

REV AUTHORED BY S. LOWMAN	DATE 06/23/20	 	
REV DRAFTED BY S. LOWMAN	DATE 06/23/20		
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 ITALIAN	DOCUMENT NUMBER AW-21491-701	REV 002
REV. RELEASE DATE: 06/25/2020		SIZE A	SHEET 1 OF 1

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

Per uso diagnostico *in vitro*.

Solo per l'esportazione dagli U.S.A.

SOMMARIO

Informazioni generali	2
Usato previsto	2
Riepilogo e spiegazione del test	2
Principi della procedura	3
Avvertenze e precauzioni	4
Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti	5
Raccolta e conservazione dei campioni biologici	6
Trasporto dei campioni biologici	10
Panther System	11
Reagenti e materiali forniti	11
Materiali richiesti e disponibili separatamente	12
Procedura di analisi del Panther System	13
Note procedurali	16
Controllo della qualità	17
Interpretazione dei risultati	18
Limiti	19
Prestazioni del test Panther SARS-CoV-2 Assay	19
Bibliografia	24

Informazioni generali

Uso previsto

Il test Aptima™ SARS-CoV-2 Assay è un test diagnostico *in vitro* di amplificazione degli acidi nucleici inteso per il rilevamento qualitativo dell'RNA del SARS-CoV-2 isolato e purificato da campioni biologici di tamponi rinofaringei (NP), nasali, dal turbinato medio e orofaringei (OP), lavaggi/aspirati rinofaringei o aspirati nasali ottenuti dai soggetti che soddisfano i criteri clinici e/o epidemiologici per il COVID-19.

I risultati sono volti all'identificazione dell'RNA del SARS-CoV-2. L'RNA del SARS-CoV-2 è generalmente rilevabile nei campioni biologici del tratto respiratorio superiore durante la fase acuta dell'infezione. I risultati positivi sono indicativi della presenza dell'RNA del SARS-CoV-2; la correlazione clinica con l'anamnesi del paziente e altre informazioni diagnostiche sono necessarie per determinare lo stato di infezione del paziente. I risultati positivi non escludono un'infezione batterica o una coinfezione con altri virus.

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

Il test Aptima SARS-CoV-2 Assay sul Panther™ e Panther Fusion™ System è destinato all'uso da parte del personale clinico di laboratorio specificamente istruito e formato sul funzionamento dei summenzionati sistemi e delle procedure diagnostiche *in vitro*.

Riepilogo e spiegazione del test

I coronavirus sono una vasta famiglia di virus che possono causare malattie negli animali o nell'uomo. Nell'uomo sono diversi i coronavirus noti per causare infezioni respiratorie che vanno dal comune raffreddore a malattie più gravi come la Sindrome respiratoria mediorientale (MERS) e la Sindrome respiratoria acuta grave (SARS). Il coronavirus scoperto più di recente, SARS-CoV-2, causa la malattia associata al coronavirus chiamata COVID-19. Questo nuovo virus e questa nuova malattia erano sconosciuti prima dell'inizio dell'epidemia a Wuhan, in Cina, avvenuta nel dicembre 2019.¹

I sintomi più comuni dell'infezione COVID-19 sono febbre, astenia e tosse secca. Alcuni pazienti possono presentare indolenzimento e dolori muscolari, congestione nasale, rinorrea, mal di gola, perdita improvvisa del senso dell'olfatto o del gusto o diarrea. Questi sintomi sono generalmente lievi e iniziano gradualmente. Alcune persone risultano infette ma non sviluppano alcun sintomo e non presentano malori. La malattia può diffondersi attraverso le goccioline prodotte dall'apparato respiratorio quando una persona infetta tossisce o starnutisce, possono infiltrarsi nella bocca o nel naso di persone vicine o possono essere inalate nei polmoni.² Queste goccioline possono anche depositarsi sugli oggetti e sulle superfici nelle vicinanze del soggetto. Altre persone potrebbero contrarre il SARS-CoV-2 in seguito al contatto con tali oggetti o superfici e all'azione successiva di toccarsi gli occhi, il naso o la bocca.

Il virus che causa il COVID-19 sta infettando le persone e si diffonde facilmente da persona a persona.³ L'11 marzo 2020 l'epidemia di COVID-19 è stata definita come una pandemia dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS).^{4,5}

Principi della procedura

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

I campioni biologici vengono raccolti e trasferiti nelle rispettive provette di trasporto dei campioni. Le soluzioni di trasporto in queste provette liberano il target di RNA e lo proteggono dalla degradazione durante la conservazione. Quando il test Aptima SARS-CoV-2 Assay viene eseguito nel laboratorio, le molecole di RNA target vengono isolate dai campioni biologici mediante l'uso di oligomeri di cattura con un metodo chiamato "cattura del target" che si avvale di microparticelle magnetiche. Gli oligomeri di cattura contengono sequenze complementari a regioni specifiche delle molecole target, oltre a un filamento di residui di deossiadenosina. Per ciascun target viene usato un oligomero di cattura separato. Durante il procedimento di ibridizzazione, le regioni specifiche della sequenza degli oligomeri di cattura si legano alle regioni specifiche delle molecole target. Il complesso oligomero di cattura target viene quindi catturato fuori dalla soluzione mediante riduzione della temperatura di reazione fino a temperatura ambiente. Questa riduzione della temperatura permette l'ibridizzazione fra la regione della deossiadenosina sull'oligomero di cattura e le molecole di poli-deossitimidina unite con legame covalente alle particelle magnetiche. Le microparticelle, incluse le molecole target catturate a esse legate, vengono spinte sul lato del contenitore di reazione usando dei magneti e il supernatante viene aspirato. Le particelle vengono sottoposte a lavaggio per rimuovere la matrice residua di campione biologico che potrebbe contenere inibitori della reazione di amplificazione. Una volta completati i procedimenti di cattura del target, i campioni biologici sono pronti per l'amplificazione.

I test di amplificazione del target si basano sulla capacità dei primer oligonucleotidici complementari di eseguire l'ibridazione specifica e di permettere l'amplificazione enzimatica dei filamenti di acidi nucleici target. Il test Aptima SARS-CoV-2 Assay replica regioni specifiche dell'RNA dal virus SARS-CoV-2. Il rilevamento delle sequenze di prodotto di amplificazione dell'RNA (amplicone) viene ottenuto usando l'ibridizzazione dell'acido nucleico. Le sonde di acido nucleico chemiluminescente con filamento unico, che sono univoche e complementari a una regione di ciascun amplicone target e controllo interno (IC), vengono marcate con diverse molecole di estere di acridinio (AE, Acridinium Ester). Le sonde marcate con AE si combinano con l'amplicone per formare ibridi stabili. Il reagente di selezione differenzia la sonda ibridizzata da quella non ibridizzata, eliminando la generazione di segnale da quest'ultima. Durante il procedimento di rilevamento, la luce emessa dagli ibridi marcati viene misurata come segnali fotonici in un luminometro, che vengono riportati come unità di luce relativa (RLU). Nel DKA, le differenze nei profili cinetici delle sonde marcate permettono la differenziazione del segnale; i profili cinetici sono derivati dalle misurazioni delle emissioni fotoniche nella fase di lettura del rilevamento. La reazione di rilevamento chemiluminescente per il segnale IC presenta una cinetica molto rapida di tipo "flash". La reazione di rilevamento chemiluminescente per il segnale SARS-CoV-2 è relativamente più lenta e presenta il tipo di cinetica con segnale "glow". I risultati del test vengono determinati mediante cutoff basato sulle RLU totali e sul tipo di curva cinetica.

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

Avvertenze e precauzioni

- A. Per uso diagnostico *in vitro*. Leggere attentamente il foglietto illustrativo e il *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System).
- B. Queste procedure devono essere eseguite solo da personale adeguatamente formato nell'utilizzo di questo test e nella manipolazione di materiali potenzialmente infettivi. Se si verifica un versamento, disinfettare immediatamente seguendo le procedure del centro appropriate.
- C. Manipolare tutti i campioni biologici come se fossero infetti usando procedure di laboratorio sicure. Consultare le Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with 2019-nCoV. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>.
- D. I campioni biologici potrebbero essere infettivi. Nell'eseguire questo test, adottare le precauzioni universali. I metodi adeguati di manipolazione e smaltimento vanno stabiliti dal direttore del laboratorio. Questa procedura diagnostica deve essere eseguita esclusivamente da personale adeguatamente addestrato nella manipolazione di materiali infettivi.⁶
- E. Se si sospetta un'infezione da SARS-CoV-2 sulla base degli attuali criteri di screening clinico raccomandati dalle autorità sanitarie pubbliche, i campioni biologici devono essere raccolti con le adeguate precauzioni per il controllo delle infezioni.
- F. Utilizzare solo contenitori da laboratorio monouso forniti o indicati in modo specifico come monouso.
- G. Utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale per la raccolta e la manipolazione dei campioni biologici provenienti da persone per cui si sospetta un'infezione da SARS-CoV-2, come indicato nelle Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) dei CDC.
- H. Quando si maneggiano campioni biologici e reagenti, indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio. Lavarsi accuratamente le mani dopo aver maneggiato campioni biologici e reagenti.
- I. Smaltire tutto il materiale che è entrato in contatto con campioni biologici e reagenti in conformità alle normative nazionali, internazionali e regionali in vigore.
- J. Le date di scadenza elencate sulle provette per la lisi del campione biologico Panther Fusion, sulle provette per la lisi del campione biologico Hologic, sul kit di raccolta multitest Aptima, sul kit di raccolta dei campioni unisex Aptima e sul kit di trasferimento dei campioni Aptima si riferiscono al trasferimento del campione nella provetta e non all'analisi del campione. I campioni biologici raccolti/trasferiti in qualsiasi momento precedente a queste date di scadenza sono validi per l'analisi purché siano trasportati e conservati secondo le istruzioni incluse nel rispettivo foglietto illustrativo, anche se queste date di scadenza sono state superate.
- K. Mantenere le corrette condizioni di conservazione durante la spedizione dei campioni biologici per assicurarne l'integrità. La stabilità dei campioni biologici in condizioni di spedizione diverse da quelle raccomandate non è stata determinata.

- L. Evitare la contaminazione crociata durante i procedimenti di manipolazione dei campioni biologici. I campioni biologici possono contenere livelli di virus o altri organismi estremamente elevati. Assicurarsi che i contenitori dei campioni biologici non vengano in contatto tra di loro ed eliminare i materiali usati senza farli passare sopra contenitori aperti. Cambiare i guanti se vengono a contatto con i campioni biologici.
- M. Non utilizzare i reagenti e i controlli dopo la data di scadenza.
- N. Conservare i componenti dei test alle condizioni di conservazione raccomandate. Per ulteriori informazioni consultare *Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti* (pagina 5) e *Procedura di test con Panther System* (pagina 13).
- O. Non combinare liquidi o reagenti del test. Non rabboccare reagenti o liquidi: il Panther System verifica i livelli dei reagenti.
- P. Evitare la contaminazione microbica e da ribonucleasi dei reagenti.
- Q. Nello strumento non usare materiale che può contenere tiocianato di guanidinio o materiali contenenti qualsiasi tipo di guanidinio. Potrebbero formarsi composti con elevata reattività e/o altamente tossici se combinati con ipoclorito di sodio.
- R. Un reagente di questo kit è etichettato con simboli di rischio e sicurezza.

Nota: l'avvertenza di pericolo riflette la classificazione delle schede di sicurezza (SDS) dell'UE. Per informazioni relative alla comunicazione sui pericoli specifiche per la propria regione, fare riferimento alla scheda SDS specifica della regione nella Raccolta delle schede di sicurezza all'indirizzo www.hologicsds.com.

	Reagente di selezione ACIDO BORACICO 1-5% AVVERTENZA H315 - Provoca irritazione cutanea
---	---

Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

- A. I seguenti reagenti sono stabili quando vengono conservati a temperature comprese tra 2 °C e 8 °C (refrigerati):
 - Reagente di amplificazione Aptima SARS-CoV-2
 - Reagente enzimatico Aptima SARS-CoV-2
 - Reagente sonda Aptima SARS-CoV-2
 - Controllo interno Aptima SARS-CoV-2
 - Controllo positivo Aptima SARS-CoV-2
 - Controllo negativo Aptima SARS-CoV-2
- B. I seguenti reagenti sono stabili quando vengono conservati a temperature comprese tra 2 °C e 30 °C:
 - Soluzione di ricostituzione e amplificazione Aptima SARS-CoV-2
 - Soluzione di ricostituzione enzimatica Aptima SARS-CoV-2

Soluzione di ricostituzione sonda Aptima SARS-CoV-2

Reagente di selezione Aptima SARS-CoV-2

- C. I seguenti reagenti sono stabili quando vengono conservati a temperature comprese tra 15 °C e 30 °C (temperatura ambiente):

Reagente di cattura del target Aptima SARS-CoV-2

Soluzione di lavaggio Aptima

Tampone per liquido di disattivazione Aptima

Reagente oleoso Aptima

- D. Il reagente di cattura del target di lavoro (wTCR) è stabile per 30 giorni se conservato a temperature comprese tra 15 °C e 30 °C. Non refrigerare.
- E. Dopo la ricostituzione, il reagente enzimatico, il reagente di amplificazione e il reagente sonda sono stabili per 30 giorni quando vengono conservati a temperature comprese tra 2 °C e 8 °C.
- F. Smaltire qualsiasi reagente ricostituito inutilizzato e reagente di cattura del target di lavoro (wTCR) dopo 30 giorni o dopo la data di scadenza del lotto master, a seconda di quale data cada per prima.
- G. I controlli sono stabili fino alla data indicata sulle fiale.
- H. I reagenti conservati sul Panther System sono stabili per 72 ore quando sono conservati a bordo dello strumento.
- I. Il reagente sonda e il reagente sonda ricostituito sono fotosensibili. Conservare i reagenti al riparo dalla luce. La stabilità specificata del reagente ricostituito si basa su un'esposizione di 12 ore del reagente sonda ricostituito a due lampade fluorescenti da 60 W, a una distanza di 43 cm (17 pollici) e a una temperatura inferiore a 30 °C. L'esposizione alla luce del reagente sonda ricostituito deve essere limitata in maniera conforme.
- J. Dopo che sono state riscaldate fino alla temperatura ambiente, alcune provette dei controlli potrebbero apparire torbide o contenere precipitati. Torbidità o precipitazione associate ai controlli non hanno impatto sulle prestazioni dei controlli stessi. I controlli possono essere usati sia quando sono trasparenti sia quando sono torbidi o contengono precipitato. Se si desiderano controlli trasparenti, la solubilizzazione può essere velocizzata incubandoli alla fascia superiore dell'intervallo di temperatura ambiente (da 15 °C a 30 °C).

K. Non congelare i reagenti.

Raccolta e conservazione dei campioni biologici

Campioni biologici: materiale clinico raccolto dal paziente e collocato in un apposito sistema di trasporto. Per il test Aptima SARS-CoV-2 Assay, questo include i campioni biologici di tamponi NP, nasali, dal turbinato medio e OP o la raccolta dei campioni biologici del lavaggio/aspirato rinofaringeo e dell'aspirato nasale nel terreno di trasporto virale (VTM/UTM), nella soluzione salina, nel terreno liquido tipo AMIES o nel terreno di trasporto del campione (STM).

Campioni: termine più generico per descrivere qualsiasi materiale da analizzare sul Panther System, tra cui campioni biologici, campioni biologici trasferiti in una provetta per la lisi del campione biologico Panther Fusion, nonché i controlli.

Nota: maneggiare tutti i campioni biologici come se contenessero agenti potenzialmente infettivi. Adottare le precauzioni universali.

Nota: prestare attenzione a evitare la contaminazione crociata durante le fasi di manipolazione dei campioni biologici. Ad esempio, smaltire il materiale utilizzato senza farlo passare sulle provette aperte.

Raccolta di un campione biologico di tampone

Raccogliere i campioni biologici di tamponi NP, nasali e OP in conformità alla tecnica standard utilizzando un tampone con punta in poliestere, rayon o nylon. Collocare immediatamente il campione biologico di tampone in 3 mL di VTM o UTM. In alternativa, i campioni biologici di tampone possono essere aggiunti a soluzione salina, terreno liquido AMIES o STM. Il kit di raccolta dei campioni biologici di tampone multitest Aptima può essere utilizzato per la raccolta di campioni di tamponi nasali e OP.

Dopo la raccolta, i campioni biologici raccolti nel VTM/UTM possono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C fino a 96 ore prima di essere trasferiti nella provetta per la lisi del campione biologico o in provette di trasferimento, come descritto nella sezione seguente sul trattamento dei campioni biologici. I volumi dei campioni biologici rimanenti possono essere conservati a una temperatura di ≤ -70 °C.

Dopo la raccolta, i campioni biologici della provetta multitest Aptima possono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C per un massimo di 6 giorni.

Nota: si raccomanda di mantenere i campioni trasferiti nella provetta multitest Aptima tappati e in posizione verticale all'interno di una rastrelliera.

Possono essere utilizzati i seguenti tipi di VTM/UTM:

- Formulazioni Remel MicroTest M4, M4RT, M5 o M6
- Terreno di trasporto universale Copan
- Terreno di trasporto virale universale BD

Nota: non usare un terreno che potrebbe contenere tiocianato di guanidinio o materiali contenenti qualsiasi tipo di guanidinio.

Raccolta dei campioni biologici del lavaggio/aspirato rinofaringeo e dell'aspirato nasale

Raccogliere i campioni biologici del lavaggio/aspirato rinofaringeo e dell'aspirato nasale secondo le tecniche standard.

Trattamento dei campioni biologici utilizzando la provetta per la lisi del campione biologico Panther Fusion

- A. Prima di eseguire un'analisi sul Panther System, trasferire 500 μ L del campione biologico* raccolto in una provetta per la lisi del campione biologico Panther Fusion.

***Nota:** quando si analizza un campione biologico congelato, lasciare che questo raggiunga la temperatura ambiente prima del trattamento.

Nota: quando si utilizza il software per test su provette senza tappo Aptima SARS-CoV-2, preparare la provetta per la lisi del campione biologico Panther Fusion come descritto di seguito in *Trattamento dei campioni biologici* usando la provetta per la lisi del campione biologico Hologic con tappo non penetrabile.

Trattamento dei campioni biologici usando la provetta per la lisi del campione biologico Hologic con tappo non penetrabile

- A. Togliere il tappo dalla provetta per la lisi del campione biologico Hologic e metterlo da parte.
- B. Prima di eseguire un'analisi sul Panther System, trasferire 500 µL del campione biologico nella provetta per la lisi del campione biologico Hologic
- C. Si raccomanda di rimettere il tappo sulla provetta e capovolgere delicatamente tre volte per garantire l'inattivazione virale e una miscelazione omogenea.
- D. Per evitare il contatto con la parte superiore della provetta, allentare il tappo e posizionare la provetta del campione nella rastrelliera dei campioni.
- E. Rimuovere e gettare il tappo. Controllare la provetta del campione. Se sono presenti bolle, rimuoverle con attenzione dalla provetta del campione (utilizzare, ad esempio, la punta di un tampone sterile o un metodo simile).
- F. Posizionare il fermo per rastrelliera sulla rastrelliera dei campioni e caricare la rastrelliera nello strumento.

Nota: *il trattamento dei campioni biologici usando la provetta per la lisi del campione biologico Hologic deve essere eseguito con il software per test su provette senza tappo Aptima SARS-CoV-2.*

Trattamento dei campioni biologici utilizzando una provetta per la lisi del campione biologico personalizzata

- A. Utilizzando una provetta per uso generico sterile o non sterile in vetro siliconato, polipropilene o in un materiale simile con un diametro esterno compreso tra 12 mm e 13 mm e un'altezza compresa tra 75 mm e 100 mm, aliquotare 0,78 mL ± 0,07 mL di STM sfuso nella provetta usando una pipetta o un pipettatore a ripetizione.

Nota: *se le provette vengono preparate prima dell'uso, riposizionare il tappo e conservare a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C fino all'utilizzo nel trattamento dei campioni biologici.*

- B. Togliere il tappo dalla provetta per la lisi del campione biologico personalizzata contenente STM e metterlo da parte.
- C. Prima di eseguire un'analisi sul Panther System, trasferire 500 µL del campione biologico nella provetta per la lisi del campione biologico personalizzata contenente STM.
- D. Si raccomanda di rimettere il tappo sulla provetta del campione e capovolgere delicatamente tre volte per garantire l'inattivazione virale e una miscelazione omogenea.
- E. Per evitare il contatto con la parte superiore della provetta, allentare il tappo e posizionare la provetta del campione nella rastrelliera dei campioni.
- F. Rimuovere e gettare il tappo. Controllare la provetta del campione. Se sono presenti bolle, rimuoverle con attenzione dalla provetta (utilizzare, ad esempio, la punta di un tampone sterile o un metodo simile).
- G. Posizionare il fermo per rastrelliera sulla rastrelliera dei campioni e caricare la rastrelliera nello strumento.

Nota: il trattamento dei campioni biologici usando la provetta per la lisi del campione biologico personalizzata deve essere eseguito con il software per test su provette senza tappo Aptima SARS-CoV-2.

Trattamento dei campioni biologici utilizzando la provetta di trasferimento del campione Aptima

- A. Prima di eseguire un'analisi sul Panther System, trasferire 1 mL del campione biologico* raccolto nella provetta di trasferimento del campione Aptima**.

***Nota:** quando si analizza un campione biologico congelato, lasciare che questo raggiunga la temperatura ambiente prima del trattamento.

****Nota:** in alternativa, è possibile utilizzare una provetta multitest Aptima o una provetta unisex Aptima non utilizzate.

- B. Riposizionare il tappo sulla provetta di trasferimento del campione, serrandolo bene.
- C. Capovolgere con attenzione 2 o 3 volte la provetta per assicurare la completa miscelazione del campione biologico.

Nota: la provetta di trasferimento del campione Aptima non può essere analizzata su un sistema con il software per test su provette senza tappo Aptima SARS-CoV-2.

Trattamento dei campioni biologici per i campioni raccolti con il kit di raccolta multitest Aptima

- A. Dopo aver posizionato il campione biologico* raccolto nella provetta multitest Aptima utilizzando il kit di raccolta multitest Aptima, non sono necessari ulteriori trattamenti.

***Nota:** quando si analizza un campione biologico congelato, lasciare che questo raggiunga la temperatura ambiente prima del trattamento.

Nota: su un sistema con il software per test su provette senza tappo Aptima SARS-CoV-2, trasferire il campione biologico prelevato dalla provetta multitest Aptima in una provetta per la lisi del campione biologico Hologic o in una provetta per la lisi del campione biologico personalizzata come descritto nelle sezioni precedenti sul trattamento dei campioni biologici.

Conservazione dei campioni

- A. I campioni a bordo del Panther System possono essere archiviati per ulteriori analisi in un secondo momento.
- B. Conservazione dei campioni prima o dopo l'analisi
1. I campioni contenuti nella provetta multitest Aptima, nella provetta del campione Aptima o nella provetta per la lisi del campione biologico devono essere conservati in posizione verticale all'interno della rastrelliera nelle condizioni seguenti:
 - A una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C fino a 6 giorni.
 2. I campioni devono essere coperti con una nuova barriera pulita di pellicola di plastica o di alluminio.
 3. Se i campioni analizzati devono essere congelati o spediti, rimuovere i tappi penetrabili dalle provette dei campioni biologici e sostituirli con nuovi tappi non penetrabili. Se i campioni devono essere spediti per essere sottoposti ad analisi in un'altra struttura, occorre mantenere le temperature consigliate. Prima di rimuovere i tappi, occorre sottoporre a centrifuga le provette di trasporto del campione per 5 minuti a una forza

centrifuga relativa (RCF) di 420 per portare tutto il liquido verso il basso sul fondo della provetta. Evitare schizzi e contaminazione crociata.

Nota: *la chiusura per provette Fisherbrand™ VersaClosure™ non deve essere utilizzata per coprire le provette per il congelamento o la spedizione.*

Trasporto dei campioni biologici

Mantenere le condizioni di conservazione dei campioni biologici come descritto nella sezione *Raccolta e conservazione dei campioni biologici* a pagina 6.

Nota: *i campioni biologici devono essere spediti in conformità alle normative sul trasporto nazionali, internazionali e regionali applicabili.*

Panther System

Sono elencati di seguito i reagenti del test Aptima SARS-CoV-2 Assay per il Panther System. Accanto al nome di ciascun reagente è indicato anche il rispettivo simbolo di identificazione.

Reagenti e materiali forniti

Kit del test Aptima SARS-CoV-2 Assay PRD-06419

250 test (2 confezioni)

Confezione refrigerata Aptima SARS-CoV-2 (confezione 1 di 2)
(alla ricezione, conservare a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità Kit da 250 test
A	Reagente di amplificazione Aptima SARS-CoV-2 <i>Acidi nucleici non infettivi liofilizzati in soluzione tamponata contenente < 5% di agente strutturante.</i>	1 fiala
E	Reagente enzimatico Aptima SARS-CoV-2 <i>Trascrittasi inversa e RNA polimerasi liofilizzate in soluzione tamponata HEPES contenente < 10% di reagente strutturante.</i>	1 fiala
P	Reagente sonda Aptima SARS-CoV-2 <i>Sonde di DNA chemiluminescente non infettivo liofilizzate in soluzione tamponata succinato contenente < 5% di detergente.</i>	1 fiala
IC	Controllo interno Aptima SARS-CoV-2	1 fiala

Confezione a temperatura ambiente Aptima SARS-CoV-2 (confezione 2 di 2)
(alla ricezione, conservare a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C)

Simbolo	Componente	Quantità Kit da 250 test
AR	Soluzione di ricostituzione e amplificazione Aptima SARS-CoV-2 <i>Soluzione acquosa contenente conservanti.</i>	1 x 27,7 mL
ER	Soluzione di ricostituzione enzimatica Aptima SARS-CoV-2 <i>Soluzione tamponata HEPES contenente un tensioattivo e glicerolo.</i>	1 x 11,1 mL
PR	Soluzione di ricostituzione sonda Aptima SARS-CoV-2 <i>Soluzione tamponata succinato contenente < 5% di detergente.</i>	1 x 35,4 mL
S	Reagente di selezione Aptima SARS-CoV-2 <i>600 mM di soluzione tamponata borato contenente tensioattivo.</i>	1 x 108 mL
TCR	Reagente di cattura del target Aptima SARS-CoV-2 <i>Soluzione salina tamponata contenente fase solida e oligomeri di cattura.</i>	1 x 54 mL
	Collari per ricostituzione	3
	Scheda del codice a barre del lotto master	1 scheda

Materiali richiesti e disponibili separatamente

Nota: salvo altrimenti specificato, per i materiali resi disponibili da Hologic sono indicati i rispettivi numeri di catalogo.

	<u>N. cat.</u>
Panther System	303095
Kit di liquidi per test Aptima Assay <i>Soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente oleoso Aptima</i>	303014 (1000 test)
Kit Auto Detect Aptima	303013 (1000 test)
Unità multiprovetta (MTU)	104772-02
Kit dei sacchetti di rifiuti Panther	902731
Coperchio del contenitore per rifiuti Panther	504405
o kit sessione analitica Panther <i>Contiene unità multiprovette (MTU), sacchetti di rifiuti, coperchi del contenitore di scarico, liquidi di test e Auto Detect</i>	303096 (5000 test)
Puntali, 1000 µL conduttivi, rilevatori di liquido	10612513 (Tecan)
Kit dei controlli Aptima SARS-CoV-2 <i>PC - Controllo positivo Aptima SARS-CoV-2. Acido nucleico non infettivo in soluzione tamponata contenente < 5% di detergente. Quantità 5 x 1,7 mL</i> <i>NC - Controllo negativo Aptima SARS-CoV-2. Soluzione tamponata contenente < 5% di detergente. Quantità 5 x 1,7 mL</i>	PRD-06420
Kit di raccolta dei campioni biologici di tampone multitest Aptima	PRD-03546
Kit di trasferimento dei campioni Aptima	301154C
Kit di trasferimento dei campioni Aptima - stampabile	PRD-05110
Kit unisex di raccolta dei campioni di tampone Aptima per campioni di tamponi uretrali maschili ed endocervicali	301041
Provette per la lisi del campione biologico Panther Fusion, 100 per sacchetto <i>La provetta contiene 0,71 mL di STM con tappo penetrabile</i>	PRD-04339
Provetta per la lisi del campione biologico Hologic, 100 cad. <i>La provetta contiene 0,71 mL di STM con tappo non penetrabile</i>	PRD-06554
Provetta per la lisi del campione biologico Hologic, 1200 cad. <i>La provetta contiene 0,71 mL di STM con tappo non penetrabile</i>	PRD-06660
Terreno di trasporto dei campioni biologici, 1 flacone, 80 mL	PRD-04423
Terreno di trasporto dei campioni biologici, 1 flacone, 120 mL	PRD-06657
Candeggina, soluzione di ipoclorito di sodio al 5% – 7% (0,7 M – 1,0 M)	—
Guanti monouso	—
Tappi non penetrabili di ricambio	504415
Chiusure per provette Fisherbrand VersaClosure*, 1000 per confezione <i>*Un copriprovette monouso per la provetta per la lisi del campione biologico Hologic (solo PRD-06554) dopo il test</i>	02-707

	<u>N. cat.</u>
Tappi di riserva per i kit da 250 test	—
<i>Soluzioni di ricostituzione dei reagenti sonda e di amplificazione</i>	<i>CL0041 (100 tappi)</i>
<i>Soluzione di ricostituzione di reagenti enzimatici TCR e reagente di selezione</i>	<i>501616 (100 tappi)</i> <i>CL0040 (100 tappi)</i>

Materiali opzionali

	<u>N. cat.</u>
Potenziatore di candeggina per pulizia Hologic <i>Per la pulizia ordinaria di superfici e attrezzature</i>	302101
Agitatore oscillante per provette	—

Procedura di analisi del Panther System

Nota: per ulteriori informazioni procedurali, consultare il *Panther System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del Panther System)*.

A. Preparazione dell'area di lavoro

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

B. Ricostituzione del reagente/preparazione di un nuovo kit

Nota: eseguire la ricostituzione dei reagenti prima di iniziare qualsiasi lavoro sul Panther System.

1. Per ricostituire i reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda, unire il contenuto dei flaconi di reagente liofilizzato alla soluzione di ricostituzione. Se le soluzioni di ricostituzione sono state refrigerate, prima dell'uso lasciare che raggiungano la temperatura ambiente.
 - a. Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al rispettivo reagente liofilizzato. Prima di collegare il collare di ricostituzione, assicurarsi che le etichette della soluzione di ricostituzione e del reagente siano dello stesso colore.
 - b. Controllare i numeri di lotto sulla scheda del codice a barre del lotto master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati.
 - c. Aprire il flacone del reagente liofilizzato e inserire l'estremità indentata del collare di ricostituzione nell'apertura del flacone (Figura 1, Passaggio 1).
 - d. Aprire la bottiglia di soluzione di ricostituzione corrispondente e disporre il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - e. Tenendo la bottiglia della soluzione di ricostituzione sul banco, inserire con fermezza l'altra estremità del collare di ricostituzione nell'apertura della bottiglia (Figura 1, Procedimento 2).

- f. Capovolgere lentamente i flaconi assemblati. Lasciar drenare la soluzione dalla bottiglia al flacone di vetro (Figura 1, Passaggio 3).
- g. Miscelare accuratamente la soluzione nella fiala di vetro agitando (Figura 1, Passaggio 4).
- h. Attendere che il reagente liofilizzato si dissolva, quindi capovolgere di nuovo la bottiglia collegata al flacone, mantenendo un'inclinazione di 45° per ridurre al minimo la formazione di schiuma (Figura 1, Passaggio 5). Lasciare che tutto il liquido ritorni nel flacone di plastica.
- i. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 1, Passaggio 6).
- j. Rimettere il tappo sul flacone di plastica. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 1, Passaggio 7).
- k. Gettare via sia il collare di ricostituzione che il flacone di vetro (Figura 1, Passaggio 8).

Opzione: è consentita un'ulteriore miscelazione dei reagenti di amplificazione, enzimatici e sonda mediante un agitatore oscillante per provette. I reagenti possono essere miscelati posizionando il flacone di plastica ricomposta su un agitatore oscillante per provette impostato su 20 RPM (o equivalente) per un minimo di 5 minuti.

Avvertenza: evitare la formazione di schiuma durante la ricostituzione dei reagenti. La schiuma pregiudica la sensibilità di rilevamento del livello di liquido nel Panther System.

Avvertenza: per ottenere risultati accurati del test, è necessaria una miscelazione adeguata dei reagenti.

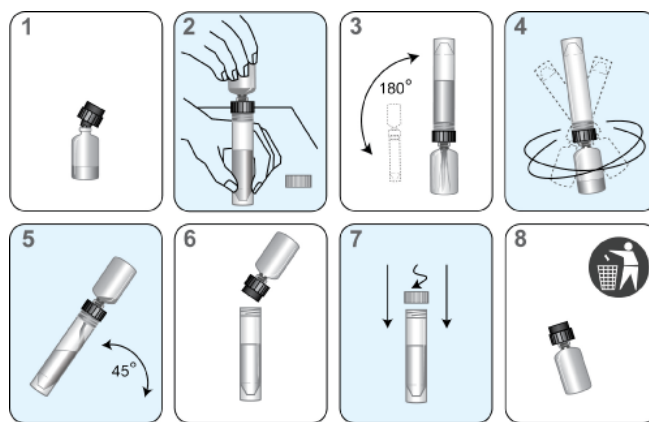


Figura 1. Procedimento di ricostituzione del Panther System

2. Preparazione del reagente di cattura del target di lavoro (wTCR)
 - a. Abbinare i flaconi di TCR e di controllo interno (IC).
 - b. Controllare i numeri di lotto dei reagenti sulla scheda dei codici a barre del lotto master per assicurarsi di abbinare i reagenti ai kit appropriati.
 - c. Aprire il flacone di TCR e disporre il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - d. Aprire il flacone dell'IC e versare l'intero contenuto nel flacone di TCR. È normale che nel flacone dell'IC resti una piccola quantità di liquido.
 - e. Chiudere con il tappo il flacone di TCR e roteare con attenzione la soluzione per miscelare il contenuto. Evitare la formazione di schiuma durante questo procedimento.

- f. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.
 - g. Eliminare il flacone e il tappo dell'IC.
3. Preparazione del reagente di selezione
- a. Controllare il numero di lotto sul flacone di reagente per assicurarsi che corrisponda al numero di lotto riportato sulla scheda del codice a barre del lotto master.
 - b. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data corrente.

Nota: *miscelare accuratamente tutti i reagenti capovolgendoli con attenzione prima di caricarli sul sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti.*

C. Preparazione di reagenti precedentemente ricostituiti

1. I reagenti di amplificazione, enzimatico e sonda precedentemente ricostituiti devono essere portati a temperatura ambiente (da 15 °C a 30 °C) prima di iniziare il test.
Opzione: i reagenti possono essere portati a temperatura ambiente posizionando i reagenti di amplificazione, enzimatici e sonda ricostituiti su un agitatore oscillante per provette impostato su 20 RPM (o equivalente) per un minimo di 25 minuti.
2. Se il reagente sonda ricostituito contiene precipitato che non rientra in soluzione a temperatura ambiente, riscaldare il flacone chiuso con il tappo a una temperatura che non superi i 62 °C per un periodo compreso tra 1 e 2 minuti. Dopo questo procedimento di riscaldamento, il reagente sonda può essere usato anche se resta del precipitato residuo. Prima di caricarlo sul sistema, miscelare il reagente sonda capovolgendolo, facendo attenzione a non produrre schiuma.
3. Miscelare accuratamente ciascun reagente capovolgendolo con attenzione prima di caricarlo sul sistema. Evitare la formazione di schiuma quando si capovolgono i reagenti. Questo passaggio non è necessario se i reagenti vengono caricati sul sistema direttamente dopo la miscelazione sull'agitatore oscillante per provette.
4. Evitare di riempire i flaconi dei reagenti fino all'orlo. Il Panther System riconosce e rifiuta i flaconi riempiti fino all'orlo.
5. *Per ottenere risultati accurati del test, è necessaria una miscelazione adeguata dei reagenti.*

D. Manipolazione dei campioni usando la provetta per la lisi del campione biologico Panther Fusion o la provetta di trasferimento del campione Aptima.

Nota: *preparare i campioni biologici in base alle istruzioni di trattamento dei campioni biologici contenute nella sezione Raccolta e conservazione dei campioni biologici prima di caricare i campioni biologici sul Panther System.*

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

Nota: *per i campioni trasferiti nella provetta per la lisi del campione biologico Panther Fusion o nella provetta di trasferimento del campione Aptima, per evitare un errore di trattamento, assicurarsi che alla provetta venga aggiunto un volume di campione biologico adeguato. Quando alla provetta si aggiunge una quantità adeguata di campione biologico raccolto, il volume è sufficiente per eseguire 3 estrazioni dell'acido nucleico.*

E. Manipolazione dei campioni usando la provetta per la lisi del campione biologico Hologic o la provetta per la lisi del campione biologico personalizzata

1. Preparare i campioni biologici in base alle istruzioni di trattamento dei campioni biologici contenute nella sezione *Raccolta e conservazione dei campioni biologici*.

Nota: per i campioni trasferiti nella provetta per la lisi del campione biologico Hologic o nella provetta per la lisi del campione biologico personalizzata, per evitare un errore di trattamento, assicurarsi che alla provetta venga aggiunto un volume di campione biologico adeguato. Quando alla provetta si aggiunge una quantità adeguata di campione biologico raccolto, il volume è sufficiente per eseguire 2 estrazioni dell'acido nucleico.

Nota: quando si utilizza il software per test su provette senza tappo Aptima SARS-CoV-2, rimuovere il tappo dal controllo positivo e negativo prima del caricamento nel Panther System.

F. Preparazione del sistema

1. Impostare il sistema in base alle istruzioni fornite nel *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther/Panther System) e in *Note procedurali*. Assicurarsi di utilizzare rastrelliere reagenti e adattatori TCR di dimensioni appropriate.
2. Caricare i campioni.

Note procedurali

A. Controlli

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

B. Temperatura

Per temperatura ambiente si intende un intervallo di temperatura compreso tra 15 °C e 30 °C.

C. Polvere dei guanti

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

D. Protocollo del laboratorio per il monitoraggio della contaminazione per il Panther System

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

Per monitorare la contaminazione del laboratorio, può essere effettuata la seguente procedura utilizzando il kit di raccolta dei campioni biologici di tampone unisex Aptima per campioni di tamponi endocervicali e uretrali maschili:

1. Etichettare le provette di trasporto del tampone con i numeri corrispondenti alle aree da analizzare.
2. Rimuovere il tampone di raccolta del campione biologico (tampone su bastoncino blu con stampa verde) dalla confezione, bagnare il tampone nel terreno di trasporto del campione (STM) ed eseguire un tampone dell'area designata con un movimento circolare.
3. Inserire immediatamente il tampone nella provetta di trasporto.
4. Spezzare con cautela il bastoncino del tampone in corrispondenza della linea indicatrice, facendo attenzione a evitare di schizzarne il contenuto.
5. Rimettere saldamente il tappo sulla provetta di trasporto del tampone.
6. Ripetere i procedimenti da 2 a 5 per ciascuna area per la quale va eseguito un tampone.

E. Se i risultati sono positivi, vedere *Interpretazione dei risultati*. Per ulteriori informazioni sul monitoraggio della contaminazione specifica del Panther System, contattare l'assistenza tecnica Hologic.

Controllo della qualità

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

Controlli positivi e negativi

Per generare risultati validi è necessario analizzare una serie di controlli del test. Un replicato del controllo del test negativo e del controllo del test positivo deve essere analizzato ogni volta che un nuovo kit del test viene caricato sul Panther System o quando la serie corrente di controlli validi è scaduta.

Il Panther System è configurato in modo che richieda una sessione analitica di controlli del test a un intervallo specificato dall'amministratore di un massimo di 24 ore. Il software sul Panther System avvisa l'operatore quando sono necessari controlli del test e non avvia nuovi test fino al caricamento dei controlli del test e all'avvio del relativo trattamento.

Durante il trattamento, i criteri per l'accettabilità dei controlli del test vengono verificati automaticamente dal Panther System. Per generare risultati validi, i controlli del test devono superare una serie di verifiche di validità eseguite dal Panther System.

Se i controlli del test superano tutte le verifiche di validità, sono considerati validi per l'intervallo di tempo specificato dall'amministratore. Quando l'intervallo di tempo è trascorso, il Panther System contrassegna i controlli del test come scaduti, il che richiede una nuova serie di controlli del test prima di avviare l'analisi di qualsiasi nuovo campione.

Se uno qualunque dei controlli del test non supera le verifiche di validità, il Panther System annulla automaticamente i campioni interessati e richiede una nuova serie di controlli del test prima di avviare l'analisi di qualsiasi nuovo campione.

Controllo interno

Viene aggiunto un controllo interno a ciascun campione con il reagente di cattura del target di lavoro (wTCR). Durante il trattamento, i criteri di accettabilità del controllo interno vengono verificati automaticamente dal software del Panther System. Il rilevamento del controllo interno non è richiesto per i campioni positivi a SARS-CoV-2. Il controllo interno deve essere rilevato in tutti i campioni negativi per i target SARS-CoV-2; i campioni che non soddisfano tali criteri saranno segnalati come non validi. Ogni campione con un risultato non valido deve essere rianalizzato.

Il Panther System è progettato per verificare in maniera accurata i processi quando le procedure vengono eseguite rispettando le istruzioni fornite nel presente foglietto illustrativo e nel *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System).

Interpretazione dei risultati

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

La Tabella 1 mostra i possibili risultati riportati in una sessione analitica valida con le interpretazioni dei risultati.

Tabella 1: Interpretazione dei risultati

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

Nota: il rilevamento del controllo interno non è richiesto per i campioni positivi a SARS-CoV-2.

Limiti

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

Prestazioni del test Panther SARS-CoV-2 Assay

Sensibilità analitica

La sensibilità analitica (limite di rilevamento o LoD) del test Aptima SARS-CoV-2 Assay è stata determinata testando diluizioni seriali dei campioni biologici in pool di tamponi nasofaringei clinici negativi addizionati con il virus SARS-CoV-2 inattivo in coltura (USA-WA1/2020; BEI Resources; NR-52281). Dieci replicati di ciascuna diluizione seriale sono stati valutati usando ognuno dei due lotti di reagenti del test su due Panther System. È stato determinato che il LoD era pari a 0,01 TCID₅₀/mL e ciò è stato verificato testando altri 20 replicati con un lotto di reagente del test. Il LoD è stato inoltre confermato utilizzando una soluzione salina e i terreni di coltura terreno liquido tipo AMIES e terreno di trasporto del campione (STM).

La sensibilità analitica del test Aptima SARS-CoV-2 Assay è stata ulteriormente valutata usando materiale di riferimento disponibile in commercio da tre fornitori. Sono state eseguite diluizioni seriali del materiale di riferimento in STM e sono stati analizzati 20 o più replicati per ogni livello usando ciascuno dei due lotti di reagente del test su due Panther System. I materiali di riferimento e i livelli di diluizione più bassi che determinano un rilevamento $\geq 95\%$ sono elencati nella Tabella 2.

Tabella 2: Valutazione della sensibilità analitica del materiale di riferimento disponibile in commercio

Fornitore	Nome	N. riferimento	N. lotto	Sensibilità analitica
ZeptoMetrix	SARS-CoV-2 External Run control	NATSARS(COV2)-ERC	324332	83 copie/mL
SeraCare	AccuPlex SARS-Cov-2 Reference Material	0505-0126	10483977	83 copie/mL
Exact Diagnostic	SARS-CoV-2 Standard	COV019	20033001	83 copie/mL

Sensibilità analitica con il flusso di lavoro della provetta di trasferimento del campione Aptima

La sensibilità analitica determinata di 0,01 TCID₅₀/mL (limite di rilevamento) del test Aptima SARS-CoV-2 Assay è stata confermata utilizzando il flusso di lavoro per la preparazione del campione biologico nella provetta di trasferimento del campione Aptima. La conferma è stata eseguita utilizzando il virus SARS-CoV-2 inattivato in coltura (USA-QA1/2020; Risorse BEI; NR-52281) presente nel tampone rinofaringeo (NP) clinico negativo, nella soluzione salina e nei terreni di coltura terreno liquido tipo AMIES e terreno di trasporto del campione (STM) eseguendo l'analisi di 20 replicati con un lotto di reagente (Tabella 3).

Tabella 3: Conferma del LoD con il flusso di lavoro di trasferimento dei campioni Aptima

Bersaglio	Matrice	N validi	N positivi	% positivi	Media kRLU	Dev. std. kRLU	CV %
Virus SARS-CoV-2 inattivato	Tampone NP	20	20	100%	1063	61	5,8%
	STM	20	20	100%	1064	116	10,9%
	Soluzione salina	20	20	100%	1102	60	5,4%
	Terreno liquido tipo AMIES	20	20	100%	1101	51	4,7%

Inclusività

L'inclusività del test Aptima SARS-CoV-2 Assay è stata valutata utilizzando l'analisi *in silico* degli oligonucleotidi di cattura del target, i primer di amplificazione e le sonde di rilevamento del test in relazione alle 9896 sequenze di SARS-CoV-2 disponibili nei database dei geni NCBI e GISAID. Qualsiasi sequenza con informazioni mancanti o ambigue sulle sequenze è stata rimossa dall'analisi portando a 9879 sequenze valutate per la prima regione target del test e 9880 per la seconda regione target. L'analisi *in silico* ha mostrato un'omologia al 100% agli oligonucleotidi del test di entrambi i sistemi target per 9749 (98,5%) delle sequenze valutate e un'omologia del 100% agli oligonucleotidi del test di almeno un sistema target per tutte le 9896 sequenze. Non sono state osservate sequenze valutate con mancate corrispondenze identificate che potrebbero influenzare i legami o le prestazioni di entrambi i sistemi target.

Specificità analitica e interferenza microbica

La specificità analitica del test Aptima SARS-CoV-2 Assay è stata valutata testando 30 microrganismi che rappresentano patogeni respiratori comuni o specie strettamente correlate (Tabella 4). I batteri sono stati analizzati a 10⁶ CFU/mL e i virus a 10⁵ TCID₅₀/mL, tranne dove indicato. I microrganismi sono stati analizzati con e senza la presenza del virus SARS-CoV-2 inattivato a 3 volte il LoD. La specificità analitica del test Aptima SARS-CoV-2 Assay è stata pari al 100% senza evidenza di interferenza microbica.

Oltre alle analisi sui microrganismi, nell'analisi *in silico* è stata eseguita la valutazione della specificità del test in relazione ai microrganismi elencati nella Tabella 4. L'analisi *in silico* non ha mostrato alcuna probabile reattività crociata con nessuna delle 112 sequenze del database GenBank valutate.

Tabella 4: Specificità analitica e microrganismi di interferenza microbica di Aptima SARS-CoV-2

Microrganismo	Concentrazione	Microrganismo	Concentrazione
Coronavirus umano 229E	1E+5 TCID ₅₀ /mL	Virus parainfluenzale 1	1E+5 TCID ₅₀ /mL
Coronavirus umano OC43	1E+5 TCID ₅₀ /mL	Virus parainfluenzale 2	1E+5 TCID ₅₀ /mL
Coronavirus umano HKU1 ¹	1E+6 copie/mL	Virus parainfluenzale 3	1E+5 TCID ₅₀ /mL
Coronavirus umano NL63	1E+4 TCID ₅₀ /mL	Virus parainfluenzale 4	1E+3 TCID ₅₀ /mL
SARS-Coronavirus ¹	1E+6 copie/mL	Influenza A	1E+5 TCID ₅₀ /mL
MERS-coronavirus	1E+4 TCID ₅₀ /mL	Influenza B	2E+3 TCID ₅₀ /mL
Adenovirus (ad es. C1 Ad. 71)	1E+5 TCID ₅₀ /mL	Enterovirus (ad es. EV68)	1E+5 TCID ₅₀ /mL
Metapneumovirus umano (hMPV)	1E+6 TCID ₅₀ /mL	Rhinovirus	1E+4 TCID ₅₀ /mL
Virus respiratorio sinciziale	1E+5 TCID ₅₀ /mL	<i>Legionella pneumophila</i>	1E+6 CFU/mL
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1E+6 IFU/mL	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1E+6 TCID ₅₀ /mL
<i>Haemophilus influenzae</i>	1E+6 CFU/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1E+6 CFU/mL
<i>Bordetella pertussis</i>	1E+6 CFU/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1E+6 CFU/mL
<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	1E+6 nuc/mL	<i>Streptococcus salivarius</i>	1E+6 CFU/mL
<i>Candida albicans</i>	1E+6 CFU/mL	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1E+6 CFU/mL
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1E+6 CFU/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1E+6 CFU/mL
Lavaggio nasale umano aggregato ² per rappresentare una diversa flora microbica nel tratto respiratorio umano	N/P		

¹ Il virus in coltura e l'intero acido nucleico purificato del genoma del coronavirus umano HKU1 e del SARS-Coronavirus non sono prontamente disponibili. Gli IVT di HKU1 e del SARS-Coronavirus corrispondenti alle regioni del gene ORF1ab interessato nel test sono stati utilizzati per valutare la reattività crociata e l'interferenza microbica.

² Al posto della valutazione del lavaggio nasale umano aggregato, sono state eseguite analisi su 30 singoli campioni biologici clinici di tamponi NP negativi per presentare una diversa flora microbica nel tratto respiratorio umano.

Prestazioni cliniche

Le prestazioni cliniche del test Aptima SARS-CoV-2 Assay sono state valutate rispetto al test Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay (Hologic, Inc.) utilizzando un pannello di campioni biologici clinici residui. Per lo studio i campioni biologici rinofaringei clinici rimanenti sono stati raccolti da pazienti statunitensi con segni e sintomi di un'infezione respiratoria.

La percentuale di concordanza positiva (PPA) e la percentuale di concordanza negativa (NPA) sono state calcolate in relazione al test Panther Fusion Assay come risultato di riferimento, come mostrato nella Tabella 5. Il test Aptima SARS-CoV-2 Assay ha mostrato concordanze positive e negative rispettivamente del 100% e del 98,2%.

Il lavaggio/aspirato rinofaringeo, gli aspirati nasali, i tamponi nasali e i tamponi nasali dal turbinato medio sono campioni biologici accettabili per l'analisi delle infezioni respiratorie virali. Tuttavia, le prestazioni con questi tipi di campioni biologici non sono state specificamente valutate con il test Aptima SARS-CoV-2 Assay.

Tabella 5: Concordeza clinica di Aptima SARS-CoV-2

		Test Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay	
		Positivo	Negativo
Test Aptima SARS-CoV-2 Assay	Positivo	50	1
	Negativo	0	54

Percentuale di concordeza positiva: (IC del 95%) 100% (92,9% – 100%)

Percentuale di concordeza negativa: (IC del 95%) 98,2% (90,4% – 99,7%)

Concordeza complessiva: (IC del 95%) 99,0% (94,8% – 99,8%)

Prestazioni cliniche con il pannello artificiale

Le prestazioni cliniche del test Aptima SARS-CoV-2 Assay utilizzando il flusso di lavoro per la preparazione dei campioni biologici nella provetta di trasferimento del campione Aptima sono state valutate rispetto a un pannello di campioni biologici artificiali. Per lo studio, è stato analizzato un pannello di 115 campioni biologici rinofaringei clinici rimanenti utilizzando i flussi di lavoro sia della provetta per la lisi del campione biologico Panther Fusion (provetta per lisi del campione biologico) sia della provetta di trasferimento del campione Aptima. Tutti i campioni biologici sono stati raccolti da pazienti statunitensi con segni e sintomi di un'infezione respiratoria. Il gruppo era composto da 65 campioni biologici SARS-CoV-2 positivi e 50 campioni biologici SARS-CoV-2 negativi. Dei 65 campioni biologici positivi, 40 presentavano una concentrazione 0,5-2 volte il LoD e 25 una concentrazione 3-5 volte il LoD utilizzando il virus SARS-CoV-2 in coltura inattivato (USA-QA1/2020; BEI Resources; NR-52281) come target.

La percentuale di concordeza positiva (PPA) e la percentuale di concordeza negativa (NPA) per entrambi i flussi di lavoro di preparazione dei campioni biologici sono state calcolate in relazione al risultato atteso del pannello dei campioni artificiali, come mostrato nella Tabella 6 per la provetta di trasferimento del campione Aptima e nella Tabella 7 per la provetta per la lisi del campione biologico. Le caratteristiche di rilevamento per i campioni biologici artificiali sono state calcolate in base alla concentrazione target, come mostrato nella Tabella 8. Entrambi i flussi di lavoro di preparazione dei campioni hanno mostrato una concordeza del 100% per i pannelli valutati.

Tabella 6: Prestazioni del flusso di lavoro delle provette di trasferimento del campione Aptima rispetto ai risultati attesi

		Risultato atteso		
		Positivo	Negativo	Totale
Risultato del trasferimento dei campioni biologici Aptima	Positivo	65	0	65
	Negativo	0	50	50
Totale		65	50	115

Concordeza complessiva: 100% (96,8% – 100%)

Concordeza positiva: 100% (94,4% – 100%)

Concordeza negativa: 100% (92,9% – 100%)

Tabella 7: Prestazioni del flusso di lavoro della provetta per la lisi del campione biologico rispetto ai risultati attesi

		Risultato atteso		
		Positivo	Negativo	Totale
Risultato della provetta per la lisi del campione biologico	Positivo	65	0	65
	Negativo	0	50	50
	Totale	65	50	115

Concordanza complessiva: 100% (96,8% – 100%)

Concordanza positiva: 100% (94,4% – 100%)

Concordanza negativa: 100% (92,9% – 100%)

Tabella 8: Caratteristiche di rilevamento per i campioni biologici artificiali dei tamponi rinofaringei

Conc. target	Flusso di lavoro dei campioni per il trasferimento dei campioni biologici Aptima						Flusso di lavoro dei campioni della provetta per la lisi del campione biologico					
	n validi	n positivi	% positivi	Media kRLU	Dev. std. kRLU	CV %	n validi	n positivi	% positivi	Media kRLU	Dev. std. kRLU	CV %
Neg	50	0	0	299	9,7	3,2	50	0	0	300	9,3	3,1
0,5 x LoD	10	10	100	1050	208,5	19,9	10	10	100	1153	113,0	9,8
1,0 x LoD	10	10	100	1176	102,1	8,7	10	10	100	1205	24,3	2,0
1,5 x LoD	10	10	100	1222	31,6	2,6	10	10	100	1223	21,9	1,8
2,0 x LoD	10	10	100	1225	22,6	1,8	10	10	100	1237	26,0	2,1
3,0 x LoD	10	10	100	1228	13,6	1,1	10	10	100	1215	25,5	2,1
4,0 x LoD	5	5	100	1238	16,7	1,4	5	5	100	1212	12,5	1,0
5,0 x LoD	10	10	100	1237	18,2	1,5	10	10	100	1246	28,3	2,3

Prestazioni cliniche con campioni biologici naturali positivi e infettati

Le prestazioni cliniche del test Aptima SARS-CoV-2 Assay utilizzando il flusso di lavoro di preparazione dei campioni biologici della provetta di trasferimento del campione Aptima sono state valutate rispetto al flusso di lavoro della provetta per la lisi del campione biologico con entrambi i test Aptima Assay and Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay. Per lo studio, sono state preparate ed elaborate tre diluizioni di 15 campioni biologici di tamponi nasofaringei unici positivi al SARS-CoV-2 utilizzando entrambi i flussi di lavoro. I campioni di SARS-CoV-2 erano stati precedentemente determinati come positivi usando un test molecolare non Hologic.

La concordanza percentuale positiva del test Aptima SARS-CoV-2 Assay utilizzando i flussi di lavoro della provetta di trasferimento del campione Aptima e della provetta per la lisi del campione biologico era del 97,5% (87,1% – 99,6%) e del 100% (91,0% – 100%) rispettivamente, quando confrontata con il test Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay utilizzando il flusso di lavoro della provetta per la lisi del campione biologico come riferimento. La concordanza percentuale positiva del flusso di lavoro della provetta di trasferimento del campione Aptima era del 95,0% (83,5% – 98,6%) quando confrontata con il flusso di lavoro della provetta per la lisi del campione biologico come riferimento.

Bibliografia

1. **Organizzazione Mondiale della Sanità.** Q&A on coronavirus (COVID-19). 9 marzo 2020. Sito Web dell'Organizzazione Mondiale della Sanità <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/q-a-coronaviruses>. Consultato in data 10 marzo 2020.
2. **Centers for Disease Control and Prevention.** <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/how-covid-spreads.html> consultato in data 17 giugno 2020.
3. **Centers for Disease Control and Prevention.** Coronavirus Disease 2019-(COVID-19) in the U.S. Aggiornato in data 10 marzo 2020. Sito Web dei Centers for Disease Control and Prevention <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-in-us.html>. Consultato in data 10 marzo 2020.
4. **Centers for Disease Control and Prevention.** Coronavirus Disease 2019 Information for Travel. Ultima revisione della pagina in data 8 marzo 2020. Sito Web dei Centers for Disease Control and Prevention <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/travelers/index.html>. Consultato in data 10 marzo 2020.
5. **Centers for Disease Control and Prevention.** Coronavirus Disease 2019-(COVID-19) Situation Summary. Aggiornato in data 9 marzo 2020. Sito Web dei Centers for Disease Control and Prevention <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/summary.html>. Consultato in data 10 marzo 2020.
6. **Clinical & Laboratory Standards Institute.** Document M29 Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Sito Web del CLSI, <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Consultato in data settembre 2017.



Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Assistenza clienti: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Assistenza tecnica: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Per altre informazioni di contatto, visitare il sito www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Panther e Panther Fusion sono marchi commerciali e/o marchi commerciali registrati di Hologic, Inc. e/o delle aziende consociate negli Stati Uniti e/o in altri paesi.

Tutti gli altri marchi commerciali che possono apparire in questo foglietto illustrativo appartengono ai rispettivi proprietari.

Questo prodotto potrebbe essere protetto da uno o più brevetti USA identificati nel sito www.hologic.com/patents.

©2020 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-21491-701 Rev. 002
2020-06