

Ensayo™ SARS-CoV-2/Flu (Panther™ System)

Solo para uso diagnóstico *in vitro*
Para exportación de EE. UU. únicamente

ÍNDICE

Información general	2
Uso previsto	2
Resumen y explicación de la prueba	2
Principios del procedimiento	3
Advertencias y precauciones	4
Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos	6
Recogida y almacenamiento de especímenes	7
Procesamiento de especímenes	8
Almacenamiento de muestras	11
Transporte de especímenes	12
Panther System	13
Reactivos y materiales suministrados	13
Material necesario y disponible por separado	14
Procedimiento de prueba del Panther System	15
Notas del procedimiento	18
Control de calidad	20
Interpretación de resultados	21
Limitaciones	21
Rendimiento del ensayo Panther SARS-CoV-2/Flu	22
Bibliografía	29

Información general

Uso previsto

El ensayo Aptima SARS-CoV-2/Flu es una prueba de diagnóstico *in vitro* de sonda de ácido nucleico de amplificación de interés indicada para la detección y diferenciación cualitativa del RNA del virus SARS-CoV-2, el virus de la influenza A (Flu A) y el virus de la influenza B (Flu B) aislado y purificado a partir especímenes de hisopado nasofaríngeo (NP), orofaríngeo (OP), nasal y de los cornetes nasales medios o de aspirado/lavado nasofaríngeo y de aspirado nasal, obtenidos de individuos con signos y síntomas de infección de las vías respiratorias o que cumplen con los criterios clínicos o epidemiológicos de la COVID-19. Los signos y síntomas clínicos de las infecciones respiratorias virales por SARS-CoV-2 e influenza pueden ser similares.

Los resultados están destinados a la identificación del RNA de SARS-CoV-2 e influenza A y B. Generalmente, el RNA de SARS-CoV-2 e influenza A y B es detectable en especímenes de las vías respiratorias superiores durante la fase aguda de la infección. Los resultados positivos indican la presencia de RNA de SARS-CoV-2 o influenza A o B; será necesaria la correlación clínica con el historial del paciente y otra información de diagnóstico para determinar el estado de infección del paciente. Los resultados positivos no descartan infecciones bacterianas ni co-infección con otros virus. El agente detectado podría no ser la causa definitiva de la enfermedad.

Los resultados negativos no descartan la presencia de infecciones por SARS-CoV-2 o influenza A o B y no deben utilizarse como criterio único para la toma de otras decisiones de control del paciente. Los resultados negativos deben combinarse con observaciones clínicas, el historial del paciente e información epidemiológica.

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

Resumen y explicación de la prueba

La influenza (flu) y la COVID-19 son enfermedades respiratorias contagiosas, pero las provocan virus diferentes. La causa de la COVID-19 es la infección por un nuevo coronavirus (denominado SARS-CoV-2) y la de la influenza, la infección por el virus de la influenza. Como algunos de los síntomas de la influenza y de la COVID-19 son similares, puede resultar difícil diferenciarlas únicamente en base a estos.¹

La influenza es una enfermedad respiratoria contagiosa provocada por el virus de la influenza. Puede provocar un nivel de afección medio a grave. Los casos graves de la infección por influenza pueden derivar en hospitalización o muerte. Algunas personas, como los pacientes de la tercera edad, niños o individuos con determinados estados de salud, presentan un alto riesgo de complicaciones graves por influenza. Existen dos tipos principales de virus de la influenza: el tipo A y el B. Los virus de la influenza A y B, que habitualmente circulan entre las personas (virus de la influenza humana), son los responsables de las epidemias de influenza estacionales que surgen cada año.²

Normalmente, los signos y síntomas de la influenza surgen de pronto. Las personas enfermas con influenza pueden experimentar fiebre o sensación de fiebre/escalofríos, tos, dolor de garganta, congestión o secreción nasal, dolores musculares o corporales, dolor de cabeza, fatiga y en ciertos individuos vómitos y diarrea, aunque esto último es más común en niños que en adultos.³

Los coronavirus conforman una amplia familia de virus que pueden causar enfermedades en animales o humanos. En humanos, se conocen varios coronavirus que provocan infecciones respiratorias que abarcan desde el resfriado común hasta enfermedades más graves como el Síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS) y el Síndrome respiratorio agudo (SARS). El coronavirus descubierto más recientemente, el SARS-CoV-2, provoca la enfermedad del coronavirus asociada COVID-19. Este nuevo virus y enfermedad eran desconocidos hasta que surgió el brote en Wuhan (China), en diciembre de 2019.³

Los enfermos de COVID-19 han notificado una amplia gama de síntomas, que abarcan desde síntomas leves a enfermedad grave. Los síntomas pueden aparecer entre 2-14 días tras la exposición al virus. Las personas con COVID-19 pueden presentar fiebre o escalofríos, tos, falta de aire o dificultar para respirar, fatiga, dolores musculares o corporales, dolor de cabeza, nueva pérdida del sentido del olfato o del gusto, dolor de garganta, congestión o secreción nasal, náuseas o vómito o diarrea.⁵

El virus que provoca la COVID-19 está infectando a las personas y propagándose fácilmente entre individuos. El 11 de marzo de 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasificó el brote de COVID-19 como pandemia.^{3,5}

Principios del procedimiento

El ensayo Aptima SARS-CoV-2/Flu combina las tecnologías de captura de seleccionada, amplificación mediada por transcripción en tiempo real (RT-TMA) y detección en tiempo real de amplicones que utilizan sondas marcadas fluorescentemente.

Los especímenes se recogen y transfieren a sus respectivos tubos de transporte. Las soluciones de transporte contenidas en estos tubos liberan los elementos de interés de RNA, lo que ofrece protección contra la degradación durante el almacenamiento. Al realizar el ensayo Aptima SARS-CoV-2/Flu en laboratorio en el Panther System, se añade un ácido nucleico de control interno (IC) a cada reacción de espécimen y el IC junto con las moléculas de RNA de interés, se aíslan de los especímenes mediante el uso de oligómeros de captura a través de captura seleccionada que utiliza micropartículas magnéticas. Los oligómeros de captura contienen secuencias complementarias para regiones específicas de las moléculas seleccionadas, así como una cadena de residuos de desoxiadenosina. Se utiliza un oligómero de captura distinto para cada elemento de interés. Durante el paso de hibridación, las regiones específicas de la secuencia de los oligómeros de captura se unen a regiones específicas de las moléculas de interés. El complejo oligómero de captura:objetivo se captura y se extrae posteriormente de la solución reduciendo la temperatura de la reacción hasta alcanzar la temperatura ambiente. Esta reducción de temperatura permite que se produzca la hibridación entre la región de la deoxiadenosina del oligómero de captura y las moléculas de polideoxitimidina que están unidas covalentemente a las partículas magnéticas. Las micropartículas, incluidas las moléculas de interés capturadas unidas a ellas, se desplazan al lado del tubo de reacción utilizando imanes y se aspira el sobrenadante. Las partículas se lavan para eliminar la matriz de especímenes residual que puede contener inhibidores de la reacción de amplificación. Una vez finalizados los pasos de captura seleccionada, los especímenes están listos para la amplificación.

Los ensayos de amplificación seleccionada se basan en la capacidad de los cebadores de oligonucleótidos complementarios para hibridar de forma específica y permitir la amplificación enzimática de las cadenas de ácido nucleico de interés y de IC. El ensayo Aptima SARS-CoV-2/Flu replica regiones específicas del RNA del SARS-CoV-2 y la influenza A y B a través de intermediarios de DNA. La detección se lleva a cabo utilizando unas sondas fluorescentes de ácidos nucleicos monocatenarios que están presentes durante la amplificación de los elementos de interés y que se hibridan específicamente con el amplicón a tiempo real. Cada sonda fluorescente tiene un fluoróforo y un inhibidor de fluorescencia. Cuando la sonda fluorescente no se hibrida con el amplicón, el inhibidor de fluorescencia se encuentra en estrecha proximidad con el fluoróforo y suprime la fluorescencia. Cuando la sonda fluorescente se une al amplicón, el inhibidor de fluorescencia se aleja aún más del fluoróforo y emite una señal con una longitud de onda específica cuando es excitado por una fuente luminosa. Mientras más se hibrida la sonda fluorescente con el amplicón, mayor es la señal fluorescente generada. Los fluoróforos asociados con los elementos de interés virales y los de IC emiten luz con diferentes longitudes de onda, permitiendo así distinguir estos elementos entre sí. Los fluorómetros cuantifican las señales fluorescentes generadas por la amplificación que utilizará el sistema para generar resultados cualitativos.

El ensayo Aptima SARS-CoV-2/Flu amplifica y detecta dos regiones conservadas del gen ORF1ab en la misma reacción para SARS-CoV-2, una región del gen matriz para influenza A y una región del gen matriz para influenza B. Para la detección, se notifican ambos elementos de interés del gen SARS-CoV-2 en el canal fluorescente FAM, el elemento de interés de influenza A se notifica en el canal fluorescente ROX y el elemento de interés de la influenza B se notifica en el canal fluorescente HEX para el Panther System. Las dos regiones de interés SARS-CoV-2 no están diferenciadas y la amplificación de una o ambas conduce a una señal RFU. Los resultados del ensayo para todos los intereses se determinan por medio de fluorescencia y valores de corte de emergencia.

Advertencias y precauciones

- A. Para uso diagnóstico *in vitro*. Lea detenidamente todo el prospecto y el *Manual del operador del Panther/Panther Fusion System*.
- B. Estos procedimientos debe realizarlos únicamente el personal con la formación adecuada en el uso de este ensayo y en la manipulación de material potencialmente infeccioso. Si se produce algún derrame, proceda inmediatamente a la desinfección siguiendo los procedimientos del centro correspondiente.
- C. Manipular y procesar todos los especímenes como si fueran infecciosos siguiendo las prácticas y procedimientos del laboratorio, que resultan básicos con arreglo a las buenas prácticas y procedimientos microbiológicos (GMPP). Consultar las directrices sobre bioseguridad en entornos de laboratorios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) con respecto a la enfermedad del coronavirus (COVID-19): directrices provisionales. [https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-(covid-19)).
- D. Los especímenes pueden resultar infecciosos. Respete las precauciones universales al realizar este ensayo. El director del laboratorio debe establecer métodos de manipulación y eliminación adecuados. Solo se debe permitir la realización de este procedimiento de diagnóstico al personal con la formación necesaria en manipulación de materiales infecciosos.⁶

- E. Ante la sospecha de infección con SARS-CoV-2, influenza A o influenza B en base a los criterios clínicos aplicables actualmente y recomendados por las autoridades sanitarias, los especímenes deben recogerse adoptando las precauciones adecuadas de control de infecciones.
- F. Utilice únicamente el instrumental de laboratorio desechable suministrado o especificado.
- G. Todo el personal del laboratorio encargado de recoger y gestionar especímenes de individuos sospechosos de infección con SARS-CoV-2, influenza A o influenza B, debe utilizar el equipo de protección personal (EPP) correspondiente establecido en una evaluación de riesgos detallada, siguiendo las indicaciones de las directrices de bioseguridad en entornos de laboratorios de la OMS con respecto a la enfermedad del coronavirus (COVID-19): directrices provisionales.
- H. Utilice guantes desechables sin polvo, gafas protectoras y batas de laboratorio al manipular especímenes y reactivos. Lávese las manos cuidadosamente tras manipular especímenes y reactivos.
- I. Deseche todo el material que haya entrado en contacto con los especímenes y reactivos siguiendo las normas regionales, nacionales e internacionales vigentes.
- J. Las fechas de caducidad que figuran en los tubos de lisado de muestras Panther Fusion, los tubos de lisado de muestras Hologic, el kit de recolección multitest Aptima, el kit de recolección de muestras de hisopado unisex Aptima y el kit de recolección con tapón de captura de carga directa Hologic se refieren a la transferencia de la muestra al tubo y no al análisis de la muestra. Los especímenes recogidos/transferidos en cualquier momento antes de estas fechas de caducidad son válidos para el análisis siempre que se hayan transportado y almacenado de acuerdo con el prospecto, incluso si las fechas de caducidad indicadas en el tubo de transferencia han vencido.
- K. Mantenga las condiciones de almacenamiento apropiadas durante el envío de especímenes para garantizar la integridad de los mismos. No se ha evaluado la estabilidad de los especímenes en condiciones de envío distintas a las recomendadas.
- L. Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de especímenes. Los especímenes pueden contener concentraciones extremadamente altas de virus u otros microorganismos. Asegúrese de que los recipientes de especímenes no entren en contacto entre sí, y deseche los materiales usados sin hacerlos pasar sobre los recipientes abiertos. Cambie los guantes si entran en contacto con los especímenes.
- M. No utilice los reactivos ni los controles tras su fecha de vencimiento.
- N. Guarde los componentes del ensayo bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas. Consulte *Requisitos de manipulación y almacenamiento de reactivos* (página 6) y *Procedimiento de prueba del Panther System* (página 15) para obtener más información.
- O. No derrame los reactivos ni los fluidos del ensayo. No rellene los reactivos ni los fluidos; el Panther System verifica los niveles de reactivo.
- P. Evite la contaminación microbiana y por ribonucleasa de los reactivos.

Q. No utilice materiales que puedan contener tiocianato de guanidío ni ningún otro material que contenga guanidina en el instrumento. Pueden formarse compuestos elevadamente reactivos y/o tóxicos si se combinan con hipoclorito de sodio.

R. Algunos reactivos de este kit están etiquetados con símbolos de riesgo y seguridad.

Nota: La información de comunicación de riesgos refleja las clasificaciones de las Fichas de datos de seguridad (SDS) de la UE. Para obtener información concreta sobre la comunicación de riesgos en su región, consulte sus SDS específicas en la Biblioteca de Hojas de datos de seguridad en www.hologicds.com.

Reactivo de captura seleccionada

ÁCIDO ETILENDIAMINOTETRACÉTICO 1-5 %

LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE AL 1-5 %

H412: nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos

P273: evitar su liberación al medio ambiente

P280: llevar gafas/máscara de protección

Reactivo promotor

CLORURO DE MAGNESIO AL 35-40 %

H412: nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos

P273: evitar su liberación al medio ambiente

P280: llevar gafas/máscara de protección

Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos

A. Los siguientes reactivos permanecen estables cuando se almacenan entre 2 °C y 8 °C (refrigerados):

Reactivo de amplificación Aptima SARS-CoV-2/Flu

Reactivo enzimático Aptima SARS-CoV-2/Flu

Reactivo promotor Aptima SARS-CoV-2/Flu

Control interno Aptima SARS-CoV-2/Flu

Control positivo Aptima SARS-CoV-2/Flu

Control negativo Aptima SARS-CoV-2/Flu

B. Los siguientes reactivos permanecen estables cuando se almacenan entre 2 °C y 30 °C:

Solución de reconstitución de amplificación Aptima SARS-CoV-2/Flu

Solución de reconstitución enzimática Aptima SARS-CoV-2/Flu

Solución de reconstitución de promotor Aptima SARS-CoV-2/Flu

C. Los siguientes reactivos permanecen estables cuando se almacenan entre 15 °C y 30 °C (temperatura ambiente):

Reactivo de captura Aptima SARS-CoV-2/Flu

Solución de lavado Aptima

Tampón para fluido de desactivación Aptima

Reactivo de aceite Aptima

- D. El reactivo de captura seleccionada de trabajo (wTCR) permanece estable durante 30 días cuando se almacena entre 15 °C y 30 °C. No refrigerar.
- E. Después de la reconstitución, el reactivo enzimático, el reactivo de amplificación y el reactivo promotor permanecen estables durante 30 días cuando se almacenan a una temperatura entre 2 °C y 8 °C.
- F. Deseche los reactivos reconstituidos y el wTCR sin usar después de 30 días o una vez superada la fecha de caducidad del lote maestro, lo que suceda primero.
- G. Los controles son estables hasta la fecha indicada en los viales.
- H. Los reactivos almacenados en el Panther System tienen 72 horas de estabilidad en el instrumento.
- I. Tanto el reactivo promotor como el reactivo promotor reconstituido son fotosensibles. Almacene los reactivos protegidos de la luz. La estabilidad reconstituida especificada se basa en 12 horas de exposición del reactivo promotor reconstituido a dos bombillas fluorescentes de 60 W, a una distancia de 43 cm (17 pulg.) y a una temperatura inferior a 30 °C. La exposición a la luz del reactivo promotor reconstituido debe limitarse consecuentemente.
- J. Una vez calentados a temperatura ambiente, algunos tubos de controles pueden aparecer turbios o contener precipitados. La turbiedad o la precipitación asociadas a los controles no afectan al rendimiento del control. Los controles se pueden utilizar aunque estén claros o turbios/precipitados. Si se desean controles claros, se puede acelerar la solubilización incubándolos en el extremo superior del rango de temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C).
- K. No congele los reactivos.**

Recogida y almacenamiento de especímenes

Especímenes: material clínico recogido del paciente y colocado en un sistema de transporte adecuado. Para el ensayo Aptima SARS-CoV-2/Flu, esto incluye especímenes de hisopado nasofaríngeo (NP), orofaríngeo (OP), nasal y cornetes nasales medios o recogida de especímenes de aspirado/lavado nasofaríngeo y aspirado nasal obtenidos en un medio de transporte viral (VTM/UTM), salino, Amies líquido o medio de transporte de espécimen (STM).

Muestras: representan un término más genérico para describir cualquier material para analizar en el Panther System, incluidos los especímenes, los especímenes transferidos a un tubo de lisado de muestras Panther Fusion, un tubo de lisado de muestras Hologic con tapón sólido, un tubo de lisado de muestras personalizado, un tubo de transporte multitest Aptima o un tubo con tapón de captura de carga directa Hologic y los controles.

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

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

Recogida de especímenes con torundas

Recoja los especímenes de hisopado nasofaríngeo (NP), orofaríngeo (OP), nasal y de los cornetes nasales medios según la técnica estándar con una torunda con punta de poliéster, rayón o nylon. Coloque inmediatamente el espécimen de hisopado en 3 mL de VTM o UTM.

Alternativamente, los especímenes de hisopado pueden añadirse a salino, Amies líquido o STM. Puede utilizarse el kit de recolección de muestras de hisopado Aptima Multitest para la recogida de muestras de hisopado orofaríngeo (OP), nasal y de los cornetes nasales medios. El kit de recolección con tapón de captura de carga directa Hologic - CLASSIQSwab está indicado para la recogida de muestras de hisopado OP y nasal. El kit de recolección con tapón de captura de carga directa Hologic - FLOQSwab está indicado para la recogida de muestras de hisopado NP y del cornete medio.

Tras la recogida, los especímenes recogidos en VTM/UTM, Amies líquido o salino pueden almacenarse a entre 2 °C y 8 °C hasta 96 horas antes de transferirse a tubos de lisado de especímenes (es decir, a tubos de lisado de especímenes Panther Fusion, a tubos de lisado de especímenes Hologic con tapa sólida o a tubos de lisado de especímenes personalizados) como describe la sección de procesamiento de especímenes expuesta a continuación. Los volúmenes restantes de espécimen en VTM/UTM, Amies líquido o salino pueden almacenarse a ≤ -70 °C.

Tras la recogida, los especímenes en el tubo multitest Aptima y el tubo con tapón de captura de carga directa Hologic pueden almacenarse a una temperatura de entre 2 °C y 30 °C hasta 6 días.

Nota: Se recomienda almacenar los especímenes recogidos en el tubo multitest Aptima y el tubo con tapón de captura de carga directa Hologic tapados y en posición vertical en una gradilla.

Pueden utilizarse los siguientes tipos de VTM/UTM:

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

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

Recogida de especímenes de aspirado/lavado nasofaríngeo y aspirado nasal

Recoja los especímenes de aspirado/lavado nasofaríngeo y aspirado nasal según las técnicas estándar.

Procesamiento de especímenes

Flujo de trabajo tapado utilizando el software del ensayo Aptima SARS-CoV-2/Flu

Procesamiento de especímenes con el tubo de lisado de muestras Panther Fusion

- A. Antes de proceder con el análisis en el Panther System, transfiera 500 μ L del espécimen recogido* a un tubo de lisado de muestras Panther Fusion.

***Nota:** al analizar un espécimen congelado, permita que alcance la temperatura ambiente de la estancia antes del procesamiento.

Procesamiento de especímenes recogidos con el kit de recolección Aptima Multitest

- A. Tras colocar el espécimen recogido* en el tubo Aptima Multitest empleando el kit de recogida Aptima Multitest, no se requiere procesamiento adicional.

**Nota: al analizar un espécimen congelado, permita que alcance la temperatura ambiente de la estancia antes del procesamiento.*

Flujo de trabajo destapado utilizando el software del ensayo Aptima SARS-CoV-2/Flu con tubos sin tapar**Procesamiento de especímenes con el tubo de lisado de muestras Panther Fusion**

- A. Destape el tubo de lisado de muestras Panther Fusion con tapón perforable. El tapón perforable puede conservarse o puede utilizarse uno sólido de repuesto en el siguiente paso.
- B. Antes de proceder con el análisis en el Panther System, transfiera 500 µL del espécimen a un tubo de lisado de muestras Panther Fusion, con tapón perforable o con tapón sólido de repuesto.
- C. Recomendamos volver a tapar el tubo e invertir suavemente tres veces para garantizar la inactivación viral y la obtención de una muestra homogénea.
- D. Para evitar el contacto con la parte superior del tubo, afloje el tapón y coloque el tubo de muestras en la gradilla de muestras.
- E. Retire y deseche el tapón. Para evitar la contaminación, no pase el tapón sobre ninguna otra gradilla ni tubo de muestras. Inspeccione el tubo de muestras. Si presenta burbujas, retírelas con cuidado del tubo de muestras (utilizando la punta de una torunda estéril o método similar, por ejemplo)

Nota: La presencia de burbujas puede repercutir en el procesamiento del ensayo y provocar resultados no válidos.

- F. Coloque el retenedor de gradillas sobre la gradilla de muestras y cargue la gradilla en el instrumento.

Procesamiento de especímenes utilizando el tubo de lisado de muestras Hologic con tapón sólido

- A. Destape del tubo de lisado de muestras Hologic con tapón sólido y conserve el tapón.
- B. Antes de proceder con el análisis en el Panther System, transfiera 500 µL del espécimen al tubo de lisado especímenes Hologic con tapón sólido.
- C. Recomendamos volver a tapar el tubo e invertir suavemente tres veces para garantizar la inactivación viral y la obtención de una muestra homogénea.
- D. Para evitar el contacto con la parte superior del tubo, afloje el tapón y coloque el tubo de muestras en la gradilla de muestras.
- E. Retire y deseche el tapón. Para evitar la contaminación, no pase el tapón sobre ninguna otra gradilla ni tubo de muestras. Inspeccione el tubo de muestras. Si presenta burbujas, retírelas con cuidado del tubo de muestras (utilizando la punta de una torunda estéril o método similar, por ejemplo)

Nota: La presencia de burbujas puede repercutir en el procesamiento del ensayo y provocar resultados no válidos.

- F. Coloque el retenedor de gradillas sobre la gradilla de muestras y cargue la gradilla en el instrumento.

Procesamiento de especímenes recogidos con el kit de recolección con tapón de captura de carga directa Hologic - CLASSIQSwabs y el kit de recolección con tapón de captura de carga directa Hologic - FLOQSwabs

- A. Tras colocar el espécimen* recogido en el tubo con tapón de captura de carga directa Hologic, no se requiere procesamiento adicional.

***Nota:** Permita que los especímenes alcancen la temperatura ambiente antes del procesamiento.

- B. Para evitar el contacto con la parte superior del tubo, afloje el tapón y coloque el tubo de muestras en la gradilla de muestras.
- C. Quite y deseche el tapón y la torunda. Para evitar la contaminación, no pase el tapón sobre otras gradillas de muestras o tubos de muestras. Inspeccione el tubo de muestras. Si presenta burbujas, elimínelas con cuidado del tubo de muestras (por ejemplo, utilizando la punta de una torunda estéril o mediante un método similar).

Nota: Si el tapón no ha capturado la torunda, vuelva a tapar el tubo para garantizar que la torunda se capture y se retire del tubo. Los tubos con tapón de captura de carga directa que contienen una torunda no se deben cargar en el Panther System.

Nota: Si no se eliminan las burbujas, el procesamiento del ensayo podría verse afectado y generar resultados no válidos.

- D. Coloque el retenedor de gradillas sobre la gradilla de muestras y cargue la gradilla en el instrumento.

Procesamiento de especímenes empleando un tubo de lisado de muestras personalizado

- A. Utilizar un tubo genérico estéril o no estéril (sin usar) de plástico de polipropileno o material similar, con un diámetro exterior entre 12 y 13 mm y un peso de entre 75 mm y 100 mm, alicuota 0,78 mL ± 0,07 mL de STM de carga, en un tubo utilizando una pipeta o un pipeteador de repetición.

Nota: Este paso debe realizarse en una zona en la que NO se procesen especímenes de SARS-CoV-2, influenza A e influenza B.

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

Nota: Cuando el tubo de lisado de muestras personalizado lleno se guarda cerrado, si no se introdujeron contaminantes durante el llenado del tubo de lisado de muestras personalizado, el STM debe ser estable hasta su fecha de caducidad.

Nota: El uso de tubos no estériles (sin utilizar) podría suponer un mayor riesgo de contaminación.

- B. Retire el tapón del tubo de lisado de muestras personalizado que contiene el STM y consérvelo.

- C. Antes de proceder con el análisis en el Panther System, transfiera 500 µL del espécimen al tubo de lisado de muestras personalizado que contiene el STM.
- D. Recomendamos volver a tapar el tubo de muestras e invertir suavemente tres veces para garantizar la inactivación viral y la obtención de una muestra homogénea.
- E. Para evitar el contacto con la parte superior del tubo, afloje el tapón y coloque el tubo de muestras en la gradilla de muestras.
- F. Retire y deseche el tapón. Para evitar la contaminación, no pase el tapón sobre ninguna otra gradilla ni tubo de muestras. Inspeccione el tubo de muestras. Si presenta burbujas, retírelas con cuidado del tubo (utilizando la punta de una torunda estéril o método similar, por ejemplo)

Nota: La presencia de burbujas puede repercutir en el procesamiento del ensayo y provocar resultados no válidos.

- G. Coloque el retenedor de gradillas sobre la gradilla de muestras y cargue la gradilla en el instrumento.

Procesamiento de especímenes recogidos con el kit de recolección Aptima Multitest

- A. Obtenga y siga las instrucciones para el tubo de lisado de muestras Panther Fusion (Paso A), tubo de lisado de muestras Hologic (Paso A) o tubo de lisado de muestras personalizado (Paso A-B).
- B. Antes del análisis en el Panther System, transfiera 500 µL del espécimen recogido del tubo Aptima Multitest al tubo de lisado de muestras Panther Fusion, tubo de lisado de muestras Hologic o tubo de lisado de muestras personalizado, como se describe en las secciones de procesamiento expuestas anteriormente.

Almacenamiento de muestras

- A. Las muestras incluidas en el Panther System pueden guardarse para la realización de análisis adicionales con posterioridad.
- B. Almacenamiento de muestras antes o después el análisis
 1. Las muestras en el tubo multitest Aptima, el tubo de lisado de muestras Panther Fusion, el tubo de lisado de muestras Hologic, un tubo de lisado de muestras personalizado o el tubo con tapón de captura de carga directa Hologic deben almacenarse en posición vertical en la gradilla, bajo las siguientes condiciones:
 - entre 2 °C y 30 °C, hasta 6 días
 2. Para flujos de trabajo tapados y destapados, las muestras deben cubrirse con una película nueva de plástico transparente o barrera de papel de aluminio.
 3. Si las muestras sometidas a ensayo deben congelarse o enviarse:
 - Flujos de trabajo tapados

Retire los tapones perforables y coloque tapones no perforables nuevos en los tubos de especímenes. Si es necesario enviar las muestras para su análisis a otro laboratorio, se deben mantener las temperaturas recomendadas. Antes de destaparlos, es necesario centrifugar los tubos de transporte de muestras durante 5 minutos a una fuerza centrífuga relativa (RCF) de 420 para llevar todo el líquido al fondo del tubo. Evite salpicaduras y todo tipo de contaminación cruzada.

- Flujos de trabajo destapados

Si fuera preciso enviar muestras para su análisis a otro centro, coloque un nuevo tapón sólido en el tubo de lisado de muestras; deben mantenerse las temperaturas recomendadas. Antes de destaparlos, es necesario centrifugar los tubos de transporte de muestras durante 5 minutos a una fuerza centrífuga relativa (RCF) de 420 para llevar todo el líquido al fondo del tubo. Evite salpicaduras y todo tipo de contaminación cruzada.

Nota: Los tapones y cierres de tubos de repuesto no deben utilizarse para tapar tubos durante los procesos de centrifugado, congelación o envío.

Transporte de especímenes

Mantenga las condiciones de almacenamiento de los especímenes tal como se describe en la sección *Almacenamiento y recogida de especímenes en la página 7*.

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

Panther System

A continuación, se indican los reactivos de ensayo Aptima SARS-CoV-2/Flu para el uso con el Panther System. Los símbolos de identificación de los reactivos también se indican junto al nombre del reactivo.

Reactivos y materiales suministrados

Kit de ensayo Aptima SARS-CoV-2/Flu PRD-06815

250 pruebas (2 cajas)

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

Símbolo	Componente	Cantidad Kit de 250 pruebas
A	Reactivo de amplificación Aptima SARS-CoV-2/Flu <i>Ácidos nucleicos no infecciosos desecados en solución de tampón.</i>	1 vial
E	Reactivo enzimático Aptima SARS-CoV-2/Flu <i>Transcriptasa inversa y ARN polimerasa desecadas en solución de tampón HEPES.</i>	1 vial
PRO	Reactivo promotor Aptima SARS-CoV-2/Flu <i>Ácidos nucleicos no infecciosos desecados en solución de tampón.</i>	1 vial
IC	Control interno Aptima SARS-CoV-2/Flu <i>Ácidos nucleicos RNA no infecciosos en solución de tampón.</i>	1 vial

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

Símbolo	Componente	Cantidad Kit de 250 pruebas
AR	Solución de reconstitución de amplificación Aptima SARS-CoV-2/Flu <i>Solución acuosa con conservantes.</i>	1 × 27,7 mL
ER	Solución de reconstitución enzimática Aptima SARS-CoV-2/Flu <i>Solución de tampón HEPES con un surfactante y glicerol.</i>	1 × 11,1 mL
PROR	Solución de reconstitución de promotor Aptima SARS-CoV-2/Flu <i>Solución acuosa con conservantes.</i>	1 × 35,4 mL
TCR	Reactivo de captura Aptima SARS-CoV-2/Flu <i>Solución de tampón salino con ácidos nucleicos y fase sólida.</i>	1 × 54 mL
	Collares de reconstitución	3
	Hoja de códigos de barras de lote maestro	1 hoja

Material necesario y disponible por separado

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

	<u>N.º cat.</u>
Panther System	303095
Kit de fluidos del Aptima Assay <i>(Solución de lavado Aptima, tampón para fluido de desactivación Aptima y reactivo de aceite Aptima)</i>	303014 (1000 pruebas)
Unidades multitubo (MTU)	104772-02
Kit de bolsas de desechos Panther	902731
Tapa del recipiente de desechos Panther	504405
O kit de ciclo del Panther <i>contiene MTU, bolsas para desechos, tapas del recipiente de desechos, fluidos del ensayo y reactivos Auto Detect</i>	303096 (5000 pruebas)
Puntas conductoras de 1000 µL, detectoras de líquido	10612513 (Tecan)
Kit de controles Aptima SARS-CoV-2/Flu <i>PC: control positivo Aptima SARS-CoV-2/Flu Ácido nucleico no infeccioso en una solución de tampón con un contenido de detergente <5 %. Cantidad 5 × 1,7 mL</i> <i>NC: control negativo Aptima SARS-CoV-2/Flu. Solución de tampón con <5 % de detergente. Cantidad 5 × 1,7 mL</i>	PRD-06816
Kit de recolección de especímenes de hisopado Aptima Multitest	PRD-03546
Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit - CLASSIQSwabs	PRD-06951
Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit - FLOQSwabs	PRD-06952
Kit de recolección de muestras de hisopado unisex Aptima para muestras de hisopado endocervical y muestras de hisopado uretral masculino	301041
Tubos de lisado de especímenes Panther Fusion, 100 por bolsa <i>el tubo contiene 0,71 mL de STM con un tapón perforable</i>	PRD-04339
Tubos de lisado de especímenes Hologic, 100 por unidad <i>el tubo contiene 0,71 mL de STM con un tapón sólido (para flujo de trabajo destapado)</i>	PRD-06554
Tubos de lisado de especímenes Hologic, 1200 por unidad <i>el tubo contiene 0,71 mL de STM con un tapón sólido (para flujo de trabajo destapado)</i>	PRD-06660
Tapón sólido Hologic para uso con PRD-06554*, 100 tapones por bolsa <i>*una cubierta de uso único para tubos de lisado de especímenes Hologic (solo PRD-06554) después del análisis, como parte del flujo de trabajo destapado</i>	PRD-06744

	<u>N.º cat.</u>
Tapón sólido Hologic para uso con PRD-06660*, 1000 tapones por bolsa <i>*una cubierta de uso único para tubos de lisado de especímenes Hologic (solo PRD-06660) después del análisis, como parte del flujo de trabajo destapado</i>	PRD-06723
Tapón sólido Hologic para el uso con PRD-06951* y PRD-06952*, 100 tapones por bolsa <i>* Una cubierta de un solo uso para los tubos con tapón de captura de carga directa (PRD-06951 y PRD-06952) después del análisis como parte del flujo de trabajo sin tapón</i>	PRD-07028
Medio de transporte de espécimen, 1 frasco, 80 mL (para flujo de trabajo destapado)	PRD-04423
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5 al 7 % (0,7 M a 1,0 M)	—
Guantes desechables	—
Cierres de tubo Fisherbrand VersaClosure*, 1000 por paquete <i>*una cubierta de tubo de uso único para tubos de lisado de especímenes Hologic (solo PRD-06554) después del análisis, como parte del flujo de trabajo destapado</i>	02-707
Tapones de repuesto para los kits de 250 pruebas <i>Soluciones de reconstitución de los reactivos de amplificación y promotor</i>	—
	<i>CL0041 (100 tapones)</i>
<i>Solución de reconstitución de reactivo enzimático</i>	<i>501616 (100 tapones)</i>
<i>Reactivo TCR</i>	<i>CL0040 (100 tapones)</i>

Materiales opcionales

	<u>N.º cat.</u>
Potenciador de lejía Hologic para limpieza <i>para la limpieza sistemática de las superficies y el equipo</i>	302101
Tubo de muestras genérico (para tubo de lisado de muestras personalizado) <i>Tamaño: De 12 x 75 mm a 13 x 100 mm (incluyendo 12 x 100 mm, 13 x 75 mm y 13 x 82 mm)</i> <i>Material: Plástico de polipropileno o material similar</i> <i>No estéril (sin utilizar) o estéril</i> <i>Redondo, de base plana o cónico (con falda cónica)</i>	—
Balancín para tubos	—

Procedimiento de prueba del Panther System

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

A. Preparación del área de trabajo

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

B. Reconstitución y preparación de reactivos de un nuevo kit

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

1. Para reconstituir los reactivos de amplificación, enzimático y promotor, combine los frascos de reactivo liofilizado con la solución de reconstitución. Si están refrigeradas, deje 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 existe correspondencia de colores en las etiquetas de la solución de reconstitución y del reactivo antes de conectar el collar de reconstitución.
 - b. Compruebe los números de lote en la Hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que estén emparejados los reactivos adecuados.
 - c. Abra el vial del reactivo liofilizado e inserte con firmeza el extremo ranurado de la anilla de reconstitución en la abertura del vial (Figura 1, paso 1).
 - d. Abra la solución de reconstitución correspondiente y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.
 - e. Mientras sostiene el frasco con la solución de reconstitución sobre la mesa, inserte firmemente el otro extremo de la anilla de reconstitución en la abertura del frasco (Figura 1, paso 2).
 - f. Invierta lentamente el conjunto de los frascos. Deje que la solución pase del frasco al vial de vidrio (Figura 1, paso 3).
 - g. Agite para mezclar bien la solución en el vial de vidrio (Figura 1, paso 4).
 - h. Espere a que el reactivo liofilizado pase a la solución y, a continuación, invierta de nuevo el conjunto de los frascos, inclinándolo a un ángulo de 45° para reducir al mínimo la formación de espuma (Figura 1, paso 5). Deje que todo el líquido regrese a la botella de plástico.
 - i. Retire la anilla de reconstitución y el vial de vidrio (Figura 1, paso 6).
 - j. Tape la botella de plástico. Registre las iniciales del usuario y la fecha de reconstitución en la etiqueta (Figura 1, paso 7).
 - k. Deseche la anilla de reconstitución y el vial de cristal (Figura 1, paso 8).

Opción: Se admite el mezclado adicional de los reactivos de amplificación, enzimático y promotor utilizando un balancín para tubos. Los reactivos pueden mezclarse disponiendo la botella de plástico que se ha vuelto a tapar en un balancín para tubos ajustado en 20 RPM (o equivalente) durante un mínimo de 5 minutos.

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

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

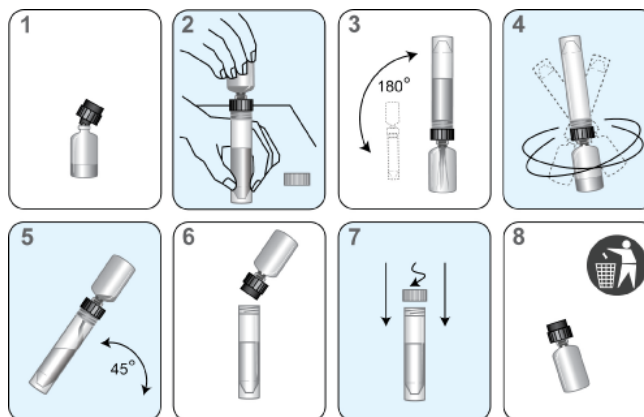


Figura 1. Proceso de reconstitución del Panther System

2. Prepare el reactivo de captura seleccionada de trabajo (wTCR)
 - a. Empareje los frascos apropiados de TCR y IC.
 - b. Compruebe los números de lote de los reactivos en la Hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que estén emparejados los reactivos adecuados en el kit.
 - c. Abra el frasco de TCR y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.
 - d. Abra el frasco de control interno (IC) y vierta todo su contenido en el frasco de TCR. Es normal que quede una pequeña cantidad de líquido en el frasco de IC.
 - e. Tape el frasco de TCR y agite con una rotación suave la solución para mezclar el contenido. Evite que se forme espuma durante este paso.
 - f. Anote las iniciales del usuario y la fecha actual en la etiqueta.
 - g. Deseche el frasco de IC y el tapón.

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

C. Preparación de reactivos reconstituidos previamente

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

Opción: Los reactivos pueden aclimatarse disponiendo los reactivos de amplificación, enzimático y promotor reconstruidos en un balancín para tubos ajustado en 20 RPM (o equivalente) durante un mínimo de 25 minutos.

2. Si el reactivo promotor reconstituido contiene precipitado que no se disuelve a temperatura ambiente, caliente el frasco tapado a una temperatura que no supere los 62 °C entre 1 y 2 minutos. Tras este paso de calentamiento, el reactivo promotor se puede utilizar aunque

queden residuos del precipitado. Mezcle el reactivo promotor por inversión, evitando que se forme espuma, antes de cargarlo en el sistema.

3. Mezcle bien cada reactivo mediante inversión suave antes de cargarlo en el sistema. Evite la formación de espuma durante la inversión de los reactivos. Este paso puede omitirse si los reactivos se cargan en el sistema directamente tras realizar la mezcla en el balancín para tubos.
4. No rellene los frascos de reactivo. El Panther System reconocerá y rechazará las botellas que se hayan rellenado.
5. *Es necesario que la mezcla de los reactivos sea adecuada para conseguir los resultados del ensayo previstos.*

D. Manipulación de especímenes con el tubo de lisado de muestras Panther Fusion

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

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

Nota: *En el caso de muestras transferidas al tubo de lisado de muestras Panther Fusion, para evitar un error de procesamiento, asegúrese de añadir el volumen de espécimen adecuado al tubo. Cuando se añade al tubo el espécimen recogido adecuado, hay volumen suficiente para realizar 3 extracciones de ácido nucleico.*

E. Manipulación de especímenes empleando tubo de lisado de muestras Hologic con tapón sólido o tubo de lisado de muestras personalizado

1. Prepare los especímenes siguiendo las instrucciones de procesamiento de especímenes indicadas en la sección *Recogida y almacenamiento de especímenes*.

Nota: *En el caso de muestras transferidas al tubo de lisado de muestras Hologic con tapón sólido o a un tubo de lisado de muestras personalizado, para evitar un error de procesamiento, asegúrese de añadir el volumen de espécimen adecuado al tubo. Cuando se añade al tubo el espécimen recogido adecuado, hay volumen suficiente para realizar 2 extracciones de ácido nucleico.*

Nota: *Al utilizar el software del ensayo Aptima SARS-CoV-2/Flu con tubo sin tapar, retire el tapón del control positivo y negativo antes de cargar en el Panther System.*

F. Preparación del sistema

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

Notas del procedimiento

A. Controles

1. Para trabajar correctamente con el software Aptima Assay para el Panther System, se requieren un par de controles. Los controles positivo y negativo Aptima SARS-CoV-2/Flu pueden cargarse en cualquier posición de la gradilla o en cualquier carril del

compartimento de muestras en el Panther System. El pipeteado del espécimen del paciente comenzará cuando se cumpla una de las dos siguientes condiciones:

- a. El sistema está procesando actualmente un par de controles.
 - b. Existen resultados válidos para controles registrados en el sistema.
2. Una vez que los tubos de controles se hayan pipeteado y se estén procesando para un kit de reactivos específico, los especímenes del paciente pueden analizarse con el kit asociado hasta 24 horas a menos que:
 - a. Los resultados de los controles no sean válidos.
 - b. Se retire del sistema el kit de reactivos de ensayo asociado.
 - c. El kit de reactivos de ensayo asociado haya excedido los límites de estabilidad.
 3. Cada tubo de control Aptima se puede analizar una vez. Los intentos de pipetear más de una vez del tubo pueden dar lugar a errores de procesamiento.
 4. El pipeteado del espécimen del paciente comienza al cumplirse una de las dos siguientes condiciones:
 - a. Existen resultados válidos para controles registrados en el sistema.
 - b. El sistema está procesando actualmente un par de controles.

B. Temperatura

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

C. Polvo de guantes

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

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

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

Para supervisar la contaminación del laboratorio, se puede realizar el siguiente procedimiento usando el kit de recogida de especímenes de hisopado unisex Aptima para especímenes de hisopado endocervical y uretral masculino:

1. Etiquete los tubos de transporte de la torunda con los números correspondientes a las áreas que se van a analizar.
2. Retire la torunda de recogida de especímenes (torunda con vástago azul) de su embalaje, humedezca la torunda en el medio de transporte de espécimen (STM) y aplique la torunda en el área designada ejerciendo un movimiento circular.
3. Inserte inmediatamente la torunda en el tubo de transporte.
4. Quieb্রে con cuidado el bastoncillo de la torunda por la línea marcada; tenga cuidado de que el contenido no salpique.
5. Vuelva a tapar bien el tubo de transporte de la torunda.
6. Repita los pasos 2 a 5 para cada una de las áreas de hisopado.

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

Control de calidad

El Panther System puede invalidar el resultado de un espécimen o un ciclo si se producen problemas durante la realización del ensayo. Los especímenes con resultados no válidos deben analizarse de nuevo.

Controles negativo y positivo

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

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

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

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

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

Control interno

Se añade un control interno a cada muestra con el wTCR. Durante el procesamiento, el software del Panther System verifica automáticamente los criterios de validación del control interno. La detección del control interno no es necesaria para las muestras que son positivas para SARS-CoV-2 o influenza. El control interno debe detectarse en todas las muestras que sean negativas para los intereses de SARS-CoV-2 e influenza; las muestras que no cumplan esos criterios se notificarán como no válidas. Deberá repetirse la prueba en todas las muestras con un resultado no válido.

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

Interpretación de resultados

El Panther System determina automáticamente los resultados de la prueba para muestras y controles. Un resultado de prueba puede ser Negativo, Positivo, No hay prueba o No válido.

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

Tabla 1: Interpretación de resultados de Aptima SARS-CoV-2/Flu

Resultado de SARS-CoV-2	Resultado de influenza A	Resultado de influenza B	Resultado del CI	Interpretación
Negativo	Negativo	Negativo	Válido	SARS-CoV-2, influenza A e influenza B no detectados.
Positivo	Negativo	Negativo	Válido	SARS-CoV-2 detectado. Influenza A e influenza B no detectadas.
Negativo	Positivo	Negativo	Válido	Influenza A detectada. SARS-CoV-2 e influenza B no detectados.
Negativo	Negativo	Positivo	Válido	Influenza B detectada. SARS-CoV-2 e influenza A no detectados.
Positivo	Positivo	Negativo	Válido	SARS-CoV-2 e influenza A detectados. Influenza B no detectada.
Negativo	Positivo	Positivo	Válido	Influenza A e influenza B detectadas. SARS-CoV-2 no detectado.
Positivo	Negativo	Positivo	Válido	SARS-CoV-2 e influenza B detectados. Influenza A no detectada.
Positivo	Positivo	Positivo	Válido	SARS-CoV-2, influenza A e influenza B detectados.
No válido	No válido	No válido	No válido	No válido. Se ha producido un error en la generación del resultado; volver a analizar la muestra.

Nota: un resultado positivo irá acompañado de valores de TiempoT.

Nota: la detección del IC no es necesaria para muestras positivas para SARS-CoV-2, influenza A o influenza B.

Nota: los usuarios solo pueden ocultar los resultados de influenza A o influenza B, pero no de los de SARS-CoV-2. El resultado se muestra como No hay prueba si el analito está oculto en el software.

Nota: si se observa un resultado no válido debido a un error de procesamiento del ensayo (indicador de p) con una muestra recogida directamente en medio de transporte de especímenes, considerar agitar la muestra con mezclador vórtex durante 5 minutos como mínimo antes de repetir la prueba.

Limitaciones

- A. El uso de este ensayo está limitado al personal con la formación debida en el procedimiento. El incumplimiento de estas instrucciones puede generar resultados erróneos.
- B. La obtención de resultados fiables depende de la adecuación de la recogida, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento de los especímenes.

- C. Evite la contaminación siguiendo las prácticas adecuadas de laboratorio y los procedimientos especificados en este prospecto.
- D. Los resultados negativos no descartan la presencia de infecciones por SARS-CoV-2 y no deben utilizarse como criterio único para el tratamiento o la toma de otras decisiones de control del paciente.
- E. Un resultado positivo indica la detección de ácido nucleico del virus correspondiente. El ácido nucleico puede persistir aún después de que el virus ya no sea viable.

Rendimiento del ensayo Panther SARS-CoV-2/Flu

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica (límite de detección o LDD) del ensayo Aptima SARS-CoV-2/Flu se determinó analizando diluciones en serie de especímenes de VTM/UTM de hisopados nasofaríngeos clínicos negativos de mezcla enriquecidos con los siguientes cultivos de virus: 1 cepa de SARS-CoV-2, 2 cepas de influenza A y 2 cepas de influenza B. Diez réplicas de cada dilución para cada cepa al evaluar utilizando cada uno de los dos lotes de reactivos de ensayo. La sensibilidad analítica (LDD) se define como la concentración más baja a la que el ≥ 95 % de todas las réplicas resultaron positivas, tal como se resume en la Tabla 2. Cada LDD específica de interés se confirmó analizando 20 réplicas adicionales en matriz de VTM/UTM de hisopado nasofaríngeo (NP) clínico negativo con un lote de reactivo. El LDD también se confirmó en matriz Multitest clínica negativa, matriz de salino clínica negativa, medio de recolección de hisopado de medio de transporte de espécimen (STM) y medio salino.

Tabla 2: Sensibilidad analítica en matriz de VTM/UTM clínica.

Cepa viral	Concentración de LDD
SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020)	0,001 TCID ₅₀ /mL
Influenza A/California/07/2009 (H1N1)	0,03 TCID ₅₀ /mL
Influenza A/Suecia/9715293/2015 (H3N2)	0,003 TCID ₅₀ /mL
Influenza B/Brisbane/33/08 (linaje Victoria)	0,01 TCID ₅₀ /mL
Influenza B/Massachusetts/02/2012 (linaje Yamagata)	0,3 TCID ₅₀ /mL

Reactividad

Se evaluó la reactividad del ensayo Aptima SARS-CoV-2/Flu frente a varias cepas de influenza A (H1N1 y H3N2) y varias cepas de influenza B (linajes Victoria y Yamagata). Las cepas virales se analizaron por triplicado con un lote de reactivo. La Tabla 3 muestra la concentración más baja de cada cepa en las que se observó un 100 % de positividad. Además, se evaluó el panel de influenza humana de CDC de 2020 con el ensayo. Se evaluaron diluciones cinco veces mayores de cada muestra del panel con un mínimo de cinco réplicas de acuerdo con el protocolo de CDC. La Tabla 4 muestra la concentración más baja de cada muestra del panel en la que resultó positiva al menos una réplica.

Tabla 3: Resumen de la reactividad analítica para cepas de influenza A e influenza B

Cepa	Subtipo	Concentración (TCID ₅₀ /mL)	Concentración Relativo al LDD	SARS-CoV-2	Influenza A	Influenza B
Influenza A/Massachusetts/15/13	Influenza A (H1N1)	0,09	x3 LDD	-	+	-
A/Taiwán/42/2006	Influenza A (H1N1)	0,09	x3 LDD	-	+	-
A/Henan/8/05	Influenza A (H1N1)	0,09	x3 LDD	-	+	-
A/Kentucky/2/06	Influenza A (H1N1)	0,3	x10 LDD	-	+	-
A/Hawaii/15/01	Influenza A (H1N1)	3	x100 LDD	-	+	-
A/Brisbane/59/2007	Influenza A (H1N1)	0,09	x3 LDD	-	+	-
A/Islas Salomón/03/06	Influenza A (H1N1)	0,09	x3 LDD	-	+	-
A1/Mal/302/54	Influenza A (H1N1)	0,09	x3 LDD	-	+	-
A1/Denver/1/57	Influenza A (H1N1)	0,9	x30 LDD	-	+	-
Ohio/09SW1477/2009	Influenza A (H1N2)	0,3	x10 LDD	-	+	-
Michigan/45/2015	Influenza A (H1N1)	0,09	x3 LDD	-	+	-
A/Hiroshima/52/05	Influenza A(H3N2)	0,009	x3 LDD	-	+	-
A/Victoria/3/75	Influenza A(H3N2)	9	x3000 LDD	-	+	-
A/Brasil/1137/99	Influenza A (H3N2)	0,09	x30 LDD	-	+	-
A/Hong Kong/8/68	Influenza A (H3N2)	0,9	x300 LOD	-	+	-
A/Aichi/2/68	Influenza A (H3N2)	0,3	x100 LDD	-	+	-
Indiana/08/2011	Influenza A (H3N2)	0,03	x10 LDD	-	+	-
Perth/16/2009	Influenza A (H3N2)	0,009	x3 LDD	-	+	-
A/Costa Rica/07/99	Influenza A (H3N2)	3	x1000 LDD	-	+	-
Port Chalmers/1/73	Influenza A (H3N2)	0,3	x100 LDD	-	+	-

Tabla 3: Resumen de la reactividad analítica para cepas de influenza A e influenza B

Cepa	Subtipo	Concentración (TCID ₅₀ /mL)	Concentración Relativo al LDD	SARS-CoV-2	Influenza A	Influenza B
Hong Kong/4801/2014	Influenza A (H3N2)	0,009	x3 LDD	-	+	-
Texas/50/2012	Influenza A (H3N2)	0,009	x3 LDD	-	+	-
B/Ohio/1/2005	Influenza B (Victoria)	0,03	x3 LDD	-	-	+
Alabama/2/17	Influenza B (Victoria)	0,03	x3 LDD	-	-	+
Florida/78/2015	Influenza B (Victoria)	0,03	x3 LDD	-	-	+
Colorado/06/2017	Influenza B (Victoria)	0,03	x3 LDD	-	-	+
B/St. Petersburg/14/06	Influenza B (Yamagata)	0,9	x3 LDD	-	-	+
Utah/9/14	Influenza B (Yamagata)	0,9	x3 LDD	-	-	+
Wisconsin/1/2010	Influenza B (Yamagata)	0,9	x3 LDD	-	-	+
Phuket/3073/2013	Influenza B (Yamagata)	0,9	x3 LDD	-	-	+
B/Lee/40	Influenza B	3	N/D	-	-	+

Tabla 4: Panel de influenza humana de CDC de 2020

Virus	Cepa	Concentración mínima de reactivo (EID ₅₀ /mL)
Influenza A	A/Perth/16/2009 (H3N2)	1,02E+01
	A/Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	8,10E-01
	A/Christ Church/16/2010 (H1N1 pdm)	1,62E+01
	A/Guangdong-maonan/1536/2019 pdm)	1,29E+00
Influenza B	B/Michigan/09/2011	8,13E-03
	B/Washington/02/2019	1,62E+00
	B/Texas/81/2016	2,04E-01
	B/Phuket/3073/2013	8,13E+00

Inclusividad

Se evaluó la inclusividad del ensayo Aptima SARS-CoV-2/Flu mediante el análisis *in silico* de los oligos de captura seleccionada de ensayo, cebadores de amplificación y sondas fluorescentes de detección para sistemas de interés de SARS-CoV-2, influenza A e influenza B en relación con secuencias disponibles en bases de datos de genes de NCBI y GISAID a partir del 30 de septiembre de 2020. Se eliminó cualquier secuencia con información ausente o ambigua del análisis para esta región de interés.

Para SARS-CoV-2, se evaluaron 111.055 secuencias para la primera región de interés, 110.932 secuencias para la segunda región de interés y 110.784 secuencias con información completa para ambas regiones. El análisis *in silico* mostró un 100 % de homología a los oligos de ensayo de ambos sistemas de interés para 96.883 (87,5 %) de las secuencias evaluadas y un 100 % de homología para los oligos de ensayo de al menos un sistema de interés para 110.743 (99,96 %) de las secuencias. No hubo secuencias evaluadas con faltas de coincidencia identificadas que predijeran cualquier efecto sobre la unión o el rendimiento del ensayo.

Para la influenza A y la influenza B, hubo 79.898 y 28.146 secuencias, respectivamente, desde el 1 de enero de 2015 con información correspondiente a los oligos de las regiones de interés del ensayo. De las secuencias disponibles para la influenza A, 38.700 (48,4 %) mostraron un 100 % de homología a todos los oligos de la región de interés. De las 41.198 secuencias restantes, se predijo la unión de oligos para todas excepto para 687, para una inclusividad total del 99,1 % para la secuencias evaluadas. De las secuencias disponibles para la influenza B, 5.867 (20,8 %) mostraron un 100 % de homología a todos los oligos de la región de interés. De las 22.279 secuencias restantes, se predijo la unión de oligos para todas excepto para 22, para una inclusividad total del 99,9 % para la secuencias evaluadas.

Especificidad analítica e interferencia microbiana

La especificidad analítica del ensayo Aptima SARS-CoV-2/Flu se evaluó analizando 37 microorganismos que representaban patógenos respiratorios comunes o especies estrechamente relacionadas (Tabla 5). Las bacterias se analizaron a 10^6 CFU/mL y los virus a 10^5 TCID₅₀/mL, excepto en los casos indicados. Se analizaron los microorganismos con y sin la presencia de virus cultivados de SARS-CoV-2, influenza A (H1N1) e influenza B (linaje Victoria) en concentraciones x3 LDD. La especificidad analítica del ensayo Aptima SARS-CoV-2/Flu fue del 100 % sin evidencia de interferencia microbiana procedente de microorganismos irrelevantes. Además de la prueba de microorganismos, se realizó un análisis BLAST *in silico* para evaluar la especificidad del ensayo en relación con los microorganismos recogidos en la Tabla 5. El análisis *in silico* no mostró ninguna reactividad cruzada probable con ninguna de las 202 secuencias del GenBank evaluadas.

Tabla 5: Especificidad analítica e interferencia microbiana, microorganismos

Microorganismo	Concentración	Microorganismo	Concentración
Adenovirus	1,0E+06 TCID ₅₀ /mL	<i>Legionella pneumophila</i>	1,0E+06 CFU/mL
Enterovirus (ej.: EV68)	1,0E+04 TCID ₅₀ /mL	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1,0E+08 TCID ₅₀ /mL
Rinovirus	1,0E+04 TCID ₅₀ /mL	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,0E+05 CFU/mL
Coronavirus humano 229E	1,0E+06 TCID ₅₀ /mL	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	1,0E+06 nuc/mL
Coronavirus humano HKU1	1,0E+06 c/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,0E+06 CFU/mL
Coronavirus humano ¹ NL63	1,0E+03 TCID ₅₀ /mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,0E+06 CFU/mL
Coronavirus humano OC43	1,0E+04 TCID ₅₀ /mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,0E+04 CFU/mL
Coronavirus MERS	1,0E+03 TCID ₅₀ /mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,0E+06 CFU/mL
Coronavirus SARS ¹	1,0E+06 c/mL	<i>Streptococcus salivarius</i>	1,0E+06 CFU/mL
Virus de la parainfluenza 1	1,0E+05 TCID ₅₀ /mL	Influenza A ³	1,0E+05 TCID ₅₀ /mL
Virus de la parainfluenza 2	1,0E+03 TCID ₅₀ /mL	Influenza B ³	1,0E+04 TCID ₅₀ /mL
Virus de la parainfluenza 3	1,0E+05 TCID ₅₀ /mL	<i>Neisseria meningitidis</i>	1,0E+06 CFU/mL
Virus de la parainfluenza 4a	1,0E+05 TCID ₅₀ /mL	<i>Neisseria gonorrhoea</i>	1,0E+06 CFU/mL
Metapneumovirus humano (hMPV)	1,0E+05 TCID ₅₀ /mL	<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,0E+06 CFU/mL
Virus respiratorio sincitial	1,0E+04 TCID ₅₀ /mL	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Bordetella pertussis</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Corynebacterium diphtheria</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Candida albicans</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Escherichia coli</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1,0E+05 CFU/mL	SARS-CoV-2 ³	1,0E+05 TCID ₅₀ /mL
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,0E+06 CFU/mL	30 especímenes de VTM/UTM de hisopado nasofaríngeo (NP) clínico negativo individuales ²	N/D

¹ El virus cultivado y el ácido nucleico purificado del genoma completo para el coronavirus humano HKU1 y el coronavirus SARS no se encuentran fácilmente disponibles. Los IVT de los coronavirus HKU1 y SARS correspondientes a las regiones del gen ORF1ab de interés por medio del ensayo utilizado para evaluar la reactividad cruzada y la interferencia microbiana.

² En lugar de evaluar el lavado nasal humano combinado, se analizaron por triplicado 30 especímenes individuales de hisopado nasofaríngeo (NP) clínico negativo para representar la diversa flora microbiana presente en el tracto respiratorio humano.

³ SARS-CoV-2, influenza A e influenza B son elementos de interés del ensayo. El análisis de la reactividad cruzada solo se realizó para los otros elementos de interés.

Interferencia competitiva

Se evaluó la interferencia competitiva del ensayo Aptima SARS-CoV-2/Flu utilizando pares de virus de interés en concentraciones baja/alta en matriz de VTM/UTM de hisopado nasofaríngeo (NP) clínico negativo. El virus de baja concentración se analizó a x3 LDD, mientras que el de alta concentración se analizó a la concentración máxima admisible en base al título madre. La prueba se realizó utilizando una cepa de virus SARS-CoV-2, una de influenza A (H1N1) y una de influenza B (linaje Victoria). La presencia de dos virus en diversas concentraciones baja/alta en una muestra única, no tuvo efecto alguno en la sensibilidad analítica (100 % de detección en ambos elementos de interés) en las concentraciones anotadas en la Tabla 6.

Tabla 6: Interferencia competitiva

Condición	Objetivo 1		Objetivo 2		SARS-CoV-2	Influenza A	Influenza B
	Virus	x3 LDD Concentración (TCID ₅₀ /mL)	Virus	Alta Concentración (TCID ₅₀ /mL)			
1	SARS-CoV-2	0,003	Influenza A	3,16e4	+	+	-
2	SARS-CoV-2	0,003	Influenza B	1,17e4	+	-	+
3	Influenza A	0,09	SARS-CoV-2	1,4e1	+	+	-
4	Influenza A	0,09	Influenza B	1,17e1	-	+	+
5	Influenza B	0,03	SARS-CoV-2	1,4e4	+	-	+
6	Influenza B	0,03	Influenza A	3,16e3	-	+	+

Rendimiento clínico

Se evaluó el rendimiento clínico del ensayo Aptima SARS-CoV-2/Flu comparándolo con los ensayos Panther Fusion SARS-CoV-2 (Hologic, Inc.) y Panther Fusion Flu A/B/RSV (Hologic, Inc.), utilizando un panel de especímenes nasofaríngeos clínicos remanentes recogidos de pacientes con signos y síntomas de infección respiratoria. Para la evaluación, se analizó una combinación de especímenes negativos y positivos en SARS-CoV-2, positivos en influenza A y positivos en influenza B con cada ensayo.

Se calculó la concordancia de porcentaje positivo (PPA) y la concordancia de porcentaje negativo (NPA) para SARS-CoV-2 en relación con el ensayo Panther Fusion SARS-CoV-2 como resultado de referencia, como muestra la Tabla 7. El ensayo mostró concordancias de porcentaje positivo y negativo del 96,1 % y el 99,6 %, respectivamente, para SARS-CoV-2.

Para influenza A e influenza B, se calcularon las PPA y NPA con respecto al ensayo Panther Fusion Flu A/B/RSV como resultado de referencia, como muestra la Tabla 8 para influenza A y la Tabla 9 para influenza B. El ensayo mostró concordancias de porcentaje positivo y negativo del 100 % y el 99,2 %, respectivamente, para influenza A y del 100 % y el 100 %, respectivamente, para influenza B.

Tabla 7: Resultados del rendimiento clínico para SARS-CoV-2

SARS-CoV-2		Resultados de Panther Fusion		
		Positivo	Negativo	Total
Aptima Resultado de SARS/ Flu	Positivo	49	1	50
	Negativo	2	247	249
	Total	51	248	299
Concordancia positiva		96,1 %	(86,8 % - 98,9 %)	
Concordancia negativa		99,6 %	(97,8 % - 99,9 %)	

Tabla 8: Resultados de rendimiento clínico para influenza A

Influenza A		Resultados de Panther Fusion		
		Positivo	Negativo	Total
Aptima Resultado de SARS/ Flu	Positivo	48	2	50
	Negativo	0	249	249
	Total	48	251	299
Concordancia positiva		100 %	(92,6 % - 100 %)	
Concordancia negativa		99,2 %	(97,1 % - 99,8 %)	

Tabla 9: Resultados de rendimiento clínico para influenza B

Influenza B		Resultados de Panther Fusion		
		Positivo	Negativo	Total
Aptima Resultado de SARS/ Flu	Positivo	49	0	49
	Negativo	0	250	250
	Total	49	250	299
Concordancia positiva		100 %	(92,7 % - 100 %)	
Concordancia negativa		100 %	(98,5 % - 100 %)	

Bibliografía

1. **Centros para el control y la prevención de enfermedades.** <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html>. Consultado el 7 de octubre de 2020.
2. **Centros para el control y la prevención de enfermedades.** <https://www.cdc.gov/flu/about/index.html>. Consultado el 7 de octubre de 2020.
3. **Centros para el control y la prevención de enfermedades.** <https://www.cdc.gov/flu/symptoms/index.html>. Consultado el 7 de octubre de 2020.
4. **Organización Mundial de la Salud.** Preguntas y respuestas sobre la enfermedad por coronavirus (COVID-19). <http://www.emro.who.int/health-topics/corona-virus/questions-and-answers.html>. Consultado el 7 de octubre de 2020.
5. **Centros para el control y la prevención de enfermedades.** <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html>. Consultado el 7 de octubre de 2020.
6. **Instituto de estándares clínicos y de laboratorio.** Document M29 Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Web del CLSI <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Consultado en septiembre de 2017.



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



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

Asistencia técnica: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

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

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

El resto de las marcas comerciales que puedan aparecer en este prospecto pertenecen a sus respectivos propietarios.

Este producto puede estar cubierto por una o más patentes estadounidenses identificadas en www.hologic.com/patents.

©2021 Hologic, Inc. Todos los derechos reservados.

AW-22365-2451 Rev. 001
2021-07