

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

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Solo para exportación de los EE. UU.

CONTENIDO

Información general	2
Usado indicado	2
Resumen y descripción de la prueba	2
Principios del procedimiento	3
Advertencias y precauciones	4
Requisitos para el almacenamiento y la manipulación de los reactivos	5
Obtención y almacenamiento de especímenes	6
Transporte de los especímenes	9
Panther System	10
Reactivos y materiales proporcionados	10
Materiales necesarios disponibles por separado	11
Procedimiento de prueba del Panther System	12
Notas sobre el procedimiento	15
Control de calidad	16
Interpretación de los resultados	17
Restricciones	17
Desempeño del ensayo Panther SARS-CoV-2	18
Bibliografía	24

Información general

Uso indicado

El ensayo Aptima™ SARS-CoV-2 es una prueba de diagnóstico *in vitro* de amplificación de ácido nucleico indicada para la detección cualitativa de ARN de SARS-CoV-2 aislado y purificado a partir de especímenes obtenidos por hisopado nasofaríngeo (NF), nasal, del cornete medio y orofaríngeo (OF), o por lavado/aspirado nasofaríngeo o aspirados nasales, de personas que cumplen los criterios clínicos o epidemiológicos en relación con la COVID-19.

Los resultados son para la identificación del ARN de SARS-CoV-2. Generalmente, el ARN de SARS-CoV-2 es detectable en los especímenes de las vías respiratorias superiores durante la etapa aguda de la infección. Los resultados positivos indican la presencia de ARN de SARS-CoV-2. Se requiere una correlación clínica con el historial del paciente y otra información de diagnóstico para determinar el estado de infección del paciente. Los resultados positivos no descartan la infección bacteriana ni la coinfección con otros virus.

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

El ensayo Aptima SARS-CoV-2 en el Panther™ System y el Panther Fusion™ System está indicado para su uso por parte del personal de laboratorio clínico que haya recibido las instrucciones y la capacitación necesarias para la operación del Panther System y el Panther Fusion System, y para los procedimientos de diagnóstico *in vitro*.

Resumen y descripción de la prueba

Los coronavirus pertenecen a una familia extensa de virus que pueden provocar enfermedades en animales o en humanos. En humanos, se conocen varios coronavirus que provocan infecciones respiratorias que incluyen desde un resfriado común hasta enfermedades más graves como el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS) y el síndrome respiratorio agudo grave (SARS). El último coronavirus descubierto, el SARS-CoV-2, provoca la enfermedad relacionada COVID-19. Este nuevo virus y esta nueva enfermedad eran desconocidos antes del comienzo del brote en Wuhan (China), en diciembre de 2019.¹

Los síntomas más comunes de la COVID-19 son fiebre, cansancio y tos seca. Algunos pacientes pueden presentar dolores, congestión nasal, rinorrea, dolor de garganta, pérdida del gusto o del olfato, o diarrea. Estos síntomas suelen ser leves y aparecen de forma gradual. Algunas personas se infectan pero no desarrollan ningún síntoma y no se sienten mal. La enfermedad puede propagarse mediante gotículas respiratorias producidas cuando una persona infectada tose o estornuda. Estas gotículas pueden caer en la boca o en la nariz de las personas cercanas, o pueden inhalarse hacia los pulmones.² Estas gotículas también pueden depositarse en objetos y superficies alrededor de la persona. Otras personas pueden contraer el SARS-CoV-2 al tocar estos objetos o estas superficies y, posteriormente, tocarse los ojos, la nariz o la boca.

El virus que provoca la COVID-19 está infectando a humanos y se propaga fácilmente de persona a persona.³ El 11 de marzo de 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasificó el brote de COVID-19 como pandemia.^{4,5}

Principios del procedimiento

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

Los especímenes se obtienen y se transfieren a los tubos de transporte correspondientes. Las soluciones de transporte en los tubos liberan el objetivo del ARN y lo protegen del deterioro durante el almacenamiento. Cuando el ensayo Aptima SARS-CoV-2 se lleva a cabo en el laboratorio, las moléculas de ARN objetivo se aíslan de los especímenes con oligómeros de captura del objetivo que utiliza micropartículas magnéticas. Los oligómeros de captura contienen secuencias complementarias a regiones específicas de las moléculas objetivo y una cadena de residuos de desoxiadenosina. Se usa un oligómero de captura por separado para cada objetivo. Durante el paso de hibridación, las regiones específicas de la secuencia de los oligómeros de captura se unen a regiones específicas de las moléculas objetivo. El complejo de oligómero de captura:objetivo a continuación se extrae de la solución mediante la reducción de la temperatura de la reacción a temperatura ambiente. Esta reducción de la temperatura permite la hibridación entre la región de desoxiadenosina del oligómero de captura y las moléculas de polideoxitimidina unidas covalentemente a las partículas magnéticas. Las micropartículas, incluidas las moléculas objetivo capturadas unidas a ellas, se desplazan hacia la pared del recipiente de reacción mediante imanes y el sobrenadante se aspira. Las partículas se lavan para eliminar la matriz residual del espécimen que podría contener inhibidores de la reacción de amplificación. Después de finalizados los pasos de captura del objetivo, los especímenes están listos para la amplificación.

Los ensayos de amplificación del objetivo se basan en la capacidad de los cebadores de oligonucleótidos complementarios para hibridar y permitir la amplificación enzimática de las cadenas de ácido nucleico objetivo. El ensayo Aptima SARS-CoV-2 replica regiones específicas del ARN del virus SARS-CoV-2. La detección de las secuencias del producto de la amplificación de ARN (amplicón) se logra mediante la hibridación de ácidos nucleicos. Las sondas de ácido nucleico quimioluminiscentes de una sola cadena, exclusivas y complementarias a una región de cada amplicón objetivo y amplicón de control interno (IC), se marcan con distintas moléculas de éster de acridinio (AE). Las sondas marcadas con AE se combinan con el amplicón para formar híbridos estables. El reactivo de selección diferencia las sondas hibridadas de las sondas sin hibridar y elimina la generación de señal de las sondas sin hibridar. Durante el paso de detección, la luz emitida por los híbridos marcados se mide como señales de fotones en un luminómetro y se informa como unidades relativas de luz (URL). En el DKA, las diferencias entre los perfiles cinéticos de las sondas marcadas permiten la distinción de la señal. Los perfiles cinéticos se derivan de las mediciones de emisión de fotones durante el tiempo de lectura de la detección. La reacción de detección quimioluminiscente para la señal de IC tiene una cinética muy rápida y el tipo cinético de “señal destellante”. La reacción de detección quimioluminiscente de la señal de SARS-CoV-2 es relativamente más lenta y tiene el tipo cinético de “señal brillante”. Los resultados del ensayo se determinan mediante un valor límite con base en las URL totales y el tipo de curva cinética.

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

Advertencias y precauciones

- A. Para uso de diagnóstico *in vitro*. Lea atentamente el presente prospecto y el *manual del usuario del Panther/Panther Fusion System*.
- B. Estos procedimientos deben ser llevados a cabo únicamente por personal debidamente capacitado en el uso de este ensayo y en la manipulación de materiales potencialmente infecciosos. En caso de derrame, desinfecte inmediatamente de acuerdo con los procedimientos correspondientes del laboratorio.
- C. Manipule todos los especímenes como si fueran infecciosos de acuerdo con los procedimientos de seguridad del laboratorio. Consulte las directrices provisionales de bioseguridad de laboratorio para la manipulación y el procesamiento de especímenes relacionados con el 2019-nCoV. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>.
- D. Los especímenes pueden ser infecciosos. Ejercer las precauciones universales cuando lleve a cabo este ensayo. El director del laboratorio debe establecer métodos adecuados de manipulación y eliminación. Solo debe permitirse que lleve a cabo este procedimiento de diagnóstico el personal con la capacitación adecuada en la manipulación de materiales infecciosos.⁶
- E. Si, con base en los criterios actuales de análisis clínico recomendados por las autoridades de salud pública, se sospecha la infección con el SARS-CoV-2, se deben obtener los especímenes con las precauciones adecuadas para el control de infecciones.
- F. Utilice únicamente el material de laboratorio desechable que se haya proporcionado o especificado.
- G. Utilice equipos de protección personal adecuados al obtener y manipular especímenes de personas que se sospecha que están infectadas con SARS-CoV-2, según se indica en las directrices provisionales de bioseguridad de laboratorio para la manipulación y el procesamiento de especímenes relacionados con el nuevo coronavirus de 2019 (2019-nCoV) de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC).
- H. Use guantes desechables sin talco, gafas de protección y bata de laboratorio cuando manipule los especímenes y los reactivos. Lávese las manos cuidadosamente después de manipular los especímenes y los reactivos.
- I. Elimine todos los materiales que hayan estado en contacto con los especímenes y los reactivos según las normas regionales, nacionales e internacionales vigentes.
- J. Las fechas de vencimiento que se detallan en los tubos para lisis de especímenes Panther Fusion, en los tubos para lisis de especímenes Hologic, en el kit de obtención para pruebas múltiples Aptima, en el kit unisex para la obtención de especímenes Aptima y en el kit de transferencia de especímenes Aptima se refieren a la transferencia de la muestra al tubo y no a la prueba sobre la muestra. Los especímenes obtenidos/transferidos en un momento anterior a estas fechas de vencimiento son válidos para las pruebas siempre y cuando se transporten y almacenen de acuerdo con el prospecto adecuado, aunque las fechas de vencimiento hayan pasado.
- K. Mantenga las condiciones de almacenamiento adecuadas durante el transporte de los especímenes para garantizar su integridad. No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de traslado distintas a las recomendadas.

- L. Evite la contaminación cruzada durante las fases de manipulación de las muestras. Los especímenes pueden contener niveles extremadamente altos de virus u otros organismos. Asegúrese de que los recipientes de los especímenes no entren en contacto entre sí y deseche los materiales usados sin pasarlos sobre ningún recipiente abierto. Cámbiese los guantes si entran en contacto con los especímenes.
- M. No utilice los reactivos ni los controles después de la fecha de vencimiento.
- N. Almacene los componentes del ensayo según las condiciones de almacenamiento recomendadas. Consulte *Requisitos para el almacenamiento y la manipulación de los reactivos* (página 5) y *Procedimiento de prueba del Panther System* (página 12) para obtener más información.
- O. No combine los reactivos ni los líquidos del ensayo. No llene hasta el tope con los reactivos ni con los líquidos. El Panther System verifica los niveles de los reactivos.
- P. Evite la contaminación de los reactivos con ribonucleasa y microbios.
- Q. No utilice en el instrumento materiales que podrían contener tiocianato de guanidina ni ningún material que contenga guanidina. Pueden formarse compuestos muy reactivos y tóxicos si se combinan con hipoclorito de sodio.
- R. Un reactivo de este kit está etiquetado con símbolos de riesgo y seguridad.

Nota: La comunicación de peligros refleja la clasificación de las fichas de datos de seguridad (SDS) de la UE. Para obtener información sobre la comunicación de peligros específica de su región, consulte la SDS específica de la región en la biblioteca de fichas de datos de seguridad en www.hologicds.com.

	<p>Reactivo de selección ÁCIDO BÓRICO 1 - 5 % ATENCIÓN H315 - Provoca irritación cutánea</p>
---	---

Requisitos para el almacenamiento y la manipulación de los reactivos

- A. Los siguientes reactivos son estables cuando se almacenan a entre 2 °C y 8 °C (refrigerados):
 - Reactivo de amplificación Aptima SARS-CoV-2
 - Reactivo enzimático Aptima SARS-CoV-2
 - Reactivo de sonda Aptima SARS-CoV-2
 - Control interno Aptima SARS-CoV-2
 - Control positivo Aptima SARS-CoV-2
 - Control negativo Aptima SARS-CoV-2
- B. Los siguientes reactivos son estables cuando se almacenan a entre 2 °C y 30 °C:
 - Solución de reconstitución de amplificación Aptima SARS-CoV-2
 - Solución de reconstitución enzimática Aptima SARS-CoV-2
 - Solución de reconstitución de sonda Aptima SARS-CoV-2
 - Reactivo de selección Aptima SARS-CoV-2

- C. Los siguientes reactivos son estables cuando se almacenan a entre 15 °C y 30 °C (temperatura ambiente):
- Reactivo de captura del objetivo Aptima SARS-CoV-2
 - Solución de lavado Aptima
 - Tampón para líquido de desactivación Aptima
 - Reactivo de aceite Aptima
- D. El reactivo de captura del objetivo de trabajo (wTCR) es estable durante 30 días cuando se almacena a entre 15 °C y 30 °C. No lo refrigere.
- E. Después de la reconstitución, el reactivo enzimático, el reactivo de amplificación y el reactivo de sonda son estables durante 30 días cuando se almacenan a entre 2 °C y 8 °C.
- F. Deseche cualquier reactivo reconstituido y wTCR sin utilizar después de 30 días o después de la fecha de vencimiento del lote maestro, lo que suceda primero.
- G. Los controles son estables hasta la fecha indicada en los viales.
- H. Los reactivos que se almacenan dentro del Panther System tienen 72 horas de estabilidad.
- I. El reactivo de sonda y el reactivo de sonda reconstituido son fotosensibles. Almacene los reactivos protegidos de la luz. La estabilidad reconstituida especificada se basa en una exposición de 12 horas del reactivo de sonda reconstituido a dos bombillas fluorescentes de 60 W, a una distancia de 43 cm (17 pulg.) y a una temperatura menor a 30 °C. La exposición a la luz del reactivo de sonda reconstituido debe limitarse de manera equivalente.
- J. Al calentarse a temperatura ambiente, algunos tubos de control pueden tener una apariencia turbia o contener precipitados. La turbiedad o la precipitación asociadas a los controles no afecta su desempeño. Los controles pueden utilizarse ya sea que estén transparentes o turbios/precipitados. Si se desean controles transparentes, puede acelerarse la solubilización mediante la incubación en el extremo superior del rango de temperatura ambiente (15 °C a 30 °C).
- K. No congele los reactivos.**

Obtención y almacenamiento de especímenes

Especímenes: Material clínico obtenido del paciente y colocado en un sistema de transporte adecuado. Para el ensayo Aptima SARS-CoV-2, esto incluye los especímenes provenientes de hisopado NF, nasal, del cornete medio y OF, o de la obtención de especímenes por lavado/aspirado nasofaríngeo y aspirado nasal, en un medio de transporte viral (VTM/UTM), en solución salina, en Amies líquido o en un medio de transporte de muestras (STM).

Muestras: Se trata de un término más general para describir cualquier material de prueba en el Panther System, incluidos especímenes, especímenes transferidos a un tubo para lisis de especímenes Panther Fusion y controles.

Nota: *Manipule todos los especímenes como si contuvieran agentes potencialmente infecciosos. Ejercer las precauciones universales.*

Nota: *Tenga cuidado para evitar la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de los especímenes. Por ejemplo, deseche el material utilizado sin pasarlo sobre ningún tubo abierto.*

Obtención de especímenes mediante hisopado

Obtenga especímenes mediante hisopado NF, hisopado nasal e hisopado OF según la técnica estándar con el uso de un hisopo de punta de poliéster, rayón o nailon. Coloque de inmediato el espécimen del hisopado en 3 mL de VTM o UTM. Alternativamente, los especímenes del hisopado pueden agregarse a solución salina, Amies líquido o STM. El kit de obtención de especímenes mediante hisopado para pruebas múltiples Aptima puede utilizarse para la obtención de muestras mediante hisopado OF y nasal.

Después de la obtención, los especímenes obtenidos en VTM/UTM pueden almacenarse a entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 96 horas antes de transferirse al tubo para lisis de especímenes o a los tubos para transferencia según se describe debajo en la sección sobre el procesamiento de especímenes. El resto de los volúmenes de especímenes puede almacenarse a ≤ -70 °C.

Después de la obtención, los especímenes en el tubo para pruebas múltiples Aptima pueden almacenarse a entre 2 °C y 30 °C durante un máximo de 6 días.

Nota: Se recomienda almacenar los especímenes transferidos al tubo para pruebas múltiples Aptima tapados y en una gradilla en posición vertical.

Es posible usar los siguientes tipos de VTM/UTM:

- Fórmulas Remel MicroTest M4, M4RT, M5 o M6
- Medio de transporte universal Copan
- Medio de transporte viral universal BD

Nota: No utilice medios que podrían contener tiocianato de guanidinio ni ningún material que contenga guanidina.

Obtención de especímenes por lavado/aspirado nasofaríngeo y aspirado nasal

Obtenga los especímenes por lavado/aspirado nasofaríngeo y aspirado nasal según las técnicas estándar.

Procesamiento de especímenes con el uso del tubo para lisis de especímenes Panther Fusion

- A. Antes de llevar a cabo la prueba en el Panther System, transfiera 500 μ L del espécimen obtenido* a un tubo para lisis de especímenes Panther Fusion.

***Nota:** Cuando haga pruebas con especímenes congelados, permita que los especímenes alcancen la temperatura ambiente antes de procesarlos.

Nota: Al utilizar el software para ensayo con tubos sin tapar Aptima SARS-CoV-2, prepare el tubo para lisis de especímenes Panther Fusion según se describe debajo en Procesamiento de especímenes con el tubo para lisis de especímenes Hologic con tapa maciza.

Procesamiento de especímenes con el tubo para lisis de especímenes Hologic con tapa maciza

- A. Destape el tubo para lisis de especímenes Hologic y conserve la tapa.
- B. Antes de llevar a cabo la prueba en el Panther System, transfiera 500 μ L del espécimen al tubo para lisis de especímenes Hologic
- C. Se recomienda volver a tapar el tubo e invertirlo suavemente tres veces para asegurar que el virus se inactive y la mezcla sea homogénea.

- D. Para evitar el contacto con la parte superior del tubo, afloje la tapa y coloque el tubo con la muestra en la gradilla de las muestras.
- E. Extraiga y deseche la tapa. Inspeccione el tubo de la muestra. Si hay burbujas, extraígalas con cuidado del tubo de la muestra (por ejemplo, con la punta de un hisopo estéril o un método similar).
- F. Coloque el soporte para la gradilla en la gradilla para muestras y cargue la gradilla en el instrumento.

Nota: El procesamiento de especímenes con el tubo para lisis de especímenes Hologic es para usarse con el software para ensayo con tubos sin tapar Aptima SARS-CoV-2.

Procesamiento de especímenes con un tubo para lisis de especímenes personalizado

- A. En un tubo genérico estéril o no estéril hecho de vidrio siliconado, plástico de polipropileno o un material similar con 12 mm a 13 mm de diámetro externo y 75 mm a 100 mm de alto, introduzca 0.78 mL ± 0.07 mL de STM suelto (a granel) con una pipeta o un pipeteador de repetición.

Nota: Si los tubos se preparan antes del uso, vuelva a tapar el tubo y almacénelo a entre 15 °C y 30 °C hasta su uso en el procesamiento de especímenes.

- B. Destape el tubo para lisis de especímenes personalizado que contiene STM y conserve la tapa.
- C. Antes de llevar a cabo la prueba en el Panther System, transfiera 500 µL del espécimen al tubo para lisis de especímenes personalizado que contiene STM.
- D. Se recomienda volver a tapar el tubo de la muestra e invertirlo suavemente tres veces para asegurar que el virus se inactive y la mezcla sea homogénea.
- E. Para evitar el contacto con la parte superior del tubo, afloje la tapa y coloque el tubo con la muestra en la gradilla de las muestras.
- F. Extraiga y deseche la tapa. Inspeccione el tubo de la muestra. Si hay burbujas, extraígalas con cuidado del tubo (por ejemplo, con la punta de un hisopo estéril o un método similar).
- G. Coloque el soporte para la gradilla en la gradilla para muestras y cargue la gradilla en el instrumento.

Nota: El procesamiento de especímenes con el tubo para lisis de especímenes personalizado es para usarse con el software para ensayo con tubos sin tapar Aptima SARS-CoV-2.

Procesamiento de especímenes con el uso del tubo para transferencia de especímenes Aptima

- A. Antes de llevar a cabo la prueba en el Panther System, transfiera 1 mL del espécimen obtenido* a un tubo para transferencia de especímenes Aptima**.

***Nota:** Cuando haga pruebas con especímenes congelados, permita que los especímenes alcancen la temperatura ambiente antes de procesarlos.

****Nota:** De manera alternativa, es posible usar un tubo para pruebas múltiples Aptima o un tubo unisex Aptima.

- B. Vuelva a tapar firmemente el tubo para transferencia de especímenes Aptima.

- C. Invierta suavemente el tubo 2 o 3 veces para asegurar que el espécimen se mezcle completamente.

Nota: El tubo para transferencia de especímenes Aptima no puede someterse a pruebas en un sistema que use el software para ensayo con tubos sin tapar Aptima SARS-CoV-2.

Procesamiento de especímenes para especímenes obtenidos con el kit de obtención para pruebas múltiples Aptima

- A. Después de colocar el espécimen obtenido* en el tubo para pruebas múltiples Aptima con el kit de obtención para pruebas múltiples Aptima, no se requiere ningún procesamiento adicional.

***Nota:** Cuando haga pruebas con especímenes congelados, permita que los especímenes alcancen la temperatura ambiente antes de procesarlos.

Nota: En un sistema que use el software para ensayo con tubo sin tapar Aptima SARS-CoV-2, transfiera el espécimen obtenido del tubo para pruebas múltiples Aptima a un tubo para lisis de especímenes Hologic según se describe en las secciones anteriores sobre el procesamiento de especímenes.

Almacenamiento de muestras

- A. Las muestras en el Panther System pueden archivarse para pruebas adicionales con posterioridad.
- B. Almacenamiento de las muestras antes o después de las pruebas
1. Las muestras en el tubo para pruebas múltiples Aptima, el tubo para especímenes Aptima o el tubo para lisis de especímenes deben almacenarse en posición vertical en la gradilla bajo la condición siguiente:
 - 2 °C a 30 °C durante un máximo de 6 días
 2. Las muestras deben cubrirse con una barrera limpia y nueva de aluminio o película plástica.
 3. Si las muestras sometidas al ensayo deben congelarse o transportarse, extraiga la tapa perforable y coloque una nueva tapa no perforable en los tubos de especímenes. Si las muestras deben transportarse para hacer pruebas en otro laboratorio, se deben mantener las temperaturas recomendadas. Antes de destaparse, los tubos de transporte de especímenes se deben centrifugar durante 5 minutos a 420 RCF (fuerza centrífuga relativa) para llevar todo el líquido a la parte inferior del tubo. Evite las salpicaduras y la contaminación cruzada.

Nota: No debe usarse el cerramiento de tubos Fisherbrand™ VersaClosure™ para cubrir los tubos para su congelamiento o envío.

Transporte de los especímenes

Mantenga las condiciones de almacenamiento de los especímenes tal como se describen en la sección *Obtención y almacenamiento de especímenes de la página 6*.

Nota: Los especímenes deben trasladarse de acuerdo con las normas de transporte regionales, nacionales e internacionales vigentes.

Panther System

A continuación se indican los reactivos del ensayo Aptima SARS-CoV-2 para el Panther System. También se indican los símbolos de identificación de reactivos junto al nombre de los reactivos.

Reactivos y materiales proporcionados

Kit de ensayo Aptima SARS-CoV-2 PRD-06419

250 pruebas (2 cajas)

Caja refrigerada Aptima SARS-CoV-2 (caja 1 de 2)

(almacenar a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C después de su recepción)

Símbolo	Componente	Cantidad Kit de 250 pruebas
A	Reactivo de amplificación Aptima SARS-CoV-2 <i>Ácidos nucleicos no infecciosos desecados en una solución tamponada que contiene < 5 % de agente volumétrico.</i>	1 vial
E	Reactivo enzimático Aptima SARS-CoV-2 <i>Transcriptasa inversa y polimerasa de ARN desecadas en una solución tamponada HEPES con < 10 % de reactivo volumétrico.</i>	1 vial
P	Reactivo de sonda Aptima SARS-CoV-2 <i>Sondas de ADN quimioluminiscentes no infecciosas desecadas en solución tamponada de succinato con < 5 % de detergente.</i>	1 vial
IC	Control interno Aptima SARS-CoV-2	1 vial

Caja a temperatura ambiente Aptima SARS-CoV-2 (caja 2 de 2)

(almacenar a una temperatura de entre 15 °C y 30 °C después de su recepción)

Símbolo	Componente	Cantidad Kit de 250 pruebas
AR	Solución de reconstitución de amplificación Aptima SARS-CoV-2 <i>Solución acuosa que contiene conservantes.</i>	1 x 27.7 mL
ER	Solución de reconstitución enzimática Aptima SARS-CoV-2 <i>Solución tamponada HEPES que contiene un surfactante y glicerol.</i>	1 x 11.1 mL
PR	Solución de reconstitución de sonda Aptima SARS-CoV-2 <i>Solución tamponada de succinato con < 5 % de detergente.</i>	1 x 35.4 mL
S	Reactivo de selección Aptima SARS-CoV-2 <i>Solución tamponada de borato a 600 mM con surfactante.</i>	1 x 108 mL
TCR	Reactivo de captura del objetivo Aptima SARS-CoV-2 <i>Solución de sal tamponada que contiene oligómeros de fase sólida y de captura.</i>	1 x 54 mL
	Anillos de reconstitución	3
	Hoja de códigos de barras del lote maestro	1 hoja

Materiales necesarios disponibles por separado

Nota: A menos que se indique lo contrario, los materiales que están disponibles a través de Hologic aparecen con el número de catálogo.

	<u>N.º de cat.</u>
Panther System	303095
Kit de líquidos para ensayo Aptima <i>(Solución de lavado Aptima, tampón para líquido de desactivación Aptima y reactivo de aceite Aptima)</i>	303014 (1000 pruebas)
Kit de detección automática Aptima	303013 (1000 pruebas)
Unidades multitubo (Multi-Tube Units, MTU)	104772-02
Kit de bolsas de residuos Panther	902731
Tapa para el contenedor de residuos Panther	504405
O kit de ciclo Panther <i>Contiene MTU, bolsas de residuos, tapas para el contenedor de residuos, líquidos para el ensayo y detecciones automáticas</i>	303096 (5000 pruebas)
Puntas conductoras de 1000 µL con detección de líquidos	10612513 (Tecan)
Kit de controles Aptima SARS-CoV-2 <i>PC: Control positivo Aptima SARS-CoV-2. Ácido nucleico no infeccioso en una solución tamponada que contiene < 5 % de detergente. Cantidad 5 x 1.7 mL</i> <i>NC: Control negativo Aptima SARS-CoV-2 Solución tamponada con < 5 % de detergente. Cantidad 5 x 1.7 mL</i>	PRD-06420
Kit de obtención de especímenes mediante hisopado para pruebas múltiples Aptima	PRD-03546
Kit de transferencia de especímenes Aptima	301154C
Kit de transferencia de especímenes Aptima (capacidad de impresión)	PRD-05110
Kit unisex para la obtención de especímenes mediante hisopado Aptima para especímenes de hisopado endocervical y para la uretra masculina	301041
Tubos para lisis de especímenes Panther Fusion, 100 por bolsa <i>El tubo contiene 0.71 mL de STM con una tapa perforable</i>	PRD-04339
Tubo para lisis de especímenes Hologic, 100 cada uno <i>El tubo contiene 0.71 mL de STM con una tapa maciza</i>	PRD-06554
Tubo para lisis de especímenes Hologic, 1200 cada uno <i>El tubo contiene 0.71 mL de STM con una tapa maciza</i>	PRD-06660
Medio para el transporte de los especímenes, 1 frasco, 80 mL	PRD-04423
Medio para el transporte de los especímenes, 1 frasco, 120 mL	PRD-06657
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5 % al 7 % (0.7 M a 1.0 M)	—
Guantes desechables	—
Tapas no perforables de reemplazo	504415

	<u>N.º de cat.</u>
Cerramientos para tubos Fisherbrand VersaClosure*, 1000 por paquete	02-707
<i>*Una cubierta para tubos de uso único del tubo para lisis de especímenes Hologic (PRD-06554 únicamente) después de la prueba</i>	
Tapas de reemplazo para los kits de 250 pruebas	—
Soluciones de reconstitución de reactivos de amplificación y de sonda	CL0041 (100 tapas)
Solución de reconstitución de reactivo enzimático	501616 (100 tapas)
TCR y reactivo de selección	CL0040 (100 tapas)

Materiales opcionales

	<u>N.º de cat.</u>
Refuerzo de lejía para la limpieza Hologic	302101
<i>Para la limpieza rutinaria de superficies y equipos</i>	
Balancín para tubos	—

Procedimiento de prueba del Panther System

Nota: Consulte el manual del usuario del Panther/Panther System para obtener información adicional sobre el procedimiento.

A. Preparación del área de trabajo

Limpie las superficies de trabajo donde se prepararán los reactivos y las muestras. Utilice un paño para limpiar las superficies de trabajo con una solución de hipoclorito de sodio a entre el 2.5 % y el 3.5 % (0.35 M a 0.5 M). Permita que la solución de hipoclorito de sodio entre en contacto con las superficies durante al menos 1 minuto y, a continuación, enjuague con agua. No permita que la solución de hipoclorito de sodio se seque. Cubra la superficie de la mesa en la que se prepararán los reactivos y las muestras con cubiertas para mesa de laboratorio absorbentes con parte posterior de plástico limpias.

B. Reconstitución de reactivos/preparación de un kit nuevo

Nota: La reconstitución de los reactivos debe llevarse a cabo antes de comenzar cualquier trabajo en el Panther System.

1. Para reconstituir los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda, combine los frascos de reactivo liofilizado con la solución de reconstitución. Si están refrigeradas, permita que las soluciones de reconstitución alcancen la temperatura ambiente antes de usarlas.
 - a. Empareje cada solución de reconstitución con su reactivo liofilizado. Asegúrese de que la solución de reconstitución y el reactivo tengan los mismos colores en las etiquetas antes de conectar el anillo de reconstitución.
 - b. Verifique los números de lote de la hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que se hayan emparejado los reactivos adecuados.
 - c. Abra el vial del reactivo liofilizado e inserte firmemente el extremo ranurado del anillo de reconstitución en la abertura del vial (Figura 1, paso 1).

- d. Abra la solución de reconstitución correspondiente y coloque la tapa en una superficie de trabajo cubierta y limpia.
- e. Sostenga el frasco de la solución de reconstitución en la mesa y, al mismo tiempo, inserte firmemente el otro extremo del anillo de reconstitución en la abertura del frasco (Figura 1, paso 2).
- f. Invierta lentamente los frascos conectados. Permita que la solución se drene del frasco al vial de vidrio (Figura 1, paso 3).
- g. Haga girar el vial de vidrio para mezclar completamente la solución (Figura 1, paso 4).
- h. Espere que el reactivo liofilizado se solubilice y, a continuación, invierta nuevamente los frascos conectados, con una inclinación a un ángulo de 45° para minimizar la formación de espuma (Figura 1, paso 5). Permita que todo el líquido se drene de regreso al frasco de plástico.
- i. Extraiga el anillo de reconstitución y el vial de vidrio (Figura 1, paso 6).
- j. Vuelva a tapar el frasco de plástico. Anote las iniciales del usuario y la fecha de reconstitución en la etiqueta (Figura 1, paso 7).
- k. Elimine el anillo de reconstitución y el vial de vidrio (Figura 1, paso 8).

Opción: Se permite la mezcla adicional de los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda con un balancín para tubos. Para mezclar los reactivos, es posible colocar el frasco de plástico vuelto a tapar en un balancín para tubos a 20 RPM (o equivalente) durante un mínimo de 5 minutos.

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

Advertencia: Es necesario mezclar de manera adecuada los reactivos para lograr los resultados esperados en los ensayos.

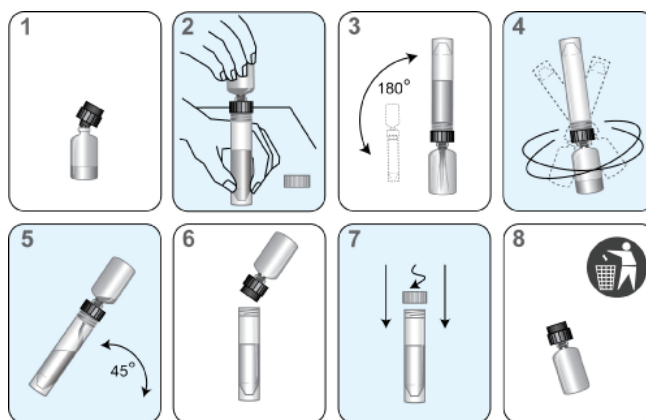


Figura 1. Proceso de reconstitución en el Panther System

2. Preparación del reactivo de captura del objetivo de trabajo (wTCR)
 - a. Empareje los frascos correctos de TCR e IC.
 - b. Verifique los números de lote de los reactivos en la hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que se hayan emparejado los reactivos adecuados del kit.
 - c. Abra el frasco de TCR y coloque la tapa en una superficie de trabajo cubierta y limpia.

- d. Abra el frasco de IC y vierta todo el contenido en el frasco de TCR. Es esperable que una pequeña cantidad de líquido permanezca en el frasco de IC.
 - e. Tape el frasco de TCR y gire suavemente la solución para mezclar el contenido. Evite crear espuma durante este paso.
 - f. Anote las iniciales del usuario y la fecha actual en la etiqueta.
 - g. Deseche el frasco de IC y la tapa.
3. Preparación del reactivo de selección
 - a. Verifique el número de lote del frasco del reactivo para asegurarse de que coincida con el número de lote de la hoja de códigos de barras del lote maestro.
 - b. Anote las iniciales del usuario y la fecha actual en la etiqueta.

Nota: Para mezclar bien, invierta suavemente todos los reactivos antes de cargarlos en el sistema. Evite la creación de espuma durante la inversión de los reactivos.

C. Preparación de reactivos para reactivos previamente reconstituidos

1. Los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda reconstituidos previamente deben alcanzar la temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes de comenzar el ensayo.

Opción: Para llevar los reactivos a temperatura ambiente, es posible colocar los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda reconstituidos en un balancín para tubos a 20 RPM (o equivalente) durante un mínimo de 25 minutos.

2. Si el reactivo de sonda reconstituido contiene precipitado que no se resolubiliza a temperatura ambiente, caliente el frasco tapado a una temperatura que no supere los 62 °C de 1 a 2 minutos. Después de este paso de calentamiento, el reactivo de sonda puede usarse aunque quede precipitado residual. Mezcle el reactivo de sonda mediante inversión, con cuidado de no crear espuma, antes de cargarlo en el sistema.
3. Para mezclar bien cada uno de los reactivos, inviértalos suavemente antes de cargarlos en el sistema. Evite la creación de espuma durante la inversión de los reactivos. Este paso no es requerido si los reactivos se cargan directamente en el sistema después de mezclados en el balancín para tubos.
4. No llene hasta el tope los frascos de los reactivos. El Panther System identifica y rechaza los frascos que hayan sido llenados hasta el tope.
5. *Es necesario mezclar de manera adecuada los reactivos para lograr los resultados esperados en los ensayos.*

D. Manipulación de los especímenes con un tubo para lisis de los especímenes Panther Fusion o un tubo para transferencia de especímenes Aptima.

Nota: Antes de cargar especímenes en el Panther System, prepárelos según las instrucciones para el procesamiento de especímenes descritas en la sección Obtención y almacenamiento de especímenes.

1. Inspeccione los tubos de muestras antes de cargarlos en la gradilla. Si un tubo de muestras contiene burbujas o un volumen menor que el observado típicamente, golpee suavemente la parte inferior del tubo para que el contenido llegue al fondo.

Nota: Para las muestras transferidas al tubo para lisis de especímenes Panther Fusion o al tubo para transferencia de especímenes Aptima, a fin de evitar un error de procesamiento, asegúrese de que se agregue el volumen de espécimen adecuado al tubo. Cuando se agrega un espécimen obtenido adecuadamente al tubo, hay suficiente volumen para llevar a cabo 3 extracciones de ácido nucleico.

E. Manipulación de los especímenes con un tubo para lisis de los especímenes Hologic o un tubo para lisis de los especímenes personalizado

1. Prepare los especímenes según las instrucciones para el procesamiento de especímenes descritas en la sección *Obtención y almacenamiento de especímenes*.

Nota: Para las muestras transferidas al tubo para lisis de los especímenes Hologic o a un tubo para lisis de los especímenes personalizado, a fin de evitar un error de procesamiento, asegúrese de que se agregue el volumen de espécimen adecuado al tubo. Cuando se agrega un espécimen obtenido adecuadamente al tubo, hay suficiente volumen para llevar a cabo 2 extracciones de ácido nucleico

Nota: Cuando se usa el software para ensayo con tubo sin tapar Aptima SARS-CoV-2, extraiga la tapa del control positivo y negativo antes de cargarlo en el Panther System.

F. Preparación del sistema

1. Configure el sistema según las instrucciones del *manual del usuario del Panther/Panther Fusion System* y *Notas sobre el procedimiento*. Asegúrese de utilizar las gradillas del tamaño correcto para los reactivos y los adaptadores de TCR.
2. Cargue las muestras.

Notas sobre el procedimiento

A. Controles

1. Para trabajar correctamente con el software del ensayo Aptima para el Panther System, se requiere un par de controles. Los controles positivo y negativo Aptima SARS-CoV-2 pueden cargarse en cualquier posición de la gradilla o en cualquier carril del compartimento de muestras del Panther System. El pipeteo de los especímenes de los pacientes comenzará cuando se haya cumplido una de las dos condiciones siguientes:
 - a. El sistema está procesando un par de controles.
 - b. El sistema ha registrado resultados válidos para los controles.
2. Después de que se hayan pipeteado los tubos de control y cuando se estén procesando para un kit de reactivos en particular, puede llevarse a cabo el ciclo con los especímenes de los pacientes con kit asociado durante un máximo de 24 horas, a no ser que:
 - a. Los resultados de los controles no sean válidos.
 - b. Se extraiga del sistema el kit de reactivos del ensayo asociado.
 - c. El kit de reactivos del ensayo asociado exceda los límites de estabilidad.
3. Cada tubo de control Aptima puede someterse a la prueba una sola vez. Los intentos de pipetear más de una vez desde el tubo pueden provocar errores de procesamiento.
4. El pipeteo de los especímenes de los pacientes comienza cuando se cumple una de las dos condiciones siguientes:
 - a. El sistema ha registrado resultados válidos para los controles.
 - b. El sistema está procesando un par de controles.

B. Temperatura

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

C. Talco de los guantes

Al igual que en cualquier sistema de reactivos, el exceso de talco de algunos guantes puede contaminar los tubos abiertos. Se recomienda el uso de guantes sin talco.

D. Protocolo de monitoreo de contaminación en el laboratorio para el Panther System

Hay muchos factores específicos de cada laboratorio que pueden contribuir a la contaminación, como el volumen de las pruebas, el flujo de trabajo, la prevalencia de enfermedades y otras actividades en el laboratorio. Se deben tener en cuenta estos factores al establecer la frecuencia de monitoreo de la contaminación. Deben establecerse intervalos para el monitoreo de la contaminación en función de las prácticas y de los procedimientos de cada laboratorio.

Con el fin de monitorear la contaminación en el laboratorio, puede realizarse el siguiente procedimiento con el kit unisex para la obtención de especímenes mediante hisopado Aptima para especímenes de hisopado endocervical y para la uretra masculina:

1. Etiquete los tubos de transporte de hisopado con números que correspondan a las áreas que deben someterse a prueba.
2. Extraiga el hisopo para la obtención de especímenes (hisopo con bastoncillo azul e impresión en verde) de su envoltura, humedezca el hisopo en el medio de transporte de especímenes (STM) e hisope el área designada con un movimiento circular.
3. Inserte de inmediato el hisopo en el tubo de transporte.
4. Rompa con cuidado el bastoncillo del hisopo en la muesca. Tenga cuidado para no salpicar el contenido.
5. Vuelva a tapar de manera ajustada el tubo de transporte de hisopado.
6. Repita los pasos del 2 al 5 para cada área que debe hisoparse.

E. Si los resultados son positivos, consulte *Interpretación de los resultados*. Para obtener información adicional sobre el monitoreo de la contaminación específica en el Panther System, comuníquese con el soporte técnico de Hologic.

Control de calidad

El Panther System puede invalidar el resultado de un ciclo o de un espécimen si se producen problemas al llevar a cabo el ensayo. Los especímenes con resultados no válidos deben someterse a prueba nuevamente.

Controles negativo y positivo

Para generar resultados válidos, debe someterse a prueba un conjunto de controles de ensayo. Deben someterse a prueba una réplica del control negativo del ensayo y del control positivo del ensayo cada vez que se carga un nuevo kit en el Panther System o cuando el conjunto actual de controles válidos ya venció.

El Panther System está configurado para requerir controles de ensayo a un intervalo especificado por el administrador, de 24 horas como máximo. El software del Panther System alerta al usuario cuando se requieren controles de ensayo y no inicia pruebas nuevas antes de que se hayan cargado y se hayan comenzado a procesar los controles de ensayo.

Durante el procesamiento, el Panther System verifica automáticamente los criterios de aceptación de los controles de ensayo. Para generar resultados válidos, los controles de ensayo deben superar una serie de verificaciones de validez que lleva a cabo el Panther System.

Si los controles de ensayo superan todas las verificaciones de validez, se consideran válidos durante el intervalo de tiempo especificado por el administrador. Cuando el intervalo de tiempo haya transcurrido, el Panther System hará vencer los controles de ensayo, lo que requerirá someter a prueba un nuevo conjunto de controles de ensayo antes de iniciar nuevas muestras.

Si alguno de los controles de ensayo no supera las verificaciones de validez, el Panther System invalida automáticamente las muestras afectadas y requiere someter a prueba un nuevo conjunto de controles de ensayo antes de iniciar nuevas muestras.

Control interno

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

El Panther System está diseñado para verificar con exactitud los procesos cuando los procedimientos se llevan a cabo en conformidad con las instrucciones provistas en el presente prospecto y en el *manual del usuario del Panther/Panther Fusion System*.

Interpretación de los resultados

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

En la Tabla 1 se indican los resultados posibles informados en un ciclo válido con interpretaciones de los resultados.

Tabla 1: Interpretación de los resultados

Resultado para SARS-CoV-2	Resultado del IC	Interpretación
Negativo	Válido	No se detectó SARS-CoV-2.
Positivo	Válido	Se detectó SARS-CoV-2.
No válido	No válido	No válido. Se produjo un error en la generación del resultado y la muestra debe volver a someterse a la prueba.

Nota: No se requiere la detección del control interno para las muestras positivas para SARS-CoV-2.

Restricciones

- Solo el personal capacitado en el procedimiento puede usar este ensayo. Si no se siguen estas instrucciones, pueden producirse resultados erróneos.
- Los resultados confiables dependen de la obtención, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento adecuados de los especímenes.
- Para evitar la contaminación, cumpla las buenas prácticas de laboratorio y los procedimientos especificados en el presente prospecto.
- Un resultado positivo indica la detección del ácido nucleico del virus pertinente. El ácido nucleico puede persistir incluso después de que el virus ya no sea viable.

Desempeño del ensayo Panther SARS-CoV-2

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica (el límite de detección, o LoD) del ensayo Aptima SARS-CoV-2 se determinó mediante la prueba de diluciones en serie de especímenes de hisopado nasofaríngeo clínicos negativos agrupados con virus SARS-CoV-2 cultivado inactivado (USA-WA1/2020; BEI Resources; NR-52281). Se evaluaron diez réplicas de cada dilución en serie con cada uno de dos lotes de reactivos del ensayo en dos Panther System. El LoD se determinó en 0.01 TCID₅₀/mL, lo que se verificó con la prueba de 20 réplicas adicionales con un lote de reactivos del ensayo. El LoD se confirmó también mediante el uso de los siguientes medios de obtención: solución salina, Amies líquido y medio de transporte de muestras (STM).

La sensibilidad analítica del ensayo Aptima SARS-CoV-2 se evaluó además con material de referencia de tres proveedores comerciales. Se llevaron a cabo diluciones en serie del material de referencia en STM y se sometieron a pruebas 20 o más réplicas a cada nivel con cada uno de dos lotes de reactivos del ensayo en dos Panther Systems. Los materiales de referencia y los niveles de dilución más bajos resultantes en una detección $\geq 95\%$ se detallan en la tabla 2.

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

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

Sensibilidad analítica con el flujo de trabajo del tubo para transferencia de especímenes Aptima

La sensibilidad analítica (límite de detección) determinada de 0.01 TCID₅₀/mL del ensayo Aptima SARS-CoV-2 se confirmó mediante el flujo de trabajo para la preparación de especímenes del tubo para transferencia de especímenes Aptima. La confirmación se llevó a cabo con virus SARS-CoV-2 cultivado inactivado (USA-QA1/2020; BEI Resources; NR-52281) en medios de obtención de hisopado nasofaríngeo (NF) clínico negativo, de solución salina, de Amies líquido y de medio de transporte de especímenes (STM), mediante el análisis de 20 réplicas con un lote de reactivos (Tabla 3).

Tabla 3: Confirmación del LoD con el flujo de trabajo del para transferencia de especímenes Aptima

Objetivo	Matriz	N válido	N positivo	% positivo	kRLU promedio	Desv. est. kRLU	% CV
Virus SARS-CoV-2 inactivado	Hisopado NF	20	20	100 %	1063	61	5.8 %
	STM	20	20	100 %	1064	116	10.9 %
	Solución salina	20	20	100 %	1102	60	5.4 %
	Amies líquido	20	20	100 %	1101	51	4.7 %

Inclusividad

La inclusividad del ensayo Aptima SARS-CoV-2 se evaluó con el análisis *in silico* de los oligómeros de captura del objetivo del ensayo, los cebadores de amplificación y las sondas de detección en relación con 9896 secuencias de SARS-CoV-2 disponibles en las bases de datos de genes NCBI y GISAID. Cualquier secuencia con información faltante o ambigua se eliminó del análisis, lo que resultó en la evaluación de 9879 secuencias para la primera región objetivo del ensayo y 9880 para la segunda región objetivo. El análisis *in silico* demostró una homología del 100 % con los oligómeros del ensayo de ambos sistemas objetivo para 9749 (98.5 %) de las secuencias evaluadas y una homología del 100 % con los oligómeros del ensayo de al menos un sistema objetivo para el total de 9896 secuencias. No hubo secuencias evaluadas con discrepancias identificadas que se predijera que afectarían la unión o el desempeño de ambos sistemas objetivo.

Especificidad analítica e interferencia microbiana

La especificidad analítica del ensayo Aptima SARS-CoV-2 se evaluó con la prueba de 30 microorganismos que representan patógenos respiratorios comunes o especies estrechamente relacionadas (Tabla 4). Se sometieron a pruebas bacterias a 10^6 CFU/mL y virus a 10^5 TCID₅₀/mL, excepto donde se indica lo contrario. Los microorganismos se sometieron a pruebas con y sin la presencia del virus SARS-CoV-2 inactivado a 3 veces el LoD. La especificidad analítica del ensayo Aptima SARS-CoV-2 fue del 100 %, sin evidencia de interferencia microbiana.

Además de las pruebas con microorganismos, se llevó a cabo un análisis *in silico* para evaluar la especificidad del ensayo en relación con los microorganismos detallados en la Tabla 4. El análisis *in silico* no demostró ninguna reactividad cruzada probable con ninguna de las 112 secuencias de GenBank evaluadas.

Tabla 4: Especificidad analítica del ensayo Aptima SARS-CoV-2 y microorganismos de interferencia microbiana

Microorganismo	Concentración	Microorganismo	Concentración
Coronavirus humano 229E	1E+5 TCID ₅₀ /mL	Virus de la parainfluenza 1	1E+5 TCID ₅₀ /mL
Coronavirus humano OC43	1E+5 TCID ₅₀ /mL	Virus de la parainfluenza 2	1E+5 TCID ₅₀ /mL
Coronavirus humano HKU1 ¹	1E+6 copias/mL	Virus de la parainfluenza 3	1E+5 TCID ₅₀ /mL
Coronavirus humano NL63	1E+4 TCID ₅₀ /mL	Virus de la parainfluenza 4	1E+3 TCID ₅₀ /mL
SARS-coronavirus ¹	1E+6 copias/mL	Influenza A	1E+5 TCID ₅₀ /mL
Coronavirus MERS	1E+4 TCID ₅₀ /mL	Influenza B	2E+3 TCID ₅₀ /mL
Adenovirus (p. ej., C1 Ad. 71)	1E+5 TCID ₅₀ /mL	Enterovirus (p. ej., EV68)	1E+5 TCID ₅₀ /mL
Metapneumovirus humano (hMPV)	1E+6 TCID ₅₀ /mL	Rinovirus	1E+4 TCID ₅₀ /mL
Virus sincitial respiratorio	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
Lavado nasal humano agrupado ² , para representar la flora microbiana diversa en las vías respiratorias humanas	N/C		

¹ Los virus cultivados y el ácido nucleico purificado del genoma completo para el coronavirus humano HKU1 y el coronavirus SARS no están disponibles fácilmente. Se utilizaron IVT de HKU1 y coronavirus SARS correspondientes a las regiones del gen ORF1ab objetivo del ensayo para evaluar la reactividad cruzada y la interferencia microbiana.

² En lugar de evaluar lavado nasal agrupado, se llevaron a cabo pruebas en 30 especímenes de hisopado NF clínico negativo para representar la flora microbiana diversa en las vías respiratorias humanas.

Desempeño clínico

El desempeño clínico del ensayo Aptima SARS-CoV-2 se evaluó en comparación con el ensayo Panther Fusion SARS-CoV-2 (Hologic, Inc.) mediante un panel de especímenes clínicos remanentes. Para el estudio, se obtuvieron especímenes nasofaríngeos clínicos de pacientes de los EE. UU. con señales y síntomas de infección respiratoria.

La coincidencia de porcentaje positivo (PPA) y la coincidencia de porcentaje negativo (NPA) se calcularon en relación con el ensayo Panther Fusion como resultado de referencia, tal como se muestra en la Tabla 5. El ensayo Aptima SARS-CoV-2 mostró coincidencias positiva y negativa de 100 % y 98.2 % respectivamente.

El lavado/aspirado nasofaríngeo, los aspirados nasales, los hisopados nasales y los hisopados nasales del cornete medio son especímenes aceptables para las pruebas de infecciones respiratorias virales. No obstante, no se evaluó específicamente el desempeño con estos tipos de espécimen con el ensayo Aptima SARS-CoV-2.

Tabla 5: Coincidencia clínica del ensayo Aptima SARS-CoV-2

		Ensayo Panther Fusion SARS-CoV-2	
		Positivos	Negativos
Ensayo Aptima SARS-CoV-2	Positivos	50	1
	Negativos	0	54

Coincidencia de porcentaje positivo: (95 % CI): 100 % (92.9 % – 100 %)

Coincidencia de porcentaje negativo: (95 % CI): 98.2 % (90.4 % – 99.7 %)

Coincidencia general: (95 % CI): 99.0% (94.8 % – 99.8 %)

Desempeño clínico con panel artificial

El desempeño clínico del ensayo Aptima SARS-CoV-2 con el uso del flujo de trabajo de preparación de especímenes con el tubo para transferencia de especímenes Aptima se evaluó en comparación con un panel de especímenes artificiales. Para el estudio, se llevaron a cabo pruebas en 115 especímenes nasofaríngeos clínicos remanentes con los flujos de trabajo del tubo para lisis de especímenes Panther Fusion (tubo para lisis de especímenes) y del tubo para transferencia de especímenes Aptima. Todos los especímenes se obtuvieron de pacientes de los EE. UU. con señales y síntomas de infección respiratoria. El panel consistió en 65 especímenes positivos para SARS-CoV-2 y 50 especímenes negativos para SARS-CoV-2. De los 65 especímenes positivos, 40 estaban a concentraciones de 0.5-2 veces el LoD y 25 estaban a concentraciones de 3-5 veces el LoD con virus SARS-CoV-2 cultivado inactivado (USA-QA1/2020; BEI Resources; NR-52281) como objetivo.

La coincidencia de porcentaje positivo (PPA) y la coincidencia de porcentaje negativo (NPA) para ambos flujos de trabajo de preparación de especímenes se calculó en relación con el resultado esperado del panel artificial de especímenes, como se muestra en la Tabla 6 para el tubo para transferencia de especímenes Aptima y en la Tabla 7 para el tubo para lisis de especímenes. Las características de detección para los especímenes artificiales se calcularon por concentración objetivo, como se muestra en la Tabla 8. Ambos flujos de trabajo para la preparación de los especímenes demostraron una coincidencia del 100 % para los paneles evaluados.

Tabla 6: Desempeño del flujo de trabajo del tubo para transferencia de especímenes Aptima en relación con los resultados esperados

		Resultado esperado		
		Positivos	Negativos	Total
Resultado de la transferencia de especímenes Aptima	Positivos	65	0	65
	Negativos	0	50	50
	Total	65	50	115

Coincidencia general: 100 % (96.8 % – 100 %)

Coincidencia positiva: 100 % (94.4 % – 100 %)

Coincidencia negativa: 100 % (92.9 % – 100 %)

Tabla 7: Desempeño del flujo de trabajo del tubo para lisis de especímenes en relación con los resultados esperados

		Resultado esperado		
		Positivos	Negativos	Total
Resultado del tubo para lisis de especímenes	Positivos	65	0	65
	Negativos	0	50	50
Total		65	50	115

Coincidencia general: 100 % (96.8 % – 100 %)

Coincidencia positiva: 100 % (94.4 % – 100 %)

Coincidencia negativa: 100 % (92.9 % – 100 %)

Tabla 8: Características de detección para los especímenes de hisopado nasofaríngeos artificiales

Conc. objetivo	Ejemplo de flujo de trabajo de transferencia de especímenes Aptima						Ejemplo de flujo de trabajo de tubo de lisis de especímenes					
	n Válido	n positivo	% positivo	kRLU promedio	Desv. est. kRLU	% CV	n Válido	n positivo	% positivo	kRLU promedio	Desv. est. kRLU	% CV
Negativo	50	0	0	299	9.7	3.2	50	0	0	300	9.3	3.1
0.5 veces el LoD	10	10	100	1050	208.5	19.9	10	10	100	1153	113.0	9.8
1.0 vez el LoD	10	10	100	1176	102.1	8.7	10	10	100	1205	24.3	2.0
1.5 veces el LoD	10	10	100	1222	31.6	2.6	10	10	100	1223	21.9	1.8
2.0 veces el LoD	10	10	100	1225	22.6	1.8	10	10	100	1237	26.0	2.1
3.0 veces el LoD	10	10	100	1228	13.6	1.1	10	10	100	1215	25.5	2.1
4.0 veces el LoD	5	5	100	1238	16.7	1.4	5	5	100	1212	12.5	1.0
5.0 veces el LoD	10	10	100	1237	18.2	1.5	10	10	100	1246	28.3	2.3

Desempeño clínico con especímenes positivos infectados naturales

El desempeño clínico del ensayo Aptima SARS-CoV-2 con el uso del flujo de trabajo para preparación de especímenes del tubo para transferencia de especímenes Aptima se evaluó en comparación con el flujo de trabajo del tubo para lisis de especímenes tanto en el ensayo Aptima como en el ensayo Panther Fusion SARS-CoV-2. Para el estudio, se prepararon tres diluciones de 15 especímenes únicos de hisopado nasofaríngeo positivos para SARS-CoV-2 y se procesaron con ambos flujos de trabajo. Anteriormente se había determinado que las muestras de SARS-CoV-2 eran positivas con un ensayo molecular ajeno a Hologic.

La coincidencia de porcentaje positivo entre el ensayo Aptima SARS-CoV-2 con el uso del los flujos de trabajo del tubo para transferencia de especímenes Aptima y del tubo para lisis de especímenes fue de 97.5 % (87.1 % – 99.6 %) y 100 % (91.0 % – 100 %), respectivamente, en

comparación con el ensayo Panther Fusion SARS-CoV-2 con el uso del flujo de trabajo del tubo para lisis de especímenes como referencia. La coincidencia de porcentaje positivo del tubo para transferencia de especímenes Aptima fue de 95.0 % (83.5 % – 98.6 %) en comparación con el flujo de trabajo del tubo para lisis de especímenes como referencia.

Bibliografía

1. **Organización Mundial de la Salud (OMS)**. Preguntas y respuestas sobre la enfermedad por coronavirus (COVID-19). 9 de marzo de 2020. Sitio web de la Organización Mundial de la Salud (OMS) <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/q-a-coronaviruses>. Acceso el 10 de marzo de 2020.
2. **Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC)**. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/how-covid-spreads.html> Acceso el 17 de junio de 2020.
3. **Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC)**. Enfermedad del coronavirus 2019 (COVID-19) en los EE. UU. Actualizado el 10 de marzo de 2020. Sitio web de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-in-us.html>. Acceso el 10 de marzo de 2020.
4. **Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC)**. Información para viajes en relación con la enfermedad del coronavirus 2019. Última revisión de la página el 8 de marzo de 2020. Sitio web de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/travelers/index.html>. Acceso el 10 de marzo de 2020.
5. **Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC)**. Resumen de la situación sobre la enfermedad del coronavirus 2019- (COVID-19). Actualizado el 9 de marzo de 2020. Sitio web de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/summary.html>. Acceso el 10 de marzo de 2020.
6. **Clinical & Laboratory Standards Institute**. Documento M29 sobre la protección de los trabajadores de laboratorio contra las infecciones adquiridas ocupacionalmente. Sitio web del CLSI <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Acceso en septiembre de 2017.



Hologic BVBA
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Atención al cliente: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Soporte técnico: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Para obtener más opciones de contacto, visite www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Panther y Panther Fusion son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Hologic, Inc. o sus subsidiarias en Estados Unidos y en otros países.

Todas las demás marcas comerciales que pueden aparecer en este prospecto son propiedad de sus respectivos dueños.

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

©2020 Hologic, Inc. Todos los derechos reservados.

AW-21491-2401 Rev. 002
2020-06