci o nebezpečí specifickém pro váš region, viz SDS specifické pro region v knihovně bezpečnostních datových listů na [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

	<b>Selektivní reagenty</b> <b>KYSELINA BORITÁ 1–5 %</b> <b>VAROVÁNÍ</b> H315 – Dráždí kůži
---	---

### Požadavky na skladování reagentů a zacházení s nimi

- A. Následující reagenty jsou stabilní při skladování při teplotě 2 °C až 8 °C (v chladničce):  
Amplifikační reagenty Aptima SARS-CoV-2  
Enzymová reagenty Aptima SARS-CoV-2  
Reagenty sondy Aptima SARS-CoV-2  
Vnitřní kontrola Aptima SARS-CoV-2  
Pozitivní kontrola Aptima SARS-CoV-2  
Negativní kontrola Aptima SARS-CoV-2
- B. Následující reagenty jsou stabilní při skladování při teplotě 2 °C až 30 °C:  
Rekonstituční roztok pro amplifikační reagenty Aptima SARS-CoV-2  
Rekonstituční roztok pro enzymovou reagenty SARS-CoV-2  
Rekonstituční roztok pro reagenty sondy SARS-CoV-2  
Selektivní reagenty Aptima SARS-CoV-2
- C. Následující reagenty jsou stabilní při skladování při teplotě 15 °C až 30 °C (při pokojové teplotě):  
Reagenty pro záchyt cíle Aptima SARS-CoV-2  
Promývací roztok Aptima

- Pufr Aptima pro deaktivční kapalinu  
Olejová reagentie Aptima
- D. Pracovní reagentie pro záchyt cíle (wTCR) je při skladování při teplotě 15 °C až 30 °C stabilní po dobu 30 dnů. Neuchovávejte v chladničce.
- E. Po rekonstituci jsou enzymová reagentie, amplifikační reagentie a reagentie sondy stabilní po dobu 30 dnů, pokud jsou skladovány při teplotě 2 °C až 8 °C.
- F. Jakékoli nepoužité rekonstituované reagentie a wTCR zlikvidujte po 30 dnech nebo po uplynutí expirace hlavní šarže, podle toho, co nastane dříve.
- G. Kontroly jsou stabilní do data vyznačeného na lahvičkách.
- H. Reagentie skladované v systému Panther jsou stabilní po dobu 72 hodin.
- I. Reagentie sondy i rekonstituovaná reagentie sondy jsou fotosenzitivní. Reagentie skladujte tak, aby byly chráněny před světlem. Uvedená stabilita rekonstituovaných reagentií je udávána na základě vystavení rekonstituované reagentie sondy dvěma fluorescenčním 60W žárovkám po dobu 12 hodin ve vzdálenosti 43 cm a při teplotě nižší než 30 °C. Expozice rekonstituované reagentie sondy světlu by měla být odpovídajícím způsobem omezena.
- J. Při ohřátí na pokojovou teplotu se mohou některé kontrolní zkumavky zakalit nebo mohou obsahovat sraženiny. Zakalení nebo sraženiny vyskytující se u kontrol nemá vliv na účinnost kontroly. Kontroly mohou být použity, ať už jsou čiré nebo zakalené/vysrážené. Pokud jsou požadovány čiré kontroly, může být rozpuštění urychleno jejich inkubací na horním konci teplotního rozmezí (15 °C až 30 °C).
- K. Reagentie nezmrazujte.**

## Odběr a skladování vzorků

**Klinické vzorky** – klinický materiál odebraný pacientovi umístěný ve vhodném transportním systému. V případě testu Aptima SARS-CoV-2 se jedná o vzorky výtěru z nosohltanu, nosu, střední skořepky a orofaryngu nebo odběr vzorku nasofaryngeálního výplachu/aspirátu a nazálního aspirátu do virového transportního média (VTM/UTM), solného roztoku, Liquid Amies nebo média pro transport vzorků (specimen transport medium, STM).

**Vzorky** – představují obecnější termín, který popisuje jakýkoli materiál pro testování pomocí systému Panther, včetně klinických vzorků a klinických vzorků přenesených do zkumavek pro lyzu vzorku Panther Fusion.

**Poznámka:** *Všechny vzorky je nutné považovat za potenciálně infekční. Postupujte dle všeobecných preventivních opatření.*

**Poznámka:** *Během manipulace se vzorky dbejte na to, aby se zabránilo křížové kontaminaci. Například při likvidaci nepřenášejte použitý materiál nad otevřenými zkumavkami.*

## Odběr vzorků stěrů

Vzorky stěrů z nosohltanu, nosu a orofaryngu odeberte standardním postupem za použití tamponů z polyesteru, rayonu nebo z nylonu. Vzorky stěrů okamžitě umístěte do 3 ml VTM nebo UTM. Vzorky stěrů mohou být případně také přidány do fyziologického roztoku, Liquid Amies nebo STM. Pro odběr vzorků stěrů z orofaryngu a nosu může být použita souprava pro odběr vzorků stěrů Aptima Multitest.

Po odběru mohou být vzorky odebrané ve VTM/UTM před přenesením do zkumavky pro analýzu vzorku nebo do transferových zkumavek skladovány při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 96 hodin, jak je popsáno v části týkající se zpracování vzorků níže. Zbývající objemy vzorků lze skladovat při teplotě ≤-70 °C.

Po odběru do zkumavky Aptima Multitest mohou být vzorky uchovávány při teplotě 2 °C až 30 °C po dobu až 6 dnů.

**Poznámka:** *Vzorky přenesené do zkumavek Aptima Multitest doporučujeme uložit ve stojánku uzavřené víčky a ve vertikální poloze.*

Lze použít následující typy VTM/UTM.

- Přípravky Remel MicroTest, M4, M4RT, M5 nebo M6
- Univerzální transportní médium Copan Universal Transport Medium
- BD Universal Viral Transport Medium

**Poznámka:** *Nepoužívejte médium, které může obsahovat guanidinium thiokyanát ani žádný materiál obsahující guanidin.*

### Odběr nasofaryngeálního výplachu/aspirátu a nazálního aspirátu

Vzorky nasofaryngeálního výplachu/aspirátu a nazální aspirátu odeberte za použití standardních technik.

### Zpracování vzorků pomocí zkumavek pro lýzu vzorku Panther Fusion

- A. Před testováním v systému Panther přeneste 500 µl odebraného vzorku\* do zkumavky pro lýzu vzorku Panther Fusion.

**\*Poznámka:** *Při testování zmrazeného vzorku nechte vzorek před zpracováním vytemperovat na pokojovou teplotu.*

**Poznámka:** *Při použití softwaru pro testování otevřených zkumavek Aptima SARS-CoV-2 připravte zkumavku pro lýzu vzorku Panther Fusion, jak je popsáno níže v části Zpracování vzorků pomocí zkumavek pro lýzu vzorku Hologic s pevným uzávěrem.*

### Zpracování vzorků pomocí zkumavek pro lýzu vzorku Hologic s pevným uzávěrem

- A. Sejměte uzávěr ze zkumavky pro lýzu vzorku Hologic a uzávěr si ponechte.
- B. Před testováním v systému Panther přeneste 500 µl vzorku do zkumavky pro lýzu vzorku Hologic
- C. Doporučuje se zkumavku znovu uzavřít a jemně třikrát převrátit, aby byla zajištěna inaktivace viru a homogenní promíchání.
- D. Abyste zabránili kontaktu s horní částí zkumavky, uvolněte uzávěr a vložte zkumavku se vzorkem do stojanu na vzorky.
- E. Uzávěr odstraňte a zlikvidujte. Zkontrolujte zkumavku se vzorkem. Pokud se v ní nacházejí bubliny, opatrně je ze zkumavky se vzorkem odstraňte (použijte například špičku sterilního tamponu nebo podobnou metodu).
- F. Na stojan na vzorky umístěte přidržovač a stojan vložte do přístroje.



**Poznámka:** Zpracování vzorků pomocí zkumavky pro lýzu vzorku Hologic je k použití se softwarem pro testování otevřených zkumavek Aptima SARS-CoV-2.

### Zpracování vzorků pomocí vlastní zkumavky pro lýzu vzorku

A. Za použití sterilní nebo nesterilní standardní zkumavky vyrobené ze silikonizovaného skla, polypropylenového plastu nebo podobného materiálu, která má vnější průměr 12 až 13 mm a výšku 75 až 100 mm, převedte alikvotní část 0,78 ml ± 0,07 ml objemového STM do zkumavky pomocí pipety nebo opakovací pipety.

**Poznámka:** Pokud jsou zkumavky připraveny před použitím, zkumavku znovu uzavřete a skladujte při teplotě 15 až 30 °C až do použití při zpracování vzorků.

B. Sejměte uzávěr z vlastní zkumavky pro lýzu vzorku obsahující STM a uzávěr si ponechte.

C. Před testováním v systému Panther přeneste 500 µl vzorku do vlastní zkumavky pro lýzu vzorku obsahující STM.

D. Doporučuje se zkumavku se vzorkem znovu uzavřít a jemně třikrát převrátit, aby byla zajištěna inaktivace viru a homogenní promíchání.

E. Abyste zabránili kontaktu s horní částí zkumavky, uvolněte uzávěr a vložte zkumavku se vzorkem do stojanu na vzorky.

F. Uzávěr odstraňte a zlikvidujte. Zkontrolujte zkumavku se vzorkem. Pokud se v ní nacházejí bubliny, opatrně je ze zkumavky odstraňte (použijte například špičku sterilního tamponu nebo podobnou metodu).

G. Na stojan na vzorky umístěte přidržovač a stojan vložte do přístroje.

**Poznámka:** Zpracování vzorků pomocí vlastní zkumavky pro lýzu vzorku je k použití se softwarem pro testování otevřených zkumavek Aptima SARS-CoV-2.

### Zpracování vzorků pomocí transferové zkumavky na vzorek Aptima

A. Před testováním v systému Panther přeneste 1 ml odebraného vzorku\* do transferové zkumavky na vzorek Aptima\*\*.

**\*Poznámka:** Při testování zmrazeného vzorku nechte vzorek před zpracováním vytemperovat na pokojovou teplotu.

**\*\*Poznámka:** Alternativně lze použít nepoužitou zkumavku Aptima Multitest nebo Aptima Unisex.

B. Transferovou zkumavku na vzorek Aptimaů pevně uzavřete.

C. Zkumavku opatrně 2krát až 3krát převraťte, aby se vzorek dostatečně promíchal.

**Poznámka:** Transferová zkumavka na vzorek Aptima nemůže být testována na systému s použitím softwaru pro testování otevřených zkumavek Aptima SARS-CoV-2.

### Zpracování vzorků pro vzorky odebrané odběrovou sadou Aptima Multitest

- A. Po umístění odebraného vzorku\* do zkumavky Aptima Multitest pomocí odběrové sady Aptima Multitest není nutné žádné další zpracování.

**\*Poznámka:** Při testování zmrazeného vzorku nechte vzorek před zpracováním vytemperovat na pokojovou teplotu.

**Poznámka:** V systému používajícím software pro testování otevřených zkumavek Aptima SARS-CoV-2, přeneste odebraný vzorek ze zkumavky Aptima Multitest do zkumavky pro lýzu vzorku Hologic nebo vlastní zkumavky pro lýzu vzorku, jak je popsáno v částech pro zpracování vzorků výše.

### Uskladnění vzorku

- A. Vzorek může být v systému Panther archivován pro další pozdější testování.

- B. Uskladnění vzorků před nebo po testování

1. Vzorky ve zkumavce Aptima Multitest, zkumavce na vzorky Aptima nebo zkumavce pro lýzu vzorku by měly být skladovány ve vertikální poloze ve stojanu za následujících podmínek:
  - při teplotě 2 až 30 °C po dobu až 6 dnů
2. Vzorky by měly být překryty novým a čistým plastovým filmem nebo fólií.
3. Pokud je třeba testované vzorky zmrazit nebo odeslat, odstraňte ze zkumavek propichovací uzávěr a nahraďte jej novým nepropichovacím uzávěrem. Je-li nutné odeslat vzorky k testování na jiné pracoviště, musí se dodržet doporučené teploty. Před otevřením vzorků musí být zkumavky centrifugovány po dobu 5 minut při relativní odstředivé síle 420 (RCF), aby se veškerá kapalina dostala na dno zkumavky. Zabraňte rozstříkávání a křížové kontaminaci.

**Poznámka:** K zakrytí zkumavek pro zmrazení nebo přepravu by neměl být používán uzávěr zkumavek Fisherbrand™ VersaClosure™.

### Přeprava klinických vzorků

Dodržujte podmínky skladování vzorků, jak je popsáno v části *Odběr a skladování vzorků*, strana 6.

**Poznámka:** Vzorky musí být přepravovány v souladu s platnými národními, mezinárodními a regionálními předpisy pro přepravu.

## Systém Panther

Níže jsou uvedeny reagentie testu Aptima SARS-CoV-2 pro systém Panther. Vedle názvu reagentie jsou rovněž uvedeny symboly pro identifikaci reagentií.

### Reagentie a materiály, které jsou součástí dodávky

#### Souprava pro testování Aptima SARS-CoV-2 PRD-06419

250 testů (2 boxy)

**Chlazený box Aptima SARS-CoV-2 (box 1 ze 2)**  
(po přijetí skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C)

Symbol	Součást	Množství Souprava s 250 testy
<b>A</b>	<b>Amplifikační reagentie Aptima SARS-CoV-2</b> <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufovaném roztoku obsahujícím &lt;5 % objemového činidla.</i>	1 lahvička
<b>E</b>	<b>Enzymová reagentie Aptima SARS-CoV-2</b> <i>Reverzní transkriptáza a RNA polymeráza vysušená v roztoku pufovaném HEPES obsahujícím &lt;10 % objemového činidla.</i>	1 lahvička
<b>P</b>	<b>Reagentie sondy Aptima SARS-CoV-2</b> <i>Neinfekční chemiluminiscenční sondy DNA sušené v sukcinátovém pufovaném roztoku obsahujícím &lt;5 % detergentu.</i>	1 lahvička
<b>IC</b>	<b>Vnitřní kontrola Aptima SARS-CoV-2</b>	1 lahvička

**Box s pokojovou teplotou SARS-CoV-2 (box 2 ze 2)**  
(po přijetí skladujte při teplotě 15 °C až 30 °C)

Symbol	Součást	Množství Souprava s 250 testy
<b>AR</b>	<b>Rekonstituční roztok pro amplifikační reagentii Aptima SARS-CoV-2</b> <i>Vodný roztok obsahující konzervační látky.</i>	1 x 27,7 ml
<b>ER</b>	<b>Rekonstituční roztok pro enzymovou reagentii SARS-CoV-2</b> <i>Roztok pufovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 x 11,1 ml
<b>PR</b>	<b>Rekonstituční roztok pro reagentii sondy SARS-CoV-2</b> <i>Sukcinátem pufovaný roztok obsahující &lt;5 % detergentu.</i>	1 x 35,4 ml
<b>S</b>	<b>Selekční reagentie Aptima SARS-CoV-2</b> <i>600 mmol boritanem pufovaného roztoku obsahujícího surfaktant.</i>	1 x 108 ml
<b>TCR</b>	<b>Reagentie pro záchyt cíle Aptima SARS-CoV-2</b> <i>Pufovaný solný roztok obsahující tuhé fáze a záchytové oligomery.</i>	1 x 54 ml
	<b>Rekonstituční objímky</b>	3
	<b>List s čárovým kódem hlavní šarže</b>	1 list

**Materiály požadované a dostupné samostatně**

**Poznámka:** Materiály dostupné od společnosti Hologic mají katalogová čísla dle seznamu, pokud není uvedeno jinak.

	<u>Kat. č.</u>
Systém Panther	303095
Souprava kapalin pro test Aptima <i>(Promývací roztok Aptima, pufr Aptima pro deaktivční kapalinu a olejová reagentie Aptima)</i>	303014 (1000 testů)
Autodetekční souprava Aptima	303013 (1000 testů)
Vícezkumavkové jednotky (MTU)	104772-02
Souprava odpadních vaků Panther	902731
Kryt odpadního koše Panther	504405
Nebo souprava pro běhy Panther <i>obsahuje MTU, odpadní vaky, kryty odpadních košů, kapaliny pro test a autodetekční reagentie</i>	303096 (5000 testů)
Špičky, 1000 µl, vodivé, detekující kapalinu	10612513 (Tecan)
Souprava kontrol Aptima SARS-CoV-2 <i>PC – Pozitivní kontrola Aptima SARS-CoV-2. Neinfekční nukleové kyseliny v pufrovaném roztoku obsahujícím &lt;5 % detergentu. Množství 5 x 1,7 ml</i> <i>NC – Negativní kontrola Aptima SARS-CoV-2. Pufrovaný roztok obsahující &lt;5 % detergentu. Množství 5 x 1,7 ml</i>	PRD-06420
Souprava pro odběr vzorků stěrů Aptima Multitest	PRD-03546
Souprava pro odběr vzorků Aptima	301154C
Souprava pro odběr vzorků Aptima - potiskovatelná	PRD-05110
Souprava pro odběr vzorků Aptima Unisex pro endocervikální a mužské uretrální stěry	301041
Zkumavky pro lýzu vzorku Panther Fusion, 100 ks v sáčku <i>zkumavka obsahuje 0,71 ml STM, s propichovacím uzávěrem</i>	PRD-04339
Zkumavka pro lýzu vzorku Hologic, po 100 kusech <i>zkumavka obsahuje 0,71 ml STM, s pevným uzávěrem</i>	PRD-06554
Zkumavka pro lýzu vzorku Hologic, po 1200 kusech <i>zkumavka obsahuje 0,71 ml STM, s pevným uzávěrem</i>	PRD-06660
Médium pro transport vzorků, 1 láhev, 80 ml	PRD-04423
Médium pro transport vzorků, 1 láhev, 120 ml	PRD-06657
Bělidlo, 5 % až 7 % (0,7 mol až 1,0 mol) roztok chlornanu sodného	—
Jednorázové rukavice	—
Náhradní nepropichovací uzávěry	504415
Uzávěry zkumavek Fisherbrand VersaClosure*, 1000 v balení <i>* jednorázový uzávěr zkumavky pro zkumavku pro lýzu vzorku Hologic (pouze PRD-06554) po testování</i>	02-707

	<u>Kat. č.</u>
Náhradní uzávěry pro soupravy s 250 testy	—
Rekonstituční roztoky pro amplifikační reagensii a reagensii sondy	CL0041 (100 uzávěrů)
Rekonstituční roztok pro enzymovou reagensii TCR a selekční reagensie	501616 (100 uzávěrů) CL0040 (100 uzávěrů)

## Volitelné materiály

	<u>Kat. č.</u>
Hologic Bleach Enhancer pro čištění pro rutinní čištění povrchů a zařízení	302101
Třepačka pro zkumavky	—

## Provádění testování na systému Panther

**Poznámka:** Další procedurální informace naleznete v uživatelské příručce systému Panther / Panther Fusion.

### A. Příprava pracovního prostoru

Očistěte pracovní povrchy, kde budou připravovány reagensie a vzorky. Pracovní povrchy otřete 2,5 % – 3,5 % (0,35M – 0,5M) roztokem chlornanu sodného. Nechte chlornan sodný působit na povrchy alespoň 1 minutu a poté je opláchněte vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pokryjte povrchy stolů, na kterých budou připravovány reagensie a vzorky, čistým laboratorním absorpčním ubrusem s gumovou vrstvou.

### B. Rekonstituce/příprava reagensie z nové soupravy

**Poznámka:** Před zahájením jakékoli práce na systému Panther je třeba provést rekonstrukci reagensií.

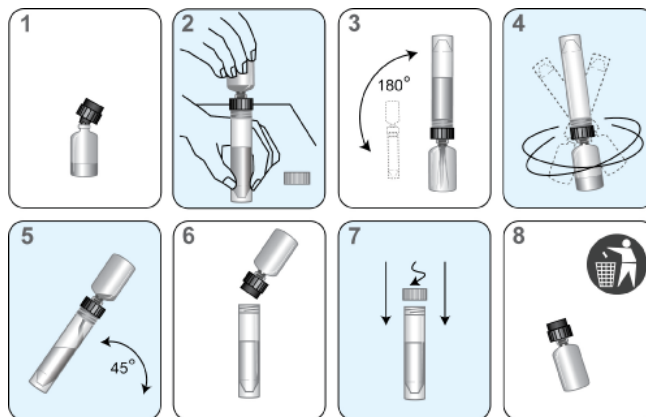
1. K rekonstituci amplifikační reagensie, enzymové reagensie a reagensie sondy smíchejte obsah lahvičky s lyofilizovanou reagensií s rekonstitučním roztokem. V případě, že rekonstituované roztoky byly uloženy v chladničce, nechte je před použitím dosáhnout pokojové teploty.
  - a. Každý rekonstituční roztok spárujte s odpovídající lyofilizovanou reagensií. Před připojením rekonstituční objímky se ujistěte, že rekonstituční roztoky a reagensie mají shodné barvy štítků.
  - b. Zkontrolujte čísla šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže, abyste zajistili správné spárování reagensií.
  - c. Otevřete lahvičku s lyofilizovanou reagensií a pevně zasuňte vroubkovaný konec rekonstituční objímky do otvoru lahvičky (Obrázek 1, krok 1).
  - d. Otevřete odpovídající rekonstituční roztok a uzávěr položte na čistý zakrytý pracovní povrch.

- e. Držte lahvičku s rekonstitučním roztokem na stole a pevně zasuňte druhý konec rekonstituční objímky do otvoru v lahvičce (Obrázek 1, krok 2).
- f. Pomalu překlopte spojené lahvičky. Nechte roztok přetéci z lahvičky do skleněné lahvičky (Obrázek 1, krok 3).
- g. Otáčením důkladně promíchejte roztok ve skleněné lahvičce (Obrázek 1, krok 4).
- h. Počkejte, až se lyofilizovaná reagencie zcela rozpustí, obraťte spojené lahvičky zpět při naklonění pod úhlem 45°, aby nedocházelo k tvorbě pěny (Obrázek 1, krok 5). Nechte veškerou tekutinu vytéci zpět do plastové lahvičky.
- i. Odstraňte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (Obrázek 1, Krok 6).
- j. Znovu uzavřete plastovou lahvičku uzávěrem. Na štítek napište iniciály obsluhy a datum rekonstituce (Obrázek 1, krok 7).
- k. Rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku zlikvidujte (Obrázek 1, Krok 8).

**Volitelná možnost:** Je povoleno další promíchání amplifikační reagencie, enzymová reagencie a reagencie sondy s použitím třepačky na zkumavky. Reagencie mohou být promíchány umístěním znovu uzavřené plastové láhve na třepačku nastavenou na 20 ot./min. (nebo ekvivalentní hodnotu) po dobu minimálně 5 minut.

**Varování:** Při rekonstituci reagensů zabraňte tvorbě pěny. Pěna ovlivňuje detekci hladin v systému Panther.

**Varování:** Dostatečné promísení reagensů je nezbytné pro dosažení požadovaných výsledků testu.



**Obrázek 1. Proces rekonstituce systému Panther**

2. Příprava pracovní reagencie záchytu cíle (wTCR)
  - a. Spárujte odpovídající lahvičky TCR a IC.
  - b. Zkontrolujte čísla šarže reagensů na listu s čárovým kódem hlavní šarže, abyste zajistili správné spárování reagensů v soupravě.
  - c. Otevřete lahvičku TCR a uzávěr odložte na čistý a zakrytý pracovní povrch.
  - d. Otevřete lahvičku IC a nalijte celý obsah do lahvičky TCR. Malé množství roztoku zůstane v lahvičce s IC.
  - e. Uzavřete lahvičku s TCR a krouživými pohyby jemně promíchejte její obsah. Při tomto kroku zabraňte tvorbě pěny.

- f. Na štítek zapište iniciály obsluhy a aktuální datum.
  - g. Zlikvidujte lahvičku IC a její uzávěr.
3. Příprava selekční reagentie
- a. Zkontrolujte číslo šarže na lahvičce s reagentií, abyste se ujistili, že odpovídá číslu šarže na listu s čárovými kódy hlavní šarže.
  - b. Na štítek zapište iniciály obsluhy a aktuální datum.

**Poznámka:** Před vložením do systému všechny reagentie pečlivě promíchejte opatrným převrácením. Při převrácení lahviček s reagentiemi zabraňte tvorbě pěny.

C. Příprava dříve rekonstituovaných reagentií

1. Před zahájením testu musejí dříve rekonstituované amplifikační reagentie, enzymové reagentie a reagentie sondy dosáhnout pokojové teploty (15 až 30 °C).  
**Volitelná možnost:** Reagentie mohou dosáhnout pokojové teploty umístěním rekonstituované amplifikační reagentie, enzymové reagentie a reagentie sondy na třepačku nastavenou na 20 ot./min. (nebo ekvivalentní hodnotu) po dobu minimálně 25 minut.
2. Pokud rekonstituovaná reagentie sondy obsahuje sraženinu, která se při pokojové teplotě nerozpustí, zahřívajte uzavřenou lahvičku při teplotě, která nepřekročí 62 °C, po dobu 1 až 2 minut. Po tomto zahřívacím kroku může být reagentie sondy použita i v případě, že v ní zůstane zbytková sraženina. Reagentii sondy promíchejte převrácením, přičemž dbejte na to, aby se před vložením do systému nevytvořila pěna.
3. Před vložením reagentií do systému všechny reagentie pečlivě promíchejte opatrným převrácením. Při převrácení lahviček s reagentiemi zabraňte tvorbě pěny. Tento krok není nutný, pokud jsou reagentie vloženy do systému bezprostředně po promíchání na třepačce.
4. Lahve s reagentiemi nedoplňujte. Systém Panther rozpozná lahvičky, které byly doplněny, a zamítne je.
5. *Dostatečné promísení reagentií je nezbytné pro dosažení požadovaných výsledků testu.*

D. Manipulace se vzorky pomocí zkumavky pro lýzu vzorku Panther Fusion nebo transferové zkumavky na vzorek Aptima.

**Poznámka:** Před vložením vzorků do systému Panther Fusion je připravte dle pokynů ke zpracování vzorku v části *Odběr a skladování vzorků*.

1. Před vložením do stojanu zkumavky se vzorky zkontrolujte. Jestliže zkumavka se vzorkem obsahuje bubliny nebo má nižší objem, než je obvyklé, jemně poklepejte na dno zkumavky, aby obsah klesl na dno.

**Poznámka:** U vzorků přenesených do zkumavky pro lýzu vzorku Panther Fusion nebo transferové zkumavky na vzorek Aptima zajistěte, aby byl do zkumavky přidán odpovídající objem vzorku, aby nedošlo k procesní chybě. Pokud je do zkumavky přidán adekvátně odebraný vzorek, je to dostatečný objem pro provedení 3 extrakcí nukleové kyseliny.

E. Manipulace se vzorky pomocí zkumavky pro lýzu vzorku Hologic nebo vlastní zkumavky pro lýzu vzorku

1. Připravte vzorky podle pokynů ke zpracování vzorku v části *Odběr a skladování vzorků*.

**Poznámka:** U vzorků přenesených zkumavky pro lýzu vzorku Hologic nebo vlastní zkumavky pro lýzu vzorku zajistěte, aby byl do zkumavky přidán odpovídající objem vzorku, aby nedošlo k procesní chybě. Pokud je do zkumavky přidán adekvátně odebraný vzorek, je to dostatečný objem pro provedení 2 extrakcí nukleové kyseliny

**Poznámka:** Pokud používáte software pro testování otevřených zkumavek Aptima SARS-CoV-2, odstraňte před vložením do systému Panther uzávěr z pozitivní a negativní kontroly.

#### F. Příprava systému

1. Nastavte systém podle pokynů uvedených v *uživatelské příručce systému Panther / Panther Fusion* a v části *Poznámky k postupu*. Použijte stojany na reagentie vhodné velikosti a TCR adaptéry.
2. Vložte vzorky.

### Poznámky k postupu

#### A. Kontroly

1. Pro správnou práci se softwarem Aptima Assay pro systém Panther je nutný jeden pár kontrolních vzorků. Zkumavky s pozitivní kontrolou a negativní kontrolou Aptima SARS-CoV-2 můžete vložit do libovolné pozice stojanu nebo libovolné řady vzorků v systému Panther. Pipetování vzorku pacienta začne, jestliže byla splněna jedna z následujících dvou podmínek:
  - a. Systém momentálně zpracovává pár kontrol.
  - b. V systému jsou registrovány platné výsledky kontrol.
2. Jakmile byly kontrolní zkumavky napipetovány a zpracovávány pro konkrétní soupravu reagentií, mohou být vzorky pacientů použity s přiřazenou soupravou do 24 hodin, mimo následujících výjimek:
  - a. Výsledky kontrol jsou neplatné.
  - b. Přiřazená souprava reagentií testu je vyjmuta ze systému.
  - c. Přiřazená souprava reagentií testu překročila limity stability.
3. Každá zkumavka s kontrolou Aptima může být testována jednou. Chcete-li ze zkumavky pipetovat více než jednou, může dojít k chybám zpracování.
4. Pipetování vzorku od pacienta začne, jakmile bude splněna jedna z následujících dvou podmínek:
  - a. V systému jsou registrovány platné výsledky kontrol.
  - b. Dvojice kontrol se aktuálně zpracovává v systému.

#### B. Teplota

Pokojeová teplota je definována jako 15 až 30 °C.

#### C. Prášek z rukavic

Stejně jako u jiných systémů reagentií může nadbytek talku z rukavic způsobit kontaminaci otevřených zkumavek. Doporučujeme používat rukavice bez talku.

#### D. Protokol monitorování kontaminace laboratoří pro systém Panther

Existuje mnoho laboratorně specifických faktorů, které mohou přispět ke kontaminaci, včetně počtu prováděných testů, pracovního postupu, výskytu onemocnění a různých dalších laboratorních činností. Tyto faktory je třeba brát v úvahu při zjišťování frekvence monitorování kontaminace. Interval pro sledování kontaminace je třeba stanovit na základě postupů a praxe jednotlivých laboratoří.



Ke sledování laboratorní kontaminace je možné provést následující postup pomocí soupravy pro odběr vzorků Aptima Unisex pro endocervikální a mužské vzorky z uretrálních stěrů:

1. Označte transportní zkumavky pro přenos stěrů čísly odpovídajícími oblastem, které mají být testovány.
2. Vyjměte tampón pro odběr vzorku (modrý tyčinkový tampón se zeleným potiskem) z obalu, navlhčete tampón v médiu pro transport vzorků (STM) a kruhovým pohybem proveďte stěr určené oblasti.
3. Okamžitě vložte tampón do transportní zkumavky.
4. Opatrně odlomte tyčinku tampónu v místě označení; dbejte přitom na to, aby nedošlo k rozstříknutí obsahu.
5. Transportní zkumavku pro přenos stěrů znovu těsně uzavřete.
6. Opakujte kroky 2 až 5 pro každou oblast, kde má být proveden stěr.

E. Pokud jsou výsledky pozitivní, nahlédněte do kapitoly *Interpretace výsledků*. Další informace o sledování kontaminace specifické pro systém Panther získáte od technické podpory společnosti Hologic.

## Kontrola kvality

Běh testu nebo výsledek vzorku mohou být zneplatněny systémem Panther, pokud se objeví problémy při provádění testu. Vzorky s neplatnými výsledky je nutné testovat znovu.

### Negativní a pozitivní kontroly

Aby byly generovány platné výsledky, musí být testována sada kontrol testu. Jedno opakování negativní a pozitivní kontroly testu musí být testováno pokaždé, když je do systému Panther vložena nová souprava nebo pokud uplynula doba expirace aktuální sady platných kontrol.

Systém Panther je konfigurován tak, že vyžaduje testy kontrol v intervalu specifikovaném správcem systému až do 24 dní. Software v systému Panther upozorní obsluhu, když je potřebné testování kontrol, a nespustí nové testy, dokud nejsou do systému vloženy kontroly a nezačne jejich zpracování.

Během zpracování systém Panther automaticky ověří kritéria pro akceptování kontrol testu. Aby byly generovány platné výsledky, kontroly testu musí projít řadou kontrol platnosti, které provádí systém Panther.

Pokud kontroly testu projdou všemi kontrolami platnosti, jsou považovány za platné pro časový interval specifikovaný správcem systému. Když tento časový interval uplyne, platnost kontrol testu vyprší a systém Panther vyžaduje, aby před zahájením testování jakýchkoli nových vzorků byla testována nová sada kontrol testu.

Pokud některá z kontrol testu neprojde kontrolou platnosti, systém Panther automaticky zruší dotčené vzorky a před zahájením testování nových vzorků vyžaduje test nové sady kontrol testu.

### Vnitřní kontrola

Vnitřní kontrola je ke každému vzorku přidána s wTCR. Během zpracování jsou softwarem systému Panther automaticky ověřována kritéria pro přijetí vnitřní kontroly. Detekce vnitřní kontroly není vyžadována pro vzorky, které jsou pozitivní na virus SARS-CoV-2. Vnitřní kontrola musí být detekována ve všech vzorcích, které jsou negativní pro cíle SARS-CoV-2; vzorky, které nesplňují tato kritéria, budou označeny jako neplatné. Každý vzorek s neplatným výsledkem musí být testován znovu.

Systém Panther je navržen tak, aby přesně ověřoval procesy při provádění postupů podle pokynů uvedených v této příbalové informaci a v *Příručce k obsluze systému Panther / Panther Fusion*.

## Interpretace výsledků

Systém Panther automaticky stanoví výsledky testu vzorků a kontrol. Výsledek testu může být negativní, pozitivní nebo neplatný.

V tabulce 1 jsou uvedeny možné hlášené výsledky pro platný test s interpretací výsledků.

Tabulka 1: Interpretace výsledků

Výsledek SARS-CoV-2	Výsledek IC	Interpretace
Neg.	Platné	Virus SARS-CoV-2 nebyl detekován.
Poz.	Platné	Byl detekován virus SARS-CoV-2.
Neplatné	Neplatné	Neplatné. Při generování výsledku došlo k chybě, opakujte test.

Poznámka: Detekce vnitřní kontroly není vyžadována pro vzorky, které jsou na virus SARS-CoV-2 pozitivní.

## Omezení

- A. Tento test mohou používat pouze osoby vyškolené v postupu. Nedodržení těchto pokynů může vést k chybným výsledkům.
- B. Spolehlivost výsledků závisí na adekvátním odběru, transportu, skladování a zpracování vzorků.
- C. Zabraňte kontaminaci dodržováním správné laboratorní praxe a postupů uvedených v této příbalové informaci.
- D. Pozitivní výsledek značí detekci nukleové kyseliny z příslušného viru. Nukleová kyselina může přetrvávat i poté, co již virus není životaschopný.

## Výkon testu Panther SARS-CoV-2

### Analytická citlivost

Analytická citlivost (mez detekce nebo LoD) testu Aptima SARS-CoV-2 byla stanovena testováním sériových ředění sdružených negativních klinických vzorků nasofaryngeálních výtěrů obohacených inaktivovaným kultivovaným virem SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020; BEI Resources; NR-52281). Deset replikátů každého sériového ředění bylo vyhodnoceno za použití každé ze dvou šarží testovacího činidla napříč dvěma systémy Panther. LoD bylo stanoveno na 0,01 TCID<sub>50</sub>/ml a ověřeno testováním dalších 20 replikátů s jednou šarží testovacího činidla. LoD bylo také potvrzeno s použitím fyziologického roztoku, Liquid Amies a média pro transport vzorků (specimen transport medium, STM) jako médií pro odběr stěru.

Analytická citlivost testu Aptima SARS-CoV-2 byla dále vyhodnocena za použití referenčního materiálu od tří komerčních dodavatelů. Sériová ředění referenčního materiálu byla provedena v STM a bylo testováno 20 nebo více replikátů na každé úrovni s použitím každé ze dvou šarží testovacího činidla na dvou systémech Panther. Referenční materiály a nejnižší úrovně ředění vedoucí k detekci  $\geq 95$  % jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 2: Hodnocení analytické citlivosti komerčních referenčních materiálů

Dodavatel	Název	Referenční č.	Č. šarže	Analytická citlivost
ZeptoMetrix	SARS-CoV-2 External Run control	NATSARS(COV2)-ERC	324332	83 kopií/ml
SeraCare	AccuPlex SARS-Cov-2 Reference Material	0505-0126	10483977	83 kopií/ml
Exact Diagnostic	SARS-CoV-2 Standard	COV019	20033001	83 kopií/ml

### Analytická citlivost s použitím pracovního postupu s transferovou zkumavkou na vzorek Aptima

Stanovená analytická citlivost 0,01 TCID<sub>50</sub>/ml (mez detekce) testu Aptima SARS-CoV-2 byla potvrzena za použití pracovního postupu přípravy vzorku pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima. Potvrzení bylo provedeno za použití inaktivovaného kultivovaného viru SARS-CoV-2 (USA-QA1/2020; BEI Resources; NR-52281) v negativním klinickém výtěru z nosohltanu (NP), solném roztoku, Liquid Amies a médiu pro transport vzorků (STM) jako médií pro odběr stěru testováním 20 replikátů s jednou šarží činidla (Tabulka č 3).

Tabulka 3: Potvrzení LoD s použitím pracovního postupu pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima

Cíl	Matrice	Poč. platných	Poč. pozitivních	% pozitivních	Prům. kRLU	Stand. odch. kRLU	%CV
Inaktivovaný virus SARS-CoV-2	Stěr NP	20	20	100 %	1063	61	5,8 %
	STM	20	20	100 %	1064	116	10,9 %
	Fyziologický roztok	20	20	100 %	1102	60	5,4 %
	Liquid Amies	20	20	100 %	1101	51	4,7 %

## Inkluzivita

Inkluzivita testu Aptima SARS-CoV-2 byla hodnocena pomocí analýzy *in silico* záchytu cíle testu u oligonukleotidů, amplifikačních primerů a detekčních sond ve vztahu k 9 896 sekvencím RNA viru SARS-CoV-2 dostupným v genových databázích NCBI a GISAID. Z analýzy byla odstraněna jakákoli sekvence s chybějícími nebo nejasnými informacemi o sekvenci, výsledkem čehož bylo vyhodnoceno 9 879 sekvencí pro první cílovou oblast testu a 9 880 pro druhou cílovou oblast. Analýza *in silico* ukázala 100 % homologii s testovacími oligonukleotidy obou cílových systémů pro 9 749 (98,5 %) hodnocených sekvencí a 100 % homologii s testovacími oligonukleotidy alespoň jednoho cílového systému pro všech 9 896 sekvencí. Nebyly zjištěny žádné hodnocené sekvence s identifikovanými neshodami, u nichž by se předpokládalo, že budou mít vliv na vazbu nebo výkon obou cílových systémů.

## Analytická specifita a mikrobiální interference

Analytická specifita testu Aptima SARS-CoV-2 byla hodnocena testováním 30 mikroorganismů představujících běžné respirační patogeny nebo blízce příbuzné druhy (Tabulka 4). Bakterie byly testovány při počtu  $10^6$  CFU/ml a viry byly testovány při  $10^5$  TCID<sub>50</sub>/ml, pokud není uvedeno jinak. Mikroorganismy byly testovány s a bez přítomnosti inaktivovaného viru SARS-CoV-2 při hodnotě 3x LoD. Analytická specifita testu Aptima SARS-CoV-2 byla 100 % a nebyl nalezen žádný důkaz mikrobiální interference.

Kromě testování mikroorganismů byla provedena analýza *in silico* k posouzení specifity testu ve vztahu k mikroorganismům uvedeným v Tabulce 4. Analýza *in silico* neprokázala žádnou pravděpodobnou zkříženou reaktivitu se žádnou ze 112 hodnocených sekvencí GenBank.

Tabulka 4: Analytická specifická a mikrobiální interference testu Aptima SARS-CoV-2

Mikroorganismus	Koncentrace	Mikroorganismus	Koncentrace
Lidský koronavirus 229E	1E+5 TCID <sub>50</sub> /ml	Virus parainfluenza 1	1E+5 TCID <sub>50</sub> /ml
Lidský koronavirus OC43	1E+5 TCID <sub>50</sub> /ml	Virus parainfluenza 2	1E+5 TCID <sub>50</sub> /ml
Lidský koronavirus HKU1 <sup>1</sup>	1E+6 kopií/ml	Virus parainfluenza 3	1E+5 TCID <sub>50</sub> /ml
Lidský koronavirus NL63	1E+4 TCID <sub>50</sub> /ml	Virus parainfluenza 4	1E+3 TCID <sub>50</sub> /ml
Koronavirus SARS <sup>1</sup>	1E+6 kopií/ml	Chřipka A	1E+5 TCID <sub>50</sub> /ml
Koronavirus MERS	1E+4 TCID <sub>50</sub> /ml	Chřipka B	2E+3 TCID <sub>50</sub> /ml
Adenovirus (např. C1 Ad. 71)	1E+5 TCID <sub>50</sub> /ml	Enterovirus (např. EV68)	1E+5 TCID <sub>50</sub> /ml
Lidský metapneumovirus (hMPV)	1E+6 TCID <sub>50</sub> /ml	Rhinovirus	1E+4 TCID <sub>50</sub> /ml
Respirační syncytiální virus	1E+5 TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Legionella pneumophila</i>	1E+6 CFU/ml
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1E+6 IFU/ml	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1E+6 TCID <sub>50</sub> /ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	1E+6 CFU/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1E+6 CFU/ml
<i>Bordetella pertussis</i>	1E+6 CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1E+6 CFU/ml
<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	1E+6 nuc/ml	<i>Streptococcus salivarius</i>	1E+6 CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	1E+6 CFU/ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1E+6 CFU/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1E+6 CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1E+6 CFU/ml
Souhrnný lidský nosní výplach <sup>2</sup> – reprezentuje rozmanitou mikrobiální flóru v dýchacích cestách člověka	Není k dispozici		

<sup>1</sup> Purifikovaná nukleová kyselina kultivovaného viru a celého genomu pro lidský koronavirus HKU1 a koronavirus SARS není momentálně dostupná. K vyhodnocení zkřížené reaktivity a mikrobiální interference byly použity IVT HKU1 a SARS-koronaviru odpovídající oblastem genu ORF1ab, na které cílí test.

<sup>2</sup> Namísto vyhodnocení souhrnného lidského nosního výplachu bylo provedeno testování 30 individuálních negativních vzorků klinického výtěru nosohltanu, aby představovaly různorodou mikrobiální flóru v dýchacích cestách člověka.

## Klinický výkon

Klinický výkon testu Aptima SARS-CoV-2 byl vyhodnocen ve srovnání s testem Panther Fusion SARS-CoV-2 (Hologic, Inc.) za použití panelu zbývajících klinických vzorků. Pro studii byly shromážděny zbylé klinické vzorky výtěrů z nosohltanu od pacientů ze Spojených států se známkami a příznaky respirační infekce.

Pozitivní procentní shoda (Positive Percent Agreement, PPA) a negativní procentní shoda (Negative Percent Agreement, NPA) byly vypočteny ve vztahu k testu Panther Fusion jako referenčnímu výsledku, jak je uvedeno v Tabulce 5. Test Aptima SARS-CoV-2 vykázal pozitivní a negativní shodu 100 %, respektive 98,2 %.

Nasofaryngeální výplach/aspirát, nazální aspiráty, výtěry nosu a výtěry střední skořepy jsou přijatelnými vzorky pro testování virových respiračních infekcí. Výkonnost těchto typů vzorků však s použitím testu Aptima SARS-CoV-2 nebyla doposud specificky hodnocena.

Tabulka 5: Klinická shoda testu Aptima SARS-CoV-2

		Test Panther Fusion SARS-CoV-2	
		Pozitivní	Negativní
Test Aptima SARS-CoV-2	Pozitivní	50	1
	Negativní	0	54

Pozitivní procentuální shoda: (95 % CI): 100 % (92,9–100 %)

Negativní procentuální shoda: (95 % CI): 98,2 % (90,4–99,7 %)

Celková shoda: (95 % CI): 99,0 % (94,8–99,8 %)

### Klinický výkon s aranžovaným panelem

Klinická výkonnost testu Aptima SARS-CoV-2 s použitím pracovního postupu přípravy pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima byla hodnocena ve srovnání s panelem aranžovaných vzorků. Pro studii byl testován panel 115 zbylých klinických nasofaryngeálních vzorků s použitím pracovních postupů pro zkumavku pro lýzu vzorku Panther Fusion (zkumavka pro lýzu vzorku) i pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima. Všechny vzorky byly odebrány od pacientů ze Spojených států se známkami a příznaky respirační infekce. Panel se skládal ze 65 vzorků pozitivních na virus SARS-CoV-2 a 50 vzorků negativních na virus SARS-CoV-2. Ze 65 pozitivních vzorků bylo 40 v koncentracích 0,5–2x LoD a 25 bylo v koncentracích 3–5x LoD s použitím inaktivovaného kultivovaného viru SARS-CoV-2 (USA-QA1/2020; BEI Resources; NR-52281) jako cíle.

Pozitivní procentuální shoda (PPA) a negativní procentuální shoda (NPA) pro oba pracovní postupy přípravy vzorků byla vypočtena ve vztahu k očekávanému výsledku panelu aranžovaných vzorků, jak je uvedeno v Tabulce 6 pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima a Tabulce 7 pro zkumavku pro lýzu vzorku. Detekční charakteristiky pro aranžované vzorky byly vypočteny na základě koncentrace cíle, jak je uvedeno v Tabulce 8. Oba pracovní postupy přípravy vzorků vykázaly 100 % shodu s hodnocenými panely.

Tabulka 6: Výkon pracovního postupu pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima ve vztahu k očekávaným výsledkům

		Očekávaný výsledek		
		Pozitivní	Negativní	Celkem
Výsledek pro odběrovou zkumavku Aptima	Pozitivní	65	0	65
	Negativní	0	50	50
	Celkem	65	50	115

Celková shoda: 100 % (96,8–100 %)

Pozitivní shoda: 100 % (94,4–100 %)

Negativní shoda: 100 % (92,9–100 %)

Tabulka 7: Výkon pracovního postupu pro zkumavku pro lýzu vzorku ve vztahu k očekávaným výsledkům

		Očekávaný výsledek		
		Pozitivní	Negativní	Celkem
Výsledek zkumavky pro lýzu vzorku	Pozitivní	65	0	65
	Negativní	0	50	50
	Celkem	65	50	115

Celková shoda: 100 % (96,8–100 %)

Pozitivní shoda: 100 % (94,4–100 %)

Negativní shoda: 100 % (92,9–100 %)

Tabulka 8: Charakteristiky detekce pro aranžované vzorky stěru nosohltanu

Cílová konc.	Pracovní postup pro zkumavku pro odběr vzorků Aptima						Pracovní postup pro zkumavku pro lýzu vzorku					
	n Platné	n Pozitivní	% Pozitivní	Průměr kRLU	Stand. odch. kRLU	%CV	n Platné	n Pozitivní	% Pozitivní	Průměr kRLU	Stand. odch. kRLU	%CV
Neg.	50	0	0	299	9,7	3,2	50	0	0	300	9,3	3,1
0,5x LoD	10	10	100	1050	208,5	19,9	10	10	100	1153	113,0	9,8
1,0x LoD	10	10	100	1176	102,1	8,7	10	10	100	1205	24,3	2,0
1,5x LoD	10	10	100	1222	31,6	2,6	10	10	100	1223	21,9	1,8
2,0x LoD	10	10	100	1225	22,6	1,8	10	10	100	1237	26,0	2,1
3,0x LoD	10	10	100	1228	13,6	1,1	10	10	100	1215	25,5	2,1
4,0x LoD	5	5	100	1238	16,7	1,4	5	5	100	1212	12,5	1,0
5,0x LoD	10	10	100	1237	18,2	1,5	10	10	100	1246	28,3	2,3

### Klinický výkon s použitím přirozeně infikovaných pozitivních vzorků

Klinický výkon testu Aptima SARS-CoV-2 s použitím pracovního postupu přípravy vzorku pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima byl vyhodnocen ve srovnání s pracovním postupem pro použití zkumavky pro lýzu vzorku s vyhodnocením za použití testů Aptima a Panther Fusion SARS-CoV-2. Pro studii byly pomocí obou pracovních postupů připraveny a zpracovány tři ředění 15 jedinečných vzorků stěrů nosohltanu pozitivních na SARS-CoV-2. Vzorky SARS-CoV-2 byly dříve stanoveny jako pozitivní pomocí molekulárního testu od jiného výrobce než společnosti Hologic.

Pozitivní procentuální shoda mezi testem Aptima SARS-CoV-2 při použití pracovních postupů pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima a zkumavku pro lýzu vzorku byla při porovnání s testem Panther Fusion SARS-CoV-2 s použitím pracovního postupu pro použití zkumavky pro lýzu vzorku jako reference 97,5 % (87,1 % – 99,6 %), respektive 100 % (91,0 % – 100 %). Pozitivní procentuální shoda pracovního postupu pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima byla ve srovnání s pracovním postupem pro použití zkumavky pro lýzu vzorku 95,0 % (83,5 % – 98,6 %).

## Literatura

1. **Světová zdravotnická organizace.** Q&A on coronaviruses (COVID-19). 9. března 2020. Webové stránky Světové zdravotnické organizace <https://www.who.int/news-room/qa-detail/qa-coronaviruses>. Přístup 10. března 2020.
2. **Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí.** <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/how-covid-spreads.html>, přístup 17. června 2020.
3. **Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí.** Coronavirus Disease 2019-(COVID-19) in the U.S. Aktualizováno 10. března 2020. Webová stránka Centra pro kontrolu a prevenci nemocí <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-in-us.html>. Přístup 10. března 2020.
4. **Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí.** Coronavirus Disease 2019 Information for Travel. Stránka naposledy zkontrolována 8. března 2020. Webová stránka Centra pro kontrolu a prevenci nemocí <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/travelers/index.html>. Přístup 10. března 2020.
5. **Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí.** Coronavirus Disease 2019-(COVID-19) Situation Summary. Aktualizováno 9. března 2020. Webová stránka Centra pro kontrolu a prevenci nemocí <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/summary.html>. Přístup 10. března 2020.
6. **Institút pro klinické a laboratorní standardy.** Document M29 Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Webová stránka CLSI <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Přístup: září 2017.



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

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

Zákaznická podpora: +1 800 442 9892  
[customersupport@hologic.com](mailto:customersupport@hologic.com)

Technická podpora: +1 888 484 4747  
[molecularsupport@hologic.com](mailto:molecularsupport@hologic.com)

Více informací získáte na adrese [www.hologic.com](http://www.hologic.com).

Hologic, Aptima, Panther a Panther Fusion jsou ochranné známky a/nebo registrované ochranné známky společnosti Hologic, Inc. a/nebo jejích dceřiných společností v USA a/nebo v jiných zemích.

Veškeré ostatní ochranné známky, které se mohou objevit v této příbalové informaci, jsou majetkem příslušných vlastníků.

Tento produkt může být krytý jedním či více patenty USA uvedenými na webové stránce [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

©2020 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.

AW-21491-2601 Rev. 001  
2020-06