

Rozbor Aptima™ SARS-CoV-2 (systém Panther™)

Len na diagnostické použitie *in vitro*.

Len na export z USA.

OBSAH

Všeobecné informácie	2
Určené použitie	2
Zhrnutie a vysvetlenie testu	2
Zásady procedúry	3
Varovania a bezpečnostné opatrenia	4
Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagensiou	6
Odber preparátov a skladovanie	7
Preprava preparátov	11
Poolovanie preparátov – stanovenie vhodnej stratégie na implementáciu a monitorovanie ...	11
Príprava vzoriek na poolovanie	12
Panther System	13
Poskytnuté reagensie a materiály	13
Potrebné materiály dostupné samostatne	14
Postup testovania systému Panther	16
Poznámky k postupu	18
Kontrola kvality	20
Interpretácia výsledkov	21
Obmedzenia	22
Výkon rozboru Panther SARS-CoV-2	23
Analytická citlivosť	23
Analytická citlivosť s použitím pracovného postupu so skúmavkou na prenos preparátov Aptima	24
Inkluzivita	24
Analytická špecifická a mikrobiálna interferencia	24
Ekvivalencia odberových pomôcok	26
Klinický výkon	27
Klinický výkon pri preparátoch nazofaryngeálnych výterov pomocou UTM/VTM	27
Klinický výkon pri preparátoch výterov z prednej strany nosa odobraných pomocou odberovej súpravy RespDirect	27
Klinický výkon s vyrobeným (contrived) panelom	28
Bibliografia	34
Kontaktné informácie	35

Všeobecné informácie

Určené použitie

Rozbor Aptima™ SARS-CoV-2 je *in vitro* diagnostický test na báze amplifikácie nukleových kyselín, ktorý je určený na kvalitatívnu detekciu RNA z vírusu SARS-CoV-2 izolovaného a purifikovaného z preparátov nazofaryngeálnych (NP), nosových, výterov zo strednej časti nosa a orofaryngeálnych (OP) výterov, nazofaryngeálneho výplachu/aspirátu, nosových aspirátov alebo slín získaných od jednotlivcov spĺňajúcich klinické a/alebo epidemiologické kritériá podľa COVID-19 vrátane od jedincov bez príznakov alebo iných dôvodov na podozrenie na infekciu COVID-19.

Tento test je tiež určený na kvalitatívnu detekciu nukleovej kyseliny vírusu SARS-CoV-2 v poolovaných vzorkách obsahujúcich až 5 samostatných preparátov výterov z horných dýchacích ciest (napr. nazofaryngeálne, nosové, stredomušľové alebo orofaryngeálne výtery), pričom je každý preparát odobraný pod dohľadom poskytovateľa zdravotnej starostlivosti alebo priamo ním za použitia samostatných liekoviek obsahujúcich transportné médium. Negatívne výsledky z poolovaného testovania sa nemajú považovať za definitívne. Ak sú príznaky a prejavy pacienta v nesúlade s negatívnym výsledkom a ak sú výsledky potrebné na manažment pacienta, má sa zvážiť individuálne testovanie pacienta. Preparáty zahrnuté v pooloch s pozitívnym alebo neplatným výsledkom musia byť pred hlásením výsledku otestované jednotlivo. Preparáty s nízkou vírusovou náložou nemusia byť v pooloch vzoriek detegované kvôli zníženej citlivosti poolovaného testovania. U špecifických pacientov, ktorých preparáty boli zahrnuté do poolovania, je potrebné do hlásenia výsledku poskytovateľovi zdravotnej starostlivosti zahrnúť poznámku, že sa počas testovania použilo poolovanie.

Výsledky sú pre identifikáciu RNA vírusu SARS-CoV-2. RNA vírusu SARS-CoV-2 je vo všeobecnosti detegovateľná v preparátoch z horných dýchacích ciest počas akútnej fázy infekcie. Pozitívne výsledky určujú prítomnosť RNA vírusu SARS-CoV-2. Na stanovenie stavu infekcie pacienta je potrebná klinická korelácia s anamnézou pacienta a ďalšími diagnostickými informáciami. Pozitívne výsledky nevyklučujú bakteriálnu infekciu ani koinfekciu s ďalšími vírusmi.

Negatívne výsledky nevyklučujú infekciu SARS-CoV-2 a nesmú sa použiť ako jediný základ rozhodovania o manažmente pacienta. Negatívne výsledky musia byť kombinované s klinickými pozorovaniami, anamnézou pacienta a epidemiologickými informáciami.

Rozbor Aptima SARS-CoV-2 v systémoch Panther™ a Panther Fusion™ je určený na použitie personálom klinického laboratória špecificky inštruovaného a vyškoleného ohľadom prevádzky systémov Panther a Panther Fusion diagnostických postupov *in vitro*.

Zhrnutie a vysvetlenie testu

Koronavírusy sú veľkou čeľadou vírusov, ktorá môže spôsobovať ochorenia u zvierat alebo ľudí. Je známych niekoľko koronavírusov, ktoré sú schopné spôsobiť respiračné infekcie u ľudí od bežného nachladnutia až po závažnejšie ochorenia, ako napríklad stredovýchodný respiračný syndróm (MERS) a závažný akútny respiračný syndróm (SARS). Najnovšie objavený koronavírus, SARS-CoV-2, spôsobuje súvisiace koronavírusové ochorenie COVID-19. Tento nový vírus a dané ochorenie neboli známe až do prepuknutia v meste Wuhan, Čína, v decembri 2019.¹

Najčastejšie príznaky COVID-19 sú horúčka, únava a suchý kašeľ. Niektorí pacienti môžu mať bolesti, upchatý nos, tečenie z nosa, bolesť hrdla, novú stratu chuti či čuchu alebo hnačku. Tieto

príznaky sú väčšinou mierne a začnú postupne. Niektorí ľudia sa infikujú, ale nemajú žiadne príznaky ani sa necítia zle. Ochorenie sa môže šíriť respiračnými kvapôčkami vytváranými vtedy, keď infikovaná osoba kašle alebo kýcha. Tieto kvapôčky môžu pristáť na ústach alebo nosoch osôb, ktoré sú blízko, alebo môžu byť prípadne vdychnuté do pľúc.² Tieto kvapôčky tiež môžu pristáť na predmetoch a povrchoch okolo osoby. Ďalší ľudia môžu získať SARS-CoV-2, keď sa dotknú týchto predmetov alebo povrchov a následne svojich očí, nosa alebo úst.

Vírus, ktorý spôsobuje COVID-19, infikuje ľudí a ľahko sa šíri z osoby na osobu.³ 11. marca 2020 bolo vypuknutie COVID-19 Svetovou zdravotníckou organizáciou (WHO) charakterizované ako pandemické.^{4, 5}

Zásady procedúry

Rozbor Aptima SARS-CoV-2 kombinuje technológie cieľového záchytu, transkripciu sprostredkovanú amplifikáciou (TMA) a dvojité kinetické testy (DKA).

Preparáty môžu byť odobrané a následne presunuté do lyzačných skúmaviek Hologic Panther Fusion obsahujúcich médiu na transport preparátov (STM). Prípadne môžu byť preparáty odobrané pomocou súpravy Aptima Multitest obsahujúcej STM alebo odberovej súpravy RespDirect obsahujúcej obohatené médium na transport preparátov (eSTM). STM a eSTM lyzujú bunky, uvoľňujú cieľovú nukleovú kyselinu a chránia ju pred degradáciou počas skladovania. Keď sa v laboratóriu vykonáva rozbor Aptima SARS-CoV-2, cieľové molekuly RNA sa izolujú z preparátov použitím záchytných oligomérov prostredníctvom cieľového záchytu, ktorý využíva magnetické mikročastice. Záchytné oligoméry obsahujú sekvencie komplementárne so špecifickými oblasťami cieľových molekúl, ako aj reťazec zvyškov deoxyadenozínu. Pre každý cieľ sa používa samostatný záchytný oligomér. Počas kroku hybridizácie sa špecifické sekvencie záchytných oligomérov viažu na špecifické oblasti cieľových molekúl. Zachytávací oligomér: komplex sa potom zachytí z roztoku znížením teploty reakcie na teplotu miestnosti. Táto redukcia teploty umožňuje hybridizáciu medzi deoxyadenozínovou oblasťou na zachytávacom oligoméri a polydeoxytymidínovými molekulami, ktoré sú kovalentne pripojené k magnetickým časticiam. Mikročastice, vrátane zachytených cieľových molekúl, ktoré sú na ne naviazané, sú ťahané na stranu reakčnej skúmavky pomocou magnetov a supernatant je odsatý. Častice sa premyjú, aby sa odstránila zvyšková matrica preparátu, ktorá môže obsahovať inhibítory amplifikačnej reakcie. Po dokončení krokov cieľového záchytu sú preparáty pripravené na amplifikáciu.

Testy amplifikácie cieľa sú založené na schopnosti komplementárnych oligonukleotidových primerov špecificky sa spárovať a umožniť enzymatickú amplifikáciu vlákien cieľových nukleových kyselín. Rozbor Aptima SARS-CoV-2 rozmnožuje špecifické oblasti RNA vírusu SARS-CoV-2. Detekcia sekvencií produktu amplifikácie (amplikónu) RNA sa dosiahne pomocou hybridizácie nukleových kyselín. Jednovláknové chemiluminiscenčné sondy nukleových kyselín, ktoré sú jedinečné a komplementárne k oblasti každého cieľového amplikónu a amplikónu internej kontroly (IC), sa označia rôznymi molekulami akridíniumesteru (AE). Sondy označené AE sa spoja s amplikónmi a vytvoria stabilné hybridy. Selektívna reagentia rozlišuje hybridizované a nehybridizované sondy a eliminuje tvorbu signálu z nehybridizovanej sondy. Počas kroku detekcie je svetlo vyžiarené z označených hybridov merané ako signály fotónov luminometrom a hlásené v relatívnych svetelných jednotkách (RLU). Pri DKA umožňujú rozdiely v kinetických profiloch označených sond rozlíšenie signálu. Kinetické profily sú odvodené z meraní výstupu fotónov počas detekčného odčítavania. Chemiluminiscenčná detekčná reakcia pre signál IC má veľmi rýchlu kinetiku a je kinetickým typom „záblesk“. Chemiluminiscenčná detekčná reakcia pre signál SARS-CoV-2 je relatívne pomalá a je kinetickým typom „tlenie“. Výsledky rozboru sú stanovené na základe hraničnej hodnoty (cut-off) podľa celkových RLU a typu kinetickej krivky.

Rozbor Aptima SARS-CoV-2 amplifikuje a deteguje dve konzervované oblasti génu ORF1ab v rovnakej reakcii používajúc rovnaký kinetický typ „tlenie“. Tieto dve oblasti nie sú rozlíšené a amplifikácie jednej alebo oboch týchto oblastí vedie k vytvoreniu signálu RLU. Výsledky rozboru sú stanovené na základe hraničnej hodnoty (cut-off) podľa celkových RLU a typu kinetickej krivky.


Varovania a bezpečnostné opatrenia

- A. Len na diagnostické použitie *in vitro*. Pozorne si prečítajte celý tento príbalový leták a *príručku pre operátora systému Panther/Panther Fusion*.
- B. Tieto postupy môže vykonávať len personál adekvátne vyškolený ohľadom používania tohto rozboru a zaobchádzania s potenciálne infekčnými materiálmi. Ak dôjde k vyliatiu, okamžite miesto vydezinfikujte pomocou príslušných postupov pracoviska.
- C. So všetkými preparátmi zaobchádzajte tak, ako by boli infekčné, podľa laboratórnej praxe a postupov, ktoré sú základom správnej mikrobiologickej praxe a postupov, a tak ich aj spracovávajú. Pozrite si usmernenia Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO) ohľadom biologickej bezpečnosti súvisiacej s koronavírusovým ochorením (COVID-19): predbežné usmernenia. [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. Vzorky môžu byť infekčné. Pri vykonávaní tohto testu použite univerzálne opatrenia. Riaditeľ laboratória musí stanoviť správne metódy manipulácie a likvidácie. Tento diagnostický postup môžu vykonávať len osoby primerane vyškolené v zaobchádzaní s infekčnými materiálmi.⁶
- E. Ak na základe súčasných kritérií klinického skríningu odporúčaných verejnými zdravotníckymi orgánmi existuje podozrenie na infekciu SARS-CoV-2, preparáty sa majú odoberať za použitia príslušných bezpečnostných opatrení na kontrolu infekcie.
- F. Používajte iba dodané alebo špecifikované jednorazové laboratórne pomôcky.
- G. Pri odbere preparátov od jednotlivcov s podozrením na infekciu vírusom SARS-CoV-2 používajte vhodné osobné ochranné pomôcky, ako je uvedené v dokumente CDC Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) (Predbežné usmernenia ohľadom laboratórnej biologickej bezpečnosti pri manipulácii a spracovávaní vzoriek spojených s novým koronavírusom 2019).
- H. Pri manipulácii s preparátmi a reagensiami používajte jednorazové, bezprašné rukavice, ochranné okuliare a laboratórne plášte. Po manipulácii s preparátmi a reagensiami si dôkladne umyte ruky.
- I. Všetok materiál, ktorý príde do kontaktu s preparátmi a reagensiami, zlikvidujte v súlade s platnými národnými, medzinárodnými a regionálnymi nariadeniami.
- J. Dátumy expirácie uvedené na odberovej súprave RespDirect, skúmavkách na lýzu preparátov Panther Fusion (SLT), skúmavkách na lýzu preparátov Hologic, odberovej súprave Aptima Multitest, súprave na odber preparátov Aptima Unisex, súprave na prenos preparátov Aptima a odberovej súprave na priame vloženie so zachytávacím uzáverom Hologic sa vzťahujú na prenos vzorky do skúmavky a nie na testovanie vzorky. Preparáty odobraté/prenesené kedykoľvek pred týmito dátumami expirácie sú platné na testovanie za predpokladu, že boli prepravované a uchovávané v súlade s príslušným príbalovým letákom, a to aj v prípade, že tieto dátumy expirácie uplynuli.

- K. Počas prepravy zachovajte príslušné podmienky na uchovávanie, aby ste zaistili integritu preparátu. Stabilita preparátov za prepravných podmienok iných, ako sú odporúčané, nebola hodnotená.
- L. Testovanie preparátu slín, ktorý sa skladoval mimo špecifikovaných podmienok, môže viesť k vyššiemu riziku neplatného výsledku.
- M. Počas manipulácie so vzorkami sa vyhnite krížovej kontaminácii. Preparáty môžu obsahovať extrémne vysoké hladiny vírusov alebo iných organizmov. Uistite sa, že nádoby na preparáty sa navzájom nedotýkajú a použité materiály zlikvidujte bez toho, aby prešli cez akékoľvek otvorené nádoby. Vymeňte si rukavice, ak sa dostanú do kontaktu s preparátmi.
- N. Nepoužívajte reagenty a kontroly po dátume expirácie.
- O. Súčasti rozboru uchovávajte pri odporúčaných podmienkach na uchovávanie. Viac informácií nájdete v častiach *Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagentmi* (strana 6) a *Postup testovania systému Panther* (strana 16).
- P. Nekombinujte žiadne reagenty ani tekutiny rozboru. Nedopĺňajte reagenty ani tekutiny, systém Panther overuje hladiny reagentov.
- Q. Zabráňte mikrobiálnej a ribonukleázovej kontaminácii reagentov.
- R. V prístroji nepoužívajte materiál s obsahom guanidíniutkiokyanátu ani materiály obsahujúce guanidín. Pri kombinácii s chlórnanom sodným sa môžu tvoriť vysoko reaktívne a/alebo toxické zlúčeniny.
- S. Reagenty tejto súpravy je označená informáciami o nebezpečenstve.

Poznámka: Oznámenie o nebezpečenstve odráža klasifikácie bezpečnostných údajov EÚ (SDS). Informácie o oznámeniach o nebezpečenstve, ktoré sú špecifické pre váš región, nájdete v SDS pre jednotlivé regióny v knižnici bezpečnostných údajov na adrese www.hologicds.com. Bližšie informácie o symboloch nájdete vo vysvetlení symbolov na adrese www.hologic.com/package-inserts.

Informácie EÚ o nebezpečenstve	
Amplifikačná reagenty HEPES 25 – 30 %	— — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia P280 – Noste ochranné okuliare/ochranu tváre
Enzymová reagenty HEPES 1 – 5 %	— — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia P280 – Noste ochranné okuliare/ochranu tváre

—	<p>Sondová reagencia <i>Lítina soľ laurylsulfátu 35 – 40 %</i> <i>Kyselina jantárová 10 – 15 %</i> <i>Hydroxid lítny, monohydrát 10 – 15 %</i></p> <p>H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia P280 – Noste ochranné okuliare/ochranu tváre</p>
—	<p>Reagencia na záchyt cieľa <i>HEPES 5 – 10 %</i> <i>EDTA 1 % – 5 %</i> <i>HYDROXID LÍTNY, MONOHYDRÁT 1 – 5 %</i></p> <p>H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia P280 – Noste ochranné okuliare/ochranu tváre</p>
	<p>Selekčná reagencia <i>KYSELINA BORITÁ 1 % – 5 %</i></p> <p>VAROVANIE H315 – Dráždi kožu</p>

Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagenciou

- A. Nasledujúce reagencie sú stabilné pri uchovávaní pri teplote 2 °C až 8 °C (v chladničke):
amplifikačná reagencia Aptima SARS-CoV-2,
enzymatická reagencia Aptima SARS-CoV-2,
sondová reagencia Aptima SARS-CoV-2,
interná kontrola Aptima SARS-CoV-2,
pozitívna kontrola Aptima SARS-CoV-2,
negatívna kontrola Aptima SARS-CoV-2.
- B. Nasledujúce reagencie sú stabilné pri uchovávaní pri teplote 2 °C až 30 °C:
amplifikačný rekonštitučný roztok Aptima SARS-CoV-2,
enzymatický rekonštitučný roztok Aptima SARS-CoV-2,
sondový rekonštitučný roztok Aptima SARS-CoV-2,
selekčná reagencia Aptima SARS-CoV-2.
- C. Nasledujúce reagencie sú stabilné pri uchovávaní pri teplote 15 °C až 30 °C (izbová teplota):
cieľová záchytná reagencia Aptima SARS-CoV-2,
premývací roztok Aptima,
pufer na deaktiváciu kvapalinu Aptima,
olejová reagencia Aptima.
- D. Pracovná cieľová záchytná reagencia (wTCR) je stabilná počas 30 dní, keď sa uchováva pri teplote 15 °C až 30 °C. Neuchovávajú v chladničke.

- E. Po rekonštitúcii sú enzymatická reagensia, amplifikačná reagensia a sondová reagensia stabilné po dobu 30 dní, ak sa uchováajú pri teplote 2 °C až 8 °C.
- F. Nepoužitú rekonštituovanú reagensiu a wTCR zlikvidujte po 30 dňoch alebo po dátume expirácie šarže matrice, podľa toho, čo nastane skôr.
- G. Kontroly sú stabilné do dátumu uvedeného na liekovkách.
- H. Reagensie uchovávané v systéme Panther majú stabilitu v prístroji 120 hodín.
- I. Reagensia sondy a reagensia rekonštituovanej sondy sú fotosenzitívne. Reagensie uchovávať chránené pred svetlom. Špecifikovaná stabilita po rekonštitúcii je založená na 12-hodinovom vystavení rekonštituovanej sondovej reagensie dvom 60 W fluorescenčným žiarovkám vo vzdialenosti 43 cm (17 palcov) a teplote nižšej ako 30 °C. Vystavenie svetlu rekonštituovanej sondovej reagensie by malo byť príslušne obmedzené.
- J. Po zahriatí na izbovú teplotu sa môžu niektoré skúmavky s kontrolami javiť zakalené alebo obsahovať precipitáty. Zákal alebo precipitácia kontrol neovplyvňuje výkon kontroly. Kontroly možno použiť bez ohľadu na to, či sú číre alebo zakalené/s precipitátmi. Ak vyžadujete číre kontroly, rozpustenie možno dosiahnuť ich inkubáciou pri hornom konci rozsahu izbovej teploty (15 °C až 30 °C).
- K. Reagensie nezmrazujte.**

Odber preparátov a skladovanie

Preparáty – klinický materiál odobraný pacientovi a umiestnený do vhodného transportného systému. Pre rozbor testu Aptima SARS-CoV-2 assay to zahŕňa preparáty NP, nosového, stredomúšľového a OP výteru alebo odber nazofaryngeálneho výplachu/aspirátu a nosového aspirátu vo vírusovom transportnom médiu (VTM/UTM), fyziologickom roztoku, Amiesovom médiu, obohatenom médiu na transport preparátov (eSTM) alebo médiu na transport preparátov (STM). Môžu sa navyše odoberať sliny na použitie s rozborom.

Vzorky – Predstavuje všeobecnejší pojem, ktorý opisuje akýkoľvek materiál na testovanie v systéme Panther vrátane preparátov, preparátov prenesených do skúmavky na lýzu preparátov Panther Fusion, skúmavky na lýzu preparátov Hologic s pevným uzáverom, prenosovej skúmavky na preparáty Aptima, transportnej skúmavky Aptima Multitest, skúmavky na priame vloženie so zachytávacím uzáverom Hologic a ovládacích prvkov.

Poznámka: So všetkými preparátmi zaobchádzajte tak, ako keby obsahovali potenciálne infekčné činitele. Používajte univerzálne bezpečnostné opatrenia.

Poznámka: Dávajte pozor, aby ste sa počas krokov manipulácie s preparátmi vyhli skříženej kontaminácii. Napríklad, použitý materiál zlikvidujte bez toho, aby ste prechádzali ponad otvorené skúmavky.

Odber preparátov výterov

Odoberte preparáty NP, nosového a OP výteru pomocou štandardnej techniky pomocou tampónu s polyesterovým, celulóзовým alebo nylónovým hrotom. Preparát výteru ihneď vložte do 3 ml VTM alebo UTM. Preparáty výterov možno alternatívne vložiť do fyziologického roztoku, tekutého Amiesovho média alebo STM. Na odber vzoriek OP a nosových výterov možno použiť súpravu na odber preparátov výterov Aptima Multitest a odberovú súpravu na priame vloženie so zachytávacím uzáverom Hologic. Odberová

súprava na priame vloženie so zachytávacím uzáverom Hologic – CLASSIQSwab slúži na odber vzoriek OP a nosových výterov. Odberová súprava na priame vloženie so zachytávacím uzáverom Hologic – FLOQSwab slúži na odber vzoriek výterov z oblasti strednej časti nosa a NP výterov. Odberová súprava RespDirect spoločnosti Hologic sa môže použiť na odber vzoriek nazofaryngeálnych a nosových výterov.

Po odbere možno preparáty odobrané vo VTM/UTM uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C po dobu 96 hodín pred prenosom do skúmavky na lýzu preparátov alebo transferových skúmaviek, ako opisuje časť spracovávania preparátov nižšie. Zvyšné objemy preparátov možno uchovávať pri teplote ≤-70 °C.

Po odbere možno preparáty v skúmavke Aptima Multitest, skúmavke na priame vloženie so zachytávacím uzáverom Hologic a obohatenej skúmavke na priame vloženie uchovávať pri teplote 2 °C až 30 °C po dobu 6 dní.

Poznámka: *Odporúča sa, aby sa preparáty odobraté do skúmavky Aptima Multitest, skúmavky na priame vloženie so zachytávacím uzáverom Hologic a skúmavky na priame vloženie uložili s uzáverom a vertikálne v stojane.*

Odber preparátov nazofaryngeálneho výplachu/aspirátu a nosového aspirátu

Preparáty nazofaryngeálneho výplachu/aspirátu a nosového aspirátu odoberte štandardnou technikou.

Odber preparátu slín

Odoberte 1 ml +/-0,2 ml slín do štandardnej odberovej skúmavky so značkou 1 ml. Pred vyplútním do odberovej skúmavky poučte účastníkov, aby si nazbierali sliny a vírili s nimi v ústach najmenej po dobu 30 s. Odobraté sliny možno skladovať pri teplote 15 °C až 30 °C po dobu 12 hodín pred pridaním 4 ml +/-0,4 ml minimálneho esenciálneho média (MEM) na zriedenie a premiešanie vzorky sliny. Vzorky zriedené pomocou minimálneho esenciálneho média možno skladovať pri teplote 15 °C až 30 °C po dobu 2 hodín pred premiestnením 500 µl zriedených slín do skúmavky na lýzu preparátu alebo prenosových skúmaviek tak, ako je to popísané v nižšie uvedenej časti o spracovaní preparátu. Spracované preparáty možno skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C po dobu 6 dní.

Spracovanie preparátov

Pracovné postupy s nasadenými uzávermi pomocou softvéru rozboru Aptima SARS-CoV-2

Spracovávanie vzoriek pomocou skúmavky na lýzu preparátov Panther Fusion

- A. Pred testovaním pomocou systému Panther preneste 500 µl odobratého preparátu* do skúmavky na lýzu preparátov Panther Fusion.

***Poznámka:** *Pri testovaní zmrazených vzoriek nechajte pred spracovaním preparáty ohriať na izbovú teplotu.*

Spracovávanie preparátu pomocou skúmavky na prenos preparátov Aptima

- A. Pred testovaním pomocou systému Panther preneste 1 ml odobratého preparátu* do skúmavky na prenos preparátov Aptima**.

***Poznámka:** *Pri testovaní zmrazených vzoriek nechajte pred spracovaním preparáty ohriať na izbovú teplotu.*

****Poznámka:** *Prípadne možno použiť nepoužitú skúmavku Aptima Multitest alebo Aptima Unisex.*

- B. Znova pevne nasadíte uzáver na skúmavku na prenos preparátov Aptima.
- C. Opatrne 2 až 3-krát skúmavku prevráťte, aby ste zaistili úplné zmiešanie preparátu.

Spracovávanie preparátov pre vzorky odobrané pomocou odberovej súpravy Aptima Multitest

- A. Po umiestnení odobraného preparátu* do skúmavky Aptima Multitest pomocou odberovej súpravy Aptima Multitest sa nevyžaduje žiadne ďalšie spracovávanie.

**Poznámka: Pri testovaní zmrazených vzoriek nechajte pred spracovaním preparáty ohriať na izbovú teplotu.*

Spracovanie preparátov pomocou obohatenej skúmavky na priame vloženie (odberová súprava RespDirect)

- A. Po odbere preparátu do obohatenej skúmavky na priame vloženie (odberová súprava RespDirect) môže byť preparát vložený do prístroja.

Poznámka: Ak sa v preparátoch pozorujú CLT alebo izolované p-flags, vzorky možno vortexovať 5 – 10 minút pri 1 800 rpm vo vortexe na viaceré skúmavky (alebo pri nastavení 5 na zariadení s kat. č. 102160G).

Prípadne možno jednotlivé skúmavky vortexovať rukou po dobu 15 sekúnd pri maximálnej rýchlosti na štandardnom stolnom vortexe.

Ak už boli prepichnuté, skúmavky pred vortexovaním znova uzatvorte pomocou nového preniknuteľného uzáveru.

Ak sa po opakovanom testovaní získa výsledok CLT, odoberte novú vzorku.

Poznámka: Pri testovaní zmrazených preparátov nechajte pred vložením do prístroja preparáty ohriať na izbovú teplotu.

Poznámka: Ak laboratórium dostane obohatenú skúmavku na priame vloženie (odberová súprava RespDirect) bez tampónu alebo s dvoma tampónmi, preparát musí odmietnuť.

Pracovné postupy bez uzáverov pomocou softvéru rozboru Aptima SARS-CoV-2

Spracovávanie vzoriek pomocou skúmavky na lýzu preparátov Panther Fusion

- A. Odstráňte uzáver skúmavky na lýzu preparátov Panther Fusion s preniknuteľným uzáverom. Preniknuteľný uzáver možno odložiť alebo v ďalšom kroku možno použiť náhradný pevný uzáver.
- B. Pred testovaním pomocou systému Panther preneste 500 µl preparátu do skúmavky na lýzu preparátov Panther Fusion s preniknuteľným alebo náhradným pevným uzáverom.
- C. Aby ste predišli kontaktu s vrchom skúmavky, uvoľnite uzáver a umiestnite skúmavku na vzorky do stojana na vzorky.
- D. Odstráňte a zlikvidujte uzáver. Aby ste predišli kontaminácii, nemanipulujte uzáverom nad žiadnymi inými stojanmi na vzorky ani skúmavkami na vzorky. Skontrolujte skúmavku na vzorky. Ak sú prítomné bubliny, opatrne ich zo skúmavky na vzorky odstráňte (napríklad, použite sterilný tampón alebo podobnú metódu).

Poznámka: Ak neodstránite bubliny, môže to ovplyvniť spracovanie rozboru a spôsobiť neplatné výsledky.

- E. Umiestnite držiak stojana na stojan na vzorky a vložte stojan do prístroja.

Spracovávanie preparátov pomocou skúmavky na lýzu preparátov Hologic s pevným uzáverom

- A. Odstráňte pevný uzáver skúmavky na lýzu preparátov a uzáver si odložte.
- B. Pred testovaním pomocou systému Panther preneste 500 µl preparátu do skúmavky na lýzu preparátov Hologic s pevným uzáverom.
- C. Odporúča sa znova uzatvoriť skúmavku a jemne ju trikrát prevrátiť, aby sa zaistili inaktivácia vírusov a homogénnosť zmesi.
- D. Aby ste predišli kontaktu s vrchom skúmavky, uvoľnite uzáver a umiestnite skúmavku na vzorky do stojana na vzorky.
- E. Odstráňte a zlikvidujte uzáver. Aby ste predišli kontaminácii, nemanipulujte uzáverom nad žiadnymi inými stojanmi na vzorky ani skúmavkami na vzorky. Skontrolujte skúmavku na vzorky. Ak sú prítomné bubliny, opatrne ich zo skúmavky na vzorky odstráňte (napríklad, použite sterilný tampón alebo podobnú metódu).

Poznámka: Ak neodstránite bubliny, môže to ovplyvniť spracovanie rozboru a spôsobiť neplatné výsledky.

- F. Umiestnite držiak stojana na stojan na vzorky a vložte stojan do prístroja.

Spracovávanie vzoriek pre preparáty odobrané pomocou odberovej súpravy na priame vloženie so zachytávacím uzáverom Hologic

- A. Po umiestnení odobraného preparátu* do odberovej súpravy na priame vloženie so zachytávacím uzáverom Hologic sa nevyžaduje žiadne ďalšie spracovávanie.

***Poznámka:** Pri testovaní zmrazených vzoriek nechajte pred spracovaním preparáty ohriať na izbovú teplotu.

- B. Aby ste predišli kontaktu s vrchom skúmavky, uvoľnite uzáver a umiestnite skúmavku na vzorky do stojana na vzorky.
- C. Odstráňte a zlikvidujte uzáver a tampón. Aby ste predišli kontaminácii, nemanipulujte uzáverom nad žiadnymi inými stojanmi na vzorky ani skúmavkami na vzorky. Skontrolujte skúmavku na vzorky. Ak sú prítomné bubliny, opatrne ich zo skúmavky na vzorky odstráňte (napríklad, použite sterilný tampón alebo podobnú metódu).

Poznámka: Ak výter nebol zachytený uzáverom, znova na skúmavku nasadzte uzáver, aby ste zaistili, že je výter zachytený a odstránený zo skúmavky. Skúmavky na priame vloženie so zachytávacím uzáverom obsahujúce výter sa nemajú vkladať do systému Panther.

Poznámka: Ak neodstránite bubliny, môže to ovplyvniť spracovanie rozboru a spôsobiť neplatné výsledky.

- D. Umiestnite držiak stojana na stojan na vzorky a vložte stojan do prístroja.

Spracovávanie preparátov pre vzorky odobraté pomocou odberovej súpravy Aptima Multitest

- A. Získajte a dodržujte pokyny pre skúmavky na lýzu preparátov Panther Fusion (krok A) alebo skúmavky na lýzu preparátov Hologic s pevným uzáverom (krok A).
- B. Pred testovaním v systéme Panther odoberte 500 µl odobratého preparátu zo skúmavky Aptima Multitest do skúmavky na lýzu preparátov Panther Fusion či skúmavky na lýzu preparátov Hologic, ako je opísané v časti spracovávania preparátov vyššie.

Uchovávanie vzoriek

- A. Vzorky v systéme Panther možno archivovať na ďalšie neskoršie testovanie.
- B. Uchovávanie vzoriek v STM pred testovaním alebo po testovaní
1. Vzorky v skúmavke Aptima Multitest, skúmavke na preparáty Aptima alebo skúmavke na priame vloženie so zachytávacím uzáverom Hologic sa majú uchovávať vo vzpriamenej polohe v stojane za nasledujúcich podmienok:
 - 2 °C až 30 °C po dobu 6 dní.
 2. Vzorky v skúmavke na lýzu preparátov možno uchovávať za nasledujúcich podmienok:
 - 15 °C až 30 °C po dobu 6 dní alebo
 - 2 °C až 8 °C, -20 °C a -70 °C po dobu až 1 mesiac.
 3. Vzorky by mali byť pokryté novým, čistým plastovým filmom alebo fóliovou bariérou.
 4. Ak sa testované vzorky musia zmraziť alebo odoslať, odstráňte priehľadný uzáver a skúmavky na vzorky opatríte novými nepreniknuteľnými uzávermi. Ak sa vzorky musia prepravovať na testovanie do iného zariadenia, musia sa dodržať odporúčané teploty. Pred odstránením uzáveru sa transportné skúmavky na preparáty musia odstreďovať 5 minút pri relatívnej odstredivej sile 420 RCF, aby sa všetka kvapalina dostala na dno skúmavky. Predchádzajte vystrekovaniu a skříženej kontaminácii.
- C. Uchovávanie preparátov pomocou obohatenej skúmavky na priame vloženie (odberová súprava RespDirect)
1. Vzorky možno uchovávať za nasledujúcich podmienok:
 - 2 °C až 30 °C po dobu 6 dní alebo
 - 2 °C až 8 °C, -20 °C a -70 °C po dobu až 1 mesiac. Cykly zmrazovania/ rozmrazovania sa majú minimalizovať kvôli možnosti degradácie vzorky.
 2. Predtým testované vzorky by mali byť pokryté novým, čistým plastovým filmom alebo fóliovou bariérou.
 3. Ak sa testované vzorky musia zmraziť alebo odoslať, odstráňte priehľadný uzáver a skúmavky na vzorky opatríte novými nepreniknuteľnými uzávermi. Ak sa vzorky musia prepravovať na testovanie do iného zariadenia, musia sa dodržať odporúčané teploty. Pred otvorením predtým testovaných a uzavretých vzoriek sa skúmavky na preparáty môžu odstreďovať 5 minút pri relatívnej odstredivej sile 420 RCF, aby sa všetka kvapalina dostala na dno skúmavky. Predchádzajte vystrekovaniu a skříženej kontaminácii.

Preprava preparátov

Zachovajte podmienky na uchovávanie, ako opisuje časť *Odber preparátov a uchovávanie na strane strana 7*.

Poznámka: Vzorky sa musia prepravovať v súlade s platnými národnými, medzinárodnými a regionálnymi usmerneniami ohľadom prepravy.

Poolovanie preparátov – stanovenie vhodnej stratégie na implementáciu a monitorovanie

Pri zvažovaní poolovania preparátov by mali laboratóriá zhodnotiť vhodnosť poolovacej stratégie na základe frekvencie positivity v testovanej populácii a účinnosti pracovného postupu poolovania.

Príprava vzoriek na poolovanie

Nasledujúce preparáty z horných dýchacích ciest sú overené na použitie s rozborom Aptima SARS-CoV-2 a možno ich testovať pomocou poolovania vzoriek: preparáty nazofaryngeálnych, orofaryngeálnych, stredomušľových a nosových výterov odobrané do média na transport preparátov (STM). Každý pool vzoriek musí obsahovať čisté, pomocou STM pripravené preparáty. Odporúčaný pracovný postup poolovania vzoriek je poskytnutý nižšie.

Preparáty sa majú odobrať do odberových skúmaviek obsahujúcich 2,9 ml STM

Pokyny na prípravu preparátov pre vzorky poolované priamo do generickej skúmavky

Pri poolovaní preparátov odobraných do 2,9 ml STM prenosom jednotlivých preparátov priamo do prázdnej skúmavky podľa špecifikácií v *príručke pre operátora systému Panther alebo Panther Fusion* vykonajte nasledujúci postup.

- A. Získajte prázdnu skúmavku kompatibilnú so systémom Panther.
- B. Stanovte vhodný objem vyžadovaný pre každý samostatný preparát na základe veľkosti zahrnutého poolu. Preparáty odobraté v 2,9 ml STM pred testovaním nevyžadujú ďalšie riedenie so STM.

Poznámka: *Odporúčaný kombinovaný objem každého samostatného preparátu závisí od rozmerov používanej skúmavky. Zástupca spoločnosti Hologic môže poskytnúť odporúčania ohľadom požiadaviek na minimálny objem na spracovávanie v systéme Panther.*

- C. Pred testovaním v systéme Panther opatrne preneste stanovený objem každého samostatného preparátu zo skúmaviek obsahujúcich 2,9 ml STM do prázdnej skúmavky.
- D. Zaistite homogénne premiešanie každého pripraveného poolu vzoriek.
- E. Ak sa to vyžaduje, odložte si samostatné preparáty na ďalšie testovanie.

Panther System

Reagencie pre rozbor Aptima SARS-CoV-2 pre systém Panther sú uvedené nižšie. Identifikačné symboly reagencie sú uvedené aj vedľa názvu reagencie.

Poskytnuté reagencie a materiály

Súprava rozboru Aptima SARS-CoV-2 PRD-06419

250 testov (2 škatule)

Chladená škatuľa Aptima SARS-CoV-2 (škatuľa 1 z 2)
(po prijatí uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo 250 testovacích súprav
A	Amplifikačná reagencia Aptima SARS-CoV-2 <i>Neinfekčné nukleové kyseliny sušené v pufrovanom roztoku obsahujúcom <5 % objemového činidla.</i>	1 liekovka
E	Enzymatická reagencia Aptima SARS-CoV-2 <i>Reverzná transkriptáza a RNA polymeráza sušené v HEPES pufrovanom roztoku obsahujúcom <10 % objemového činidla.</i>	1 liekovka
P	Sondová reagencia Aptima SARS-CoV-2 <i>Neinfekčné chemiluminiscenčné DNA sondy vysušené v sukcinátovom pufrovanom roztoku obsahujúcom <5 % detergentu.</i>	1 liekovka
IC	Interná kontrola Aptima SARS-CoV-2	1 liekovka

Škatuľa Aptima SARS-CoV-2 s izbovou teplotou (škatuľa 2 z 2)
(po prijatí uchovávať pri teplote 15 °C až 30 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo 250 testovacích súprav
AR	Amplifikačný rekonštitučný roztok Aptima SARS-CoV-2 <i>Vodný roztok obsahujúci konzervačné látky.</i>	1 x 27,7 ml
ER	Enzymatický rekonštitučný roztok Aptima SARS-CoV-2 <i>Pufrovaný roztok HEPES obsahujúci povrchovo aktívnu látku a glycerol.</i>	1 x 11,1 ml
PR	Sondový rekonštitučný roztok Aptima SARS-CoV-2 <i>Sukcinátový roztok obsahujúci <5 % detergentu.</i>	1 x 35,4 ml
S	Selekčná reagencia Aptima SARS-CoV-2 <i>600 mM boritanom pufrovaný roztok obsahuje povrchovo aktívnu látku.</i>	1 x 108 ml
TCR	Cieľová záchytná reagencia Aptima SARS-CoV-2 <i>Pufrovaný roztok solí obsahujúci pevnú fázu a záchytné oligoméry.</i>	1 x 54 ml
	Rekonštitučné prstence	3
	List hlavného čiarového kódu	1 list

Potrebné materiály dostupné samostatne

Poznámka: Materiály dostupné od spoločnosti Hologic majú uvedené katalógové čísla, pokiaľ nie je uvedené inak.

	<u>Kat. č.</u>
Panther System	303095
Súprava tekutín pre rozbor Aptima (premyývaci roztok Aptima, pufer na deaktiváciu kvapalinu Aptima a olejová reagentia Aptima)	303014 (1 000 testov)
Automatická detekčná súprava Aptima	303013 (1 000 testov)
Viacskúmavkové jednotky (MTU)	104772-02
Súprava odpadových vriec Panther	902731
Kryt odpadkového koša Panther	504405
alebo súprava chodu Panther obsahuje MTU, odpadové vrecia, kryty odpadkového koša, tekutiny rozboru a auto detekcie	303096 (5 000 testov)
Špičky, 1000 µl, filtrované, so snímaním tekutiny, vodivé a jednorazové	901121 (10612513 Tecan)
Nie všetky produkty sú dostupné vo všetkých oblastiach. Informácie špecifické pre danú oblasť vám poskytne váš zástupca.	903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Súprava kontrol Aptima SARS-CoV-2 PC – pozitívna kontrola Aptima SARS-CoV-2 Neinfekčné nukleové kyseliny v pufrovanom roztoku obsahujúcom <5 % detergentu. Množstvo 5 x 1,7 ml NC – negatívna kontrola Aptima SARS-CoV-2 Pufrovaný roztok obsahuje <5 % detergentu. Množstvo 5 x 1,7 ml	PRD-06420
Odberová súprava preparátov výterov Aptima Multitest	PRD-03546
Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit - CLASSIQSwabs	PRD-06951
Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit - FLOQSwabs	PRD-06952
Odberová súprava RespDirect spoločnosti Hologic	PRD-07403
Súprava na prenos preparátov Aptima	301154C
Súprava na prenos preparátov Aptima – tlačiteľné	PRD-05110
Odberová súprava preparátov výterov Aptima pre endocervikálne a mužské uretrálne preparáty výterov	301041
Skúmavky na lýzu preparátov Panther Fusion, 100/vrecko skúmavka obsahuje 0,71 ml STM s preniknuteľným uzáverom	PRD-04339
Skúmavky na lýzu preparátov, 100 každá skúmavka obsahuje 0,71 ml STM s pevným uzáverom	PRD-06554
Bielidlo, 5 % až 8,25 % (0,7 M až 1,16 M) roztok chlórnanu sodného	—
Jednorazové bezpráškové rukavice	—
Náhradné nepreniknuteľné uzávery	504415

	<u>Kat. č.</u>
Pevný uzáver Hologic na použitie s produktom PRD-06951* a PRD-06952*, 100 uzáverov na vrečko <i>*kryt na jednorazové použitie pre zachytávací uzáver na priame vloženie Hologic (PRD-06951 a PRD-06952) po testovaní v rámci pracovného postupu bez uzáverov</i>	PRD-07028
Náhradné uzávery pre súpravy 250 testov <i>Rekonštitučné roztoky amplifikačných a sondových reagencií</i>	—
<i>Rekonštitučný roztok pre enzymatickú reakciu</i>	CL0041 (100 uzáverov)
<i>TCR a selekčná reagentia</i>	501616 (100 uzáverov)
	CL0040 (100 uzáverov)

Voliteľné materiály

	<u>Kat. č.</u>
Zosilňovač bielidla Hologic na čistenie <i>na rutinné čistenie povrchov a zariadení</i>	302101
Trepačka skúmaviek	—
Vortex na viaceré skúmavky	102160G
Stolný vortex	—

Postup testovania systému Panther

Poznámka: Ďalšie informácie ohľadom postupov si pozrite príručku pre operátora systému Panther/Panther Fusion.

A. Príprava pracovného priestoru

Vyčistite pracovné povrchy, kde budú pripravené reagensy a vzorky. Pracovné plochy utrite 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného. Roztok chlórnanu sodného nechajte minimálne 1 minútu v kontakte s povrchmi a potom opláchnite vodou. Nedovoľte, aby roztok chlórnanu sodného vyschol. Povrch lavice, na ktorej sa pripravujú reagensy a vzorky, prikryte čistými, absorpčnými pokrývkami laboratórnych lavíc s plastovou zadnou časťou.

B. Rekonštitúcia/príprava reagensí novej súpravy

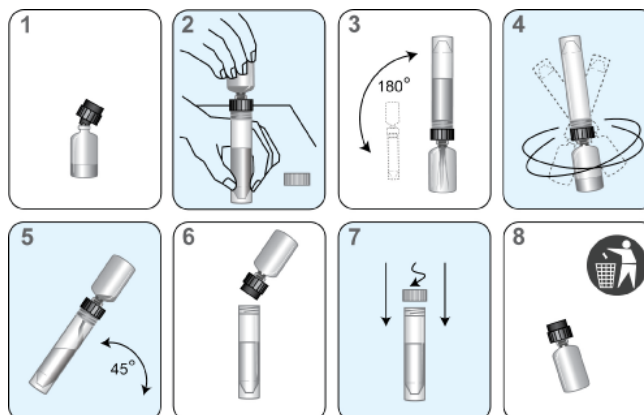
Poznámka: Rekonštitúcia reagensí sa vykoná pred začiatkom akejkoľvek práce na systéme Panther.

1. Na rekonštituovanie amplifikačných, enzýmových reagensí a reagensí sondy zmiešajte fľaše lyofilizovanej reagensie s rekonštitučným roztokom. Ak sú roztoky chladené, pred použitím nechajte rekonštitučné roztoky dosiahnuť izbovú teplotu.
 - a. Každý rekonštitučný roztok spárujte s príslušnou lyofilizovanou reagensiou. Pred pripojením rekonštitučného prstenca sa uistite, že rekonštitučný roztok a reagensia majú zodpovedajúce farby štítkov.
 - b. Skontrolujte čísla šarží na liste čiarových kódov hlavnej šarže, aby ste sa uistili, že sú spárované príslušné reagensy.
 - c. Otvorte sklenenú liekovku s lyofilizovanou reagensiou a pevne zasuňte vrúbkovaný koniec rekonštitučnej objímky do otvoru sklenenej liekovky (obrázok 1, krok 1).
 - d. Otvorte príslušný rekonštitučný roztok a nasadte uzáver na čistý, zakrytý pracovný povrch.
 - e. Kým držíte fľašu s rekonštitučným roztokom na stole, pevne zasuňte druhý koniec rekonštitučnej objímky do otvoru fľaše (obrázok 1, krok 2).
 - f. Pomaly prevráťte zostavené fľaše. Roztok sa nechajte z fľaše vyteciť do sklenenej liekovky (obrázok 1, krok 3).
 - g. Dôkladne zmiešajte roztok v sklenenej skúmavke vírením (obrázok 1, krok 4).
 - h. Počkajte, kým lyofilizovaná reagensia prejde do roztoku, potom znova obráťte zostavené fľaše a nakloňte ich v 45° uhle, aby sa minimalizovalo penenie (obrázok 1, krok 5). Nechajte všetku tekutinu odtiecť späť do fľaše s rekonštitučným roztokom.
 - i. Odstráňte rekonštitučnú objímku a sklenenú liekovku (obrázok 1, krok 6).
 - j. Uzatvorte plastovú fľašu. Na štítok zaznamenajte údaje operátora a dátum rekonštitúcie (obrázok 1, krok 7).
 - k. Rekonštitučnú objímku a sklenenú liekovku zlikvidujte (obrázok 1, krok 8).

Možnosť: Ďalšie miešanie amplifikačných, enzýmatických a sondových reagensí pomocou trepačky skúmaviek je povolené. Reagensy sa môžu zmiešavať umiestnením znova uzatvorenej plastovej fľaše na trepačku skúmaviek nastavenú na 20 RPM (alebo ekvivalent) po dobu minimálne 5 minút.

Varovanie: Pri rekonštitúcii reagensí zabráňte vzniku peny. Pena zhoršuje snímanie úrovně v systéme Panther.

Varovanie: Na dosiahnutie očakávaných výsledkov je potrebné adekvátne premiešanie testovacích reagensíí.



Obrázok 1. Postup rekonštitúcie pre systém Panther

2. Pripravte pracovnú cieľovú záchytnú reagensiu (wTCR)
 - a. Spárujte vhodné fľaše TCR a IC.
 - b. Skontrolujte čísla šarží reagensíí na liste čiarových kódov hlavnej šarže, aby ste sa uistili, že v súprave sú spárované príslušné reagensie.
 - c. Otvorte fľašu TCR a nasadte uzáver na čistý, zakrytý pracovný povrch.
 - d. Otvorte fľašu IC a celý obsah nalejte do fľaše TCR. Očakávajte, že v IC fľaši zostane malé množstvo tekutiny.
 - e. Uzavrite fľašu TCR a jemne rozkrúťte roztok, aby sa obsah premiešal. Počas tohto kroku zabráňte vytvoreniu peny.
 - f. Na štítku zaznamenajte iniciály operátora a aktuálny dátum.
 - g. Zahodte fľašu IC a uzáver.
3. Pripravte selekčnú reagensiu
 - a. Skontrolujte číslo šarže na fľaši s reagensiou, aby ste zaistili, že sa zhoduje s číslom šarže na liste čiarových kódov hlavnej šarže.
 - b. Na štítku zaznamenajte iniciály operátora a aktuálny dátum.

Poznámka: Pred naplnením do systému dôkladne premiešajte jemným prevrátením všetkých reagensíí. Počas prevrátenia reagensíí nevytvárajte penu.

C. Príprava reagensie pre predtým rekonštituované reagensie

1. Predtým rekonštituované amplifikačné, enzymatické a sondové reagensie musia dosiahnuť izbovú teplotu (15 °C až 30 °C) pred začiatkom rozboru.

Možnosť: Reagensie možno ohriať na izbovú teplotu umiestnením rekonštituovaných amplifikačných, enzymatických a sondových reagensíí na trepačku skúmaviek nastavenú na 20 RPM (alebo ekvivalent) po dobu minimálne 25 minút.

2. Ak rekonštituovaný reagenčný roztok obsahuje zrazeninu, ktorá sa pri izbovej teplote nevráti do roztoku, počas 1 až 2 minút zahrievajte uzatvorenú fľašu na teplotu, ktorá nepresiahne 62 °C. Po tomto kroku ohrievania možno sondovú reagensiu použiť aj v prípade, že v nej zostane zvyškový precipitát. Pred vložením do systému prevracaním premiešajte sondovú reagensiu. Dávajte pozor, aby ste nevytvorili penu.

3. Pred zavedením do systému jemným prevrátením dôkladne premiešajte každú reagensiu. Počas prevrátenia reagensii nevytvárajte penu. Tento krok sa nevyžaduje, ak sa reagensie vkladajú do systému priamo po miešaní na trepačke skúmaviek.
 4. Fľašky reagensii nedopĺňajte. Systém Panther rozpozná a odmietne fľaše, ktoré boli doplnené.
 5. *Na dosiahnutie očakávaných výsledkov je potrebné adekvátne premiešanie testovacích reagensii.*
- D. Zaobchádzanie s preparátmi pomocou skúmaviek na lýzu preparátov Panther Fusion alebo skúmaviek na prenos preparátov Aptima

Poznámka: *Pred vložením preparátov do systému Panther pripravte preparáty podľa pokynov na spracovávanie preparátov v časti Odber preparátov a skladovanie.*

1. Pred vložením do stojanu skúmavky so vzorkami skontrolujte. Ak skúmavka na vzorky obsahuje bubliny alebo má menší objem, ako sa typicky pozoruje, jemne poklepte na spodok skúmavky, aby ste dostali obsah na spodok.

Poznámka: *Aby sa predišlo chybe pri spracovávaní u vzoriek prenesených do skúmavky na lýzu preparátov Panther Fusion alebo skúmavky na prenos preparátov Aptima, zaistíte, že je do skúmavky pridaný adekvátny objem preparátu. Keď je do skúmavky pridaný adekvátny objem preparátu, je v nej dostatočný objem na vykonanie 3 extrakcií nukleových kyselín.*

- E. Manipulácia so vzorkami pomocou skúmavky na lýzu preparátov Hologic

1. Preparáty pripravte podľa pokynov na spracovávanie preparátov v časti *Odber preparátov a skladovanie.*

Poznámka: *Aby sa predišlo chybe pri spracovávaní v prípade vzoriek prenesených do skúmavky na lýzu preparátov Hologic, zaistíte, že je do skúmavky pridaný adekvátny objem preparátu.*

Poznámka: *Ak sa do skúmavky na lýzu preparátov Hologic (PRD-06554) pridá adekvátne odobratá vzorka, objem bude postačovať na 2 extrakcie nukleových kyselín.*

Poznámka: *Keď používate softvér na rozbor Aptima SARS-CoV-2 bez uzáverov, pred vložením pozitívnej a negatívnej kontroly do systému Panther z nich odstráňte uzávery.*

Poznámka: *V obohatenej súprave na priame vloženie (odberová súprava RespDirect) je dostatočný objem na vykonanie 4 extrakcií nukleových kyselín.*

- F. Príprava systému

1. Nastavte systém podľa pokynov uvedených v príručke pre operátora systému Panther/ Panther Fusion a v časti *Poznámky k postupu.* Uistite sa, že sú použité reagenčné stojany s vhodnou veľkosťou a adaptéry TCR.
2. Vložte vzorky.

Poznámky k postupu

- A. Kontroly

1. Aby sa zaistilo správne fungovanie so softvérom rozboru Aptima pre systém Panther, vyžaduje sa jeden pár kontrol. Pozitívne a negatívne kontroly Aptima SARS-CoV-2 možno vložiť do akejkoľvek polohy stojana alebo akéhokoľvek pruhu stojanov na vzorky v systéme Panther. Pipetovanie preparátu pacienta sa začne, keď je splnená jedna z nasledujúcich dvoch podmienok:

- a. systém aktuálne spracováva pár kontrol,
 - b. platné výsledky pre kontroly sú zaregistrované v systéme.
2. Po pipetovaní skúmaviek s kontrolami a ich spracovaní pre špecifickú súpravu reagencií sa preparáty pacientov môžu spracovať s príslušnou súpravou až 24 hodín, pokiaľ nenastane nasledujúce:
 - a. výsledky kontrol sú neplatné,
 - b. súprava pridruženej testovacej reagentie sa odstráni zo systému,
 - c. súprava pridruženej testovacej reagentie prekročila limity stability.
 3. Každá skúmavka s kontrolou Aptima sa má otestovať jedenkrát. Pokusy o pipetovanie zo skúmavky viac ako jedenkrát môžu viesť k chybám spracovania.
 4. Pipetovanie preparátu pacienta sa začne, keď je splnená jedna z nasledujúcich dvoch podmienok:
 - a. platné výsledky pre kontroly sú zaregistrované v systéme.
 - b. systém aktuálne spracováva pár kontrol.
- B. Teplota
- Teplota miestnosti je definovaná ako 15 °C až 30 °C.
- C. Prášok rukavíc
- Tak ako v každom reagenčnom systéme, prebytočný prášok na niektorých rukaviciach môže spôsobiť kontamináciu otvorených skúmaviek. Odporúčajú sa bezprašné rukavice.
- D. Protokol monitorovania kontaminácie v laboratóriu pre systém Panther
- Je mnoho pre laboratórium špecifických faktorov, ktoré môžu prispievať ku kontaminácii, vrátane testovacieho objemu, pracovného postupu, prevalencie ochorení a rôznych ďalších laboratórných aktivít. Tieto faktory sa majú zohľadniť pri stanovovaní frekvencie monitorovania kontaminácie. Interval monitorovania kontaminácie sa majú stanoviť na základe praxe a postupov každého laboratória.
- Za účelom monitorovania kontaminácie v laboratóriu možno pomocou súpravy na odber preparátov výterov Aptima pre endocervikálne a mužské uretrálne preparáty výterov vykonať nasledujúci postup:
1. Označte skúmavky na prenos preparátov číslami zodpovedajúcimi oblastiam, ktoré chcete testovať.
 2. Vyberte tampón na odber preparátov (modré držadlo so zeleným nápisom) z obalu, namočte ho do média na transport preparátu (STM) a krúživým pohybom vytrite určené miesto.
 3. Okamžite tampón vložte do transportnej skúmavky.
 4. Opatrne zlomte držadlo tampónu na čiare skóre. Dávajte pozor, aby ste predišli vystreknutiu obsahu.
 5. Znova pevne nasadzte uzáver na transportnú skúmavku.
 6. Zopakujte kroky 2 až 5 pre každú vytieranú oblasť.
- E. Ak sú výsledky pozitívne, pozrite si časť *Interpretácia výsledkov*. Ďalšie informácie o monitorovaní kontaminácie špecifické pre systém získate od technickej podpory spoločnosti Hologic.

Kontrola kvality

Chod alebo výsledok preparátu môže byť zneplatnený systémom Panther, ak sa počas vykonávania rozboru vyskytnú problémy. Preparáty s neplatnými výsledkami je nutné otestovať znova.

Negatívne a pozitívne kontroly

Aby sa vygenerovali platné výsledky, musí sa otestovať súprava kontrol rozboru. Jeden replikát negatívnej kontroly rozboru a pozitívnej kontroly rozboru sa musí otestovať vždy, keď sa do systému Panther vloží nová súprava alebo expiruje aktuálna súprava platných kontrol.

Systém Panther je nakonfigurovaný tak, aby vyžadoval chod kontrol rozboru v správcom špecifikovanom intervale až do 24 hodín. Softvér v systéme Panther upozorní operátora, keď sa vyžaduje kontrola rozboru, a nezačne nové testy, kým nebudú vložené kontroly rozboru a nezačnú sa spracovávať.

Počas spracovávania systém Panther automaticky overí kritériá prijateľnosti kontrol rozboru. Aby sa vygenerovali platné výsledky, kontroly rozboru musia prejsť sériou kontrol validity vykonaných systémom Panther.

Ak kontroly rozboru splnia všetky kontroly validity, považujú sa za platné počas časového intervalu špecifikovaného správcom. Po uplynutí časového intervalu kontroly rozboru systém Panther expiruje, čo vyžaduje testovanie nového súboru kontrol pred testovaním akýchkoľvek nových vzoriek.

Ak niektorá z kontrol rozboru pri kontrolách validity zlyhá, systém Panther automaticky zneplatní zasiahnuté vzorky a vyžaduje testovanie nového súboru kontrol rozboru pred začiatkom analýzy akýchkoľvek nových vzoriek.

Interná kontrola

Interná kontrola sa pridáva do každej vzorky s wTCR. Počas spracovávania sa kritériá prijateľnosti internej kontroly automaticky overia softvérom systému Panther. Detekcia internej kontroly sa nevyžaduje u vzoriek pozitívnych na SARS-CoV-2. Interná kontrola musí byť detegovaná vo všetkých vzorkách, ktoré sú negatívne na ciele SARS-CoV-2. Vzorky, ktoré nespĺnia tieto kritériá, budú hlásené ako neplatné. Všetky vzorky s neplatnými výsledkami je nutné otestovať znova.

Systém Panther je navrhnutý na presnú verifikáciu procesov, keď sa vykonávajú postupy podľa pokynov poskytnutých v tomto príbalovom letáku a *príručke pre operátora systému Panther/ Panther Fusion*.

Interpretácia výsledkov

Systém Panther automaticky stanoví výsledky testov pre vzorky a kontroly. Výsledok testu môže byť negatívny, pozitívny alebo neplatný.

Tabuľka 1 zobrazuje možné výsledky hlásené v platnom chodu s interpretáciami výsledkov.

Tabuľka 1: Interpretácia výsledku

Výsledok SARS-CoV-2	Výsledok IC	Interpretácia
Neg	Platný	Vírus SARS-CoV-2 nebol detegovaný.
POZ	Platný	Vírus SARS-CoV-2 bol detegovaný.
Neplatný	Neplatný	Neplatný. Došlo k chybe pri generovaní výsledku, vzorku otestujte znova.

Poznámka: Detekcia internej kontroly sa nevyžaduje u vzoriek pozitívnych na SARS-CoV-2.

Interpretácia výsledkov pre poolované vzorky

Negatívne: Negatívne výsledky z testovania poolovaných vzoriek sa nemajú považovať za definitívne. Ak sú príznaky a prejavy pacienta v nesúlade s negatívnym výsledkom a ak sú výsledky potrebné na manažment pacienta, má sa zväžiť individuálne testovanie pacienta. Použitie poolovania vzoriek by malo byť indikované pre akékoľvek preparáty s hlásenými negatívnymi výsledkami.

Pozitívne: Preparáty zahrnuté v pooloch vzoriek s pozitívnym výsledkom musia byť pred hlásením výsledku otestované jednotlivo. Preparáty s nízkou vírusovou náložou nemusia byť v pooloch vzoriek detegované kvôli zníženej citlivosti poolovaného testovania.

Neplatné: Pred oznámením výsledku sa musia preparáty s neplatným výsledkom individuálne otestovať. V prípadoch neplatných chodov však môže byť vhodné testovanie poolovaných vzoriek v závislosti od laboratórneho pracovného postupu a vyžadovaného času hlásenia výsledkov.

Obmedzenia

- A. Použitie tohto rozboru je limitované na personál, ktorý je vyškolený ohľadom postupu. Ak nedodržíte tieto pokyny, môže to viesť k chybným výsledkom.
- B. Spoľahlivé výsledky závisia od adekvátneho odberu preparátov, transportu, uchovávania a spracovania.
- C. Predchádzajte kontaminácii dodržiavaním správnej laboratórnej praxe a postupov špecifikovaných v tomto príbalovom letáku.
- D. Pozitívny výsledok určuje detekciu nukleovej kyseliny relevantného vírusu. Nukleová kyselina môže pretrvávať aj po tom, čo vírus už nie je životaschopný.
- E. Použitie rozboru Aptima SARS-CoV-2 u všeobecnej, asymptomatickej skriningovej populácie je určené na použitie ako súčasť plánu kontroly infekcie, ktorý môže zahŕňať ďalšie preventívne opatrenia, ako je vopred definovaný plán sériových testov alebo priame testovanie vysokorizikových osôb. Negatívne výsledky by sa mali považovať za predpokladané a nevylučujú súčasnú ani budúcu infekciu získanú komunitným prenosom alebo prostredníctvom iných expozícií. Negatívne výsledky sa musia vziať do úvahy v kontexte nedávnych expozícií, anamnézy a prítomnosti klinických prejavov a príznakov jednotlivca v súlade s ochorením COVID-19.
- F. Asymptomatickí jedinci infikovaní COVID-19 nemusia vylučovať dostatok vírusu, aby dosiahli hranicu detekcie testu, čo vedie k falošne negatívnemu výsledku.
- G. Pri absencii príznakov je ťažké určiť, či boli asymptomatickí jedinci testovaní príliš neskoro alebo príliš skoro. Negatívne výsledky u asymptomatických jedincov preto môžu zahŕňať jedincov, ktorí boli testovaní príliš skoro a môžu sa neskôr stať pozitívnymi, jedincov, ktorí boli testovaní príliš neskoro a môžu mať sérologické dôkazy o infekcii, alebo jedincov, ktorí nikdy neboli infikovaní.
- H. Nasledujúce typy VTM/UTM boli validované.
- Formulácie Remel MicroTest M4, M4RT, M5 alebo M6
 - Univerzálne transportné médium Copan
 - Univerzálne vírusové transportné médium BD

Poznámka: V prístroji nepoužívajte médiá, ktoré môžu obsahovať guanidínumtiokyanát, ani akékoľvek materiály obsahujúce guanidín.

Výkon rozboru Panther SARS-CoV-2

Analytická citlivosť

Analytická citlivosť (limit detekcie alebo LoD) rozboru testu Aptima SARS-CoV-2 assay bola stanovená testovaním sériových riedení spracovaných negatívnych klinických preparátov nazofaryngeálnych výterov UTM/VTM naočkovaných inaktivovaným kultivovaným vírusom SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020; zdroje BEI; NR-52281) a medzinárodným štandardom WHO pre SARS-CoV-2 (NIBSC 20/146). Pre nakultivovaný vírus. Desať replikátov každého sériového riedenia bolo hodnotených pomocou každej z dvoch šarží reagencií na rozbor dvoch systémoch Panther. Stanovilo sa, že LoD je 0,01 TCID₅₀/ml v testovanej vzorke, a overilo sa to testovaním ďalších 20 replikátov s jednou šaržou reagencie na rozbor. LoD bol tiež potvrdený pomocou médií na odber výteru: fyziologického roztoku, tekutého Amiesovho média a média na prenos preparátov (STM). Pre medzinárodný štandard WHO bolo testovaných minimálne 24 replikátov pomocou každej z troch šarží reagencií s použitím analýzy Probit pre každú šaržu a výsledky boli potvrdené pomocou ďalších 24 replikátov a jednej šarže. Najnižšia koncentrácia, pri ktorej bola testovaná detekcia ≥ 95 %, bola 87,5 IU/ml (224 IU/ml v čistej, nespracovanej vzorke). Potvrdenie LoD sa tiež vykonalo pomocou odberovej súpravy RespDirect s dvadsiatimi štyrmi replikátmi a jednou šaržou reagencie. Detekcia ≥ 95 % bola pozorovaná pri 27,7 – 87,5 IU/ml.

Na stanovenie analytickej citlivosti rozboru Aptima SARS-CoV-2 s použitím preparátov slín sa uskutočnila podobne navrhnutá štúdia. Zoskupená negatívna matica klinického preparátu slín bola obohatená inaktivovaným kultivovaným vírusom SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020, zdroje BEI: NR-52281). Stanovilo sa, že LoD je 0,01 TCID₅₀/ml v testovanej vzorke, čo zodpovedá koncentrácii 0,13 TCID₅₀/ml v odobratom preparáte slín.

Analytická citlivosť rozboru Aptima SARS-CoV-2 bola ďalej hodnotená pomocou referenčných materiálov od troch komerčných predajcov. Sériové riedenia referenčných materiálov boli vykonané v STM a bolo testovaných 20 alebo viac replikátov na každej úrovni pomocou každej z dvoch šarží reagencií rozboru na dvoch systémoch Panther. Referenčné materiály a najnižšie úrovne riedenia vedúce k ≥ 95 % detekcii sú uvedené v tabuľke 2.

Tabuľka 2: Hodnotenie analytickej citlivosti pomocou komerčných referenčných materiálov

Predajca	Názov	Referenčné č.	Č. šarže	Analytická citlivosť
ZeptoMetrix	Kontrola externého chodu SARS-CoV-2	NATSARS(COV2)-ERC	324332	83 kópií/ml
SeraCare	AccuPlex Referenčný materiál SARS-Cov-2	0505-0126	10483977	83 kópií/ml
Exact Diagnostic	Štandard SARS-CoV-2	COV019	20033001	83 kópií/ml

Analytická citlivosť s použitím pracovného postupu so skúmavkou na prenos preparátov Aptima

Stanovená analytická citlivosť 0,01 TCID₅₀/ml (limit detekcie) rozboru Aptima SARS-CoV-2 bol potvrdený pomocou pracovného postupu prípravy preparátu pomocou skúmavky na prenos preparátov Aptima. Potvrdenie sa vykonalo pomocou inaktivovaného kultivovaného vírusu SARS-CoV-2 (USA-QA1/2020; zdroje BEI; NR-52281) v negatívnych klinických nazofaryngeálnych (NP) výteroch, v médiách na odber výteru: vo fyziologickom roztoku, tekutom Amiesovom médiu a médiu na prenos preparátov (STM) testovaním 20 replikátov pomocou jednej šarže reagencií (tabuľka 3).

Tabuľka 3: Potvrdenie LoD s použitím pracovného postupu s prenosom preparátov Aptima

Cieľ	Matrica	N platných	N pozitívnych	% pozitívnych	Priemer kRLU	SO kRLU	% KV
Inaktivovaný vírus SARS-CoV-2	NP tampón	20	20	100 %	1 063	61	5,8 %
	STM	20	20	100 %	1 064	116	10,9 %
	Fyziologický roztok	20	20	100 %	1 102	60	5,4 %
	Tekuté Amiesovo médium	20	20	100 %	1 101	51	4,7 %

Inkluzivita

Inkluzivita rozboru Aptima SARS-CoV-2 bola hodnotená pomocou *in silico* analýzy cieľových záchytných oligomérov, amplifikačných primerov a detekčných sond rozboru vo vzťahu k dostupným 9 896 sekvenciám vírusu SARS-CoV-2 dostupných v génových databázach NCBI a GISAID. Akákoľvek sekvencia s chýbajúcimi alebo nejednoznačnými sekvenčnými informáciami bola odstránená z analýzy, čo viedlo k hodnoteniu 9 879 sekvenciám hodnoteným pre prvú cieľovú oblasť rozboru a 9 880 pre druhú cieľovú oblasť rozboru. Táto *in silico* analýza ukázala 100 % homológiu oligomérov analýzy oboch cieľových systémov pre 9 749 (98,5 %) hodnotených sekvencií a 100 % homológiu s oligoméromi rozboru aspoň jedného cieľového systému pre 9 896 sekvencií. Neboli žiadne hodnotené sekvencie s identifikovanými predpovedanými nezhodami, ktoré by ovplyvnili väzbu alebo výkon žiadneho z cieľových systémov.

Analytická špecificita a mikrobiálna interferencia

Analytická špecificita rozboru Aptima SARS-CoV-2 bola hodnotená testovaním 30 mikroorganizmov zastupujúcich bežné respiračné patogény alebo blízko príbuzné druhy (tabuľka 4). Baktérie boli testované v koncentrácii 10⁶ CFU/ml a vírusy 10⁵ TCID₅₀/ml, ak nie je uvedené inak. Mikroorganizmy boli testované s prítomnosťou inaktivovaného vírusu SARS-CoV-2 a bez nej pri 3 x LoD. Analytická špecificita rozboru Aptima SARS-CoV-2 bola 100 % bez známok mikrobiálnej interferencie.

Okrem testovania mikroorganizmov sa vykonala *in silico* analýza hodnotiaca špecificitu rozboru vo vzťahu k mikroorganizmom uvedeným v tabuľke 4. *In silico* analýza neukázala žiadnu pravdepodobnú skríženú reaktivitu s akýmikoľvek zo 112 hodnotenými sekvenciami z databázy GenBank.

Tabuľka 4: Analytická špecificita a mikrobiálna interferencia rozboru Aptima SARS-CoV-2 Mikroorganizmy

Mikroorganizmus	Koncentrácia	Mikroorganizmus	Koncentrácia
Ľudský koronavírus 229E	1E + 5 TCID ₅₀ /ml	Vírus parachrípky 1	1E + 5 TCID ₅₀ /ml
Ľudský koronavírus OC43	1E + 5 TCID ₅₀ /ml	Vírus parachrípky 2	1E + 5 TCID ₅₀ /ml
Ľudský koronavírus HKU1 ¹	1E + 6 kópii/ml	Vírus parachrípky 3	1E + 5 TCID ₅₀ /ml
Ľudský koronavírus NL63	1E + 4 TCID ₅₀ /ml	Vírus parachrípky 4	1E + 3 TCID ₅₀ /ml
Koronavírus SARS ¹	1E + 6 kópii/ml	Vírus chrípky typu A	1E + 5 TCID ₅₀ /ml
Koronavírus MERS	1E + 4 TCID ₅₀ /ml	Vírus chrípky typu B	2E + 3 TCID ₅₀ /ml
Adenovírus (napr. C1 Ad. 71)	1E + 5 TCID ₅₀ /ml	Enterovírus (napr. EV68)	1E + 5 TCID ₅₀ /ml
Ľudský metapneumovírus (hMPV)	1E + 6 TCID ₅₀ /ml	Rhinovírus	1E + 4 TCID ₅₀ /ml
Respiračný syncytiálny vírus	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
Poolovaný ľudský výplach z nosa ² – reprezentácia rôznej mikrobiálnej flóry v ľudských dýchacích cestách	Nevzťahuje sa		

¹ Kultivovaný vírus a celogenómová purifikovaná nukleová kyselina ľudských koronavírusov HKU1 a SARS nie je bežne dostupná. IVT koronavírusov HKU1 a SARS zodpovedajúce oblastiam génu ORF1ab, ktoré sú cieľom rozboru, sa použili na hodnotenie skříženej reaktivity a mikrobiálnej interferencie.

² Miesto hodnotenia poolovaných ľudských výplachov nosa sa vykonalo testovanie 30 samostatných negatívnych klinických NP výterov za účelom zastúpenia rôznej mikrobiálnej flóry v ľudských dýchacích cestách.

Ekvivalencia odberových pomôcok

Ekvivalencia medzi nazofaryngeálnymi preparátmi odobranými do VTM/UTM a nazofaryngeálnymi a nosovými preparátmi odobranými do súpravy RespDirect (eSTM) bola hodnotená testovaním jednotlivých negatívnych preparátov a cieľenými pozitívnymi panelmi pripravenými zo spárovaných negatívnych klinických preparátov nazofaryngeálnych a nosových výterov odobraných pacientom s príznakmi respiračnej infekcie. Cieľené panely boli pripravené naočkovaním spárovaných nazofaryngeálnych a nosových preparátov od jednotlivých darcov s medzinárodným štandardom WHO pre SARS-CoV-2 pri 2 x a 5 x LoD.

Výsledky negatívnych a cieľených panelov preukázali podobnú zhodu medzi dvoma odberovými pomôckami a typmi vzoriek (Tabuľka 5).

Tabuľka 5: Výsledky pre negatívne a cieľené panely pozostávajúce zo spárovaných jednotlivých klinických preparátov odobraných pomocou každej z odberových pomôcok a naočkované SARS-CoV-2

Analyt	Koncentrácia vzorky	N na odberovú pomôcku	VTM/UTM % zhody	RespDirect – nazofaryngeáln e % zhody	% zhoda pre RespDirect – nosový
Žiadna (Negatívna vzorka)	0	150	99,3	97,3	100
SARS-CoV-2	2 x LoD	50	100	100	100
	5 x LoD	50	100	100	100

Klinický výkon

Klinický výkon pri preparátoch nazofaryngeálnych výterov pomocou UTM/VTM

Klinický výkon rozboru Aptima SARS-CoV-2 bol hodnotený v porovnaní s rozborom Panther Fusion SARS-CoV-2 (Hologic, Inc.) pomocou panelu so zvyškovými klinickými preparátmi. Za účelom tejto štúdie boli odobrané zvyškové nazofaryngeálne klinické preparáty od pacientov z USA, ktorí mali príznaky a prejavy respiračných infekcií.

Vypočítali sa pozitívna percentuálna zhoda (PPA) a negatívna percentuálna zhoda (NPA) vo vzťahu k rozboru Panther Fusion ako referenčnému výsledku, ako uvádza tabuľka 6. Rozbor Aptima SARS-CoV-2 vykázal pozitívnu zhodu 100 % a negatívnu zhodu 98,2 %.

Nazofaryngeálny výplach/aspirát, nosové aspiráty, nosové výtery a stredomušľové nosové výtery sú prijateľnými preparátmi na testovanie vírusových respiračných infekcií. Výkon rozboru SARS-CoV-2 s týmito typmi preparátov však nebol špecificky hodnotený.

Tabuľka 6: Klinická zhoda rozboru Aptima SARS-CoV-2

		Rozbor Panther Fusion SARS-CoV-2	
		Pozitívne	Negatívne
Aptima Rozbor SARS-CoV-2	Pozitívne	50	1
	Negatívne	0	54

Pozitívna zhoda v percentách: (95 % CI): 100 % (92,9 % – 100 %)

Negatívna zhoda v percentách: (95 % CI): 98,2 % (90,4 % – 99,7 %)

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

Klinický výkon pri preparátoch výterov z prednej strany nosa odobraných pomocou odberovej súpravy RespDirect

V tomto multicentrickom klinickom skúšaní bol hodnotený klinický výkon rozboru testu Aptima SARS-CoV-2 assay pri preparátoch výterov z prednej strany nosa (ANS) odobraných pomocou odberového tampónu RespDirect v obohatenom médiu na transport preparátu (eSTM) od jedincov, ktorí hlásili príznaky respiračnej infekcie konzistentné s COVID-19. Od každého účastníka boli prospektívne odobrané dva preparáty: jeden preparát do vírusového transportného média (VTM) odobraný kvalifikovaným zdravotníkom pomocou štandardného tampónu a jeden preparát v súprave RespDirect eSTM odobraný zdravotníkom alebo pacientom (pod dohľadom zdravotníka) pomocou odberového tampónu RespDirect. Všetky preparáty výterov ANS zahrnuté do tejto štúdie boli odobrané medzi januárom 2023 a februárom 2023.

Všetky preparáty ANS v súprave RespDirect eSTM boli testované pomocou rozboru Aptima SARS-CoV-2 na troch klinických testovacích pracoviskách v USA. Všetky preparáty ANS vo VTM boli testované pomocou dvoch EUA NAAT na stanovenie stavu infekcie SARS-CoV-2 na základe kompozitného porovnávacieho algoritmu. Každá vzorka, ktorá bola pozitívna pri niektorom z porovnávacích rozborov, priniesla pozitívny stav infekcie SARS-CoV-2. Na získanie negatívneho stavu infekcie SARS-CoV-2 museli byť výsledky oboch porovnávacích rozborov negatívne. S ohľadom na stav infekcie SARS-CoV-2 bola vypočítaná pozitívna (PPA) a negatívna (NPA) percentuálna zhoda.

Celkové PPA a NPA boli 96,1 % a 97,1 % (v tomto poradí) pre rozbor Aptima SARS-CoV-2 pre vzorky ANS odobrané do súpravy RespDirect eSTM u asymptomatických jedincov, ako je uvedené v tabuľke Tabuľka 7. Ct hodnoty pre vzorky výterov ANS s pozitívnym stavom infekcie SARS-CoV-2 boli v rozsahu 18,18 a 35,71 (priemer: 27,14) pre NAAT 1, 15,3 a 44,5 (priemer: 26,50) pre NAAT 2. Päť preparátov ANS s falošne pozitívnymi výsledkami nebolo znova testovaných pomocou alternatívnej NAAT.

Tabuľka 7: Klinický výkon pre preparáty ANS v súprave RespDirect eSTM

	Stav infekcie SARS-CoV-2	
	Pozitívne	Negatívne
	Pozitívne	49
	Negatívne	5
Celkom	Pozitívne	2
	Negatívne	169
	PPA: 96,1% (86,8% – 98,9%)	
	NPA: 97,1% (93,5% – 98,8%)	

Klinický výkon s vyrobeným (contrived) panelom

Klinický výkon rozboru Aptima SARS-CoV-2 bol hodnotený pomocou pracovného postupu prípravy preparátov pomocou skúmavky na prenos preparátov Aptima v porovnaní s panelom vyrobených preparátov. Za účelom tejto štúdie bol testovaný panel 115 zvyškových klinických nazofaryngeálnych preparátov pomocou pracovných postupov s využitím skúmaviek na lýzu preparátov Panther Fusion (skúmavka na lýzu preparátov) aj skúmaviek na prenos preparátov Aptima. Všetky preparáty boli odobrané od pacientov z USA, ktorí mali príznaky a prejavy respiračných infekcií. Panel pozostával zo 65 preparátov pozitívnych ohľadom SARS-CoV-2 a 50 preparátov negatívnych ohľadom SARS-CoV-2. Zo 65 pozitívnych preparátov bolo 40 s koncentraciami 0,5 – 2 x LoD a 25 s koncentraciami 3 – 5 x LoD s použitím inaktivovaného kultivovaného vírusu SARS-CoV-2 (USA-QA1/2020; zdroje BEI; NR-52281) ako cieľa.

Pozitívna percentuálna zhoda (PPA) a negatívna percentuálna zhoda (NPA) pre oba pracovné postupy prípravy preparátov boli vypočítané vo vzťahu k očakávanému výsledku panela vyrobených preparátov, ako uvádzajú tabuľka 8 pre skúmavku na prenos preparátov Aptima a tabuľka 9 pre skúmavku na lýzu preparátov. Charakteristiky detekcie pre vyrobené preparáty boli vypočítané podľa cieľovej koncentrácie, ako uvádza tabuľka 10. Oba pracovné postupy prípravy preparátov vykázali 100 % zhodu pre hodnotené panely.

Tabuľka 8: Výkon pracovného postupu so skúmvkou na prenos preparátov Aptima relatívne voči očakávaným výsledkom

		Očakávaný výsledok		
		Pozitívne	Negatívne	Spolu
Výsledok prenosu preparátov Aptima	Pozitívne	65	0	65
	Negatívne	0	50	50
	Spolu	65	50	115

Celková zhoda: 100 % (96,8 % – 100 %)

Pozitívna zhoda: 100 % (94,4 % – 100 %)

Negatívna zhoda: 100 % (92,9 % – 100 %)

Tabuľka 9: Výkon pracovného postupu so skúmvkou na lýzu preparátov relatívne voči očakávaným výsledkom

		Očakávaný výsledok		
		Pozitívne	Negatívne	Spolu
Výsledok skúmvky na lýzu preparátov	Pozitívne	65	0	65
	Negatívne	0	50	50
	Spolu	65	50	115

Celková zhoda: 100 % (96,8 % – 100 %)

Pozitívna zhoda: 100 % (94,4 % – 100 %)

Negatívna zhoda: 100 % (92,9 % – 100 %)

Tabuľka 10: Charakteristiky detekcie pre vyrobené preparáty nazofaryngeálnych výterov

Cieľ. konc.	Pracovný postup so skúmvkou na prenos preparátov Aptima						Pracovný postup so skúmvkou na lýzu preparátov					
	n Platné	n Pozitívne	% Pozitívne	Priemer kRLU	SO kRLU	% KV	n Platné	n Pozitívne	% Pozitívne	Priemer kRLU	SO kRLU	% KV
Neg	50	0	0	299	9,7	3,2	50	0	0	300	9,3	3,1
0,5 x LoD	10	10	100	1 050	208,5	19,9	10	10	100	1 153	113,0	9,8
1,0 x LoD	10	10	100	1 176	102,1	8,7	10	10	100	1 205	24,3	2,0
1,5 x LoD	10	10	100	1 222	31,6	2,6	10	10	100	1 223	21,9	1,8
2,0 x LoD	10	10	100	1 225	22,6	1,8	10	10	100	1 237	26,0	2,1
3,0 x LoD	10	10	100	1 228	13,6	1,1	10	10	100	1 215	25,5	2,1
4,0 x LoD	5	5	100	1 238	16,7	1,4	5	5	100	1 212	12,5	1,0
5,0 x LoD	10	10	100	1 237	18,2	1,5	10	10	100	1 246	28,3	2,3

Klinický výkon s prirodzene infikovanými pozitívnymi preparátmi

Klinický výkon rozboru Aptima SARS-CoV-2 pomocou pracovného postupu s využitím skúmavky na prenos preparátov Aptima bol hodnotený v porovnaní s pracovným postupom s využitím skúmavky na lýzu preparátov testovanými v rozboroch SARS-CoV-2 Aptima aj Panther Fusion. Za účelom štúdie boli pripravené tri riedenia 15 jedinečných preparátov nazofaryngeálneho výteru s pozitivitou na SARS-CoV-2 a boli spracované pomocou oboch pracovných postupov. Vzorky SARS-CoV-2 boli predtým stanovené ako pozitívne pomocou molekulárnej analýzy inej ako od spoločnosti Hologic.

Pozitívna percentuálna zhoda medzi rozborom Aptima SARS-CoV-2 s pracovnými postupmi využívajúcimi skúmavky na prenos preparátov Aptima a skúmavky na lýzu preparátov bola pri porovnaní s rozborom Panther Fusion SARS-CoV-2 s pracovným postupom využívajúcim skúmavku na lýzu preparátov ako referenciu 97,5 % (87,1 % – 99,6 %), resp. 100 % (91,0 % – 100 %). Pozitívna percentuálna zhoda pracovného postupu s využitím skúmavky na prenos preparátov Aptima bola v porovnaní s pracovným postupom s využitím skúmavky na lýzu preparátov ako referencie 95,0 % (83,5 % – 98,6 %).

Klinická účinnosť s preparátmi slín

Klinická účinnosť rozboru Aptima SARS-CoV-2 s preparátmi slín sa hodnotila v porovnaní s preparátmi NP výteru u 303 súčasne testovaných účastníkov. 303 účastníkov zahŕňalo 160 (52,8 %) s miernou symptomatickou a 143 (47,2 %) asymptomatických osôb v čase testovania. Dohoda o pozitívnej percentuálnej zhode (PPA) a negatívnej percentuálnej zhode (NPA) pre preparáty slín bola vypočítaná vo vzťahu k preparátom z NP výteru ako referenčný výsledok, ako je uvedené v tabuľke 11. Rozbor Aptima SARS-CoV-2 vykazoval pozitívne a negatívne dohody medzi typmi preparátov s hodnotami 87,0 % a 99,2 % v tomto poradí.

Tabuľka 11: Klinická dohoda rozboru Aptima SARS-CoV-2 medzi preparátmi zo slín a NP výterov

		NP výter	
		Pozitívne	Negatívne
Sliny	Pozitívne	47	2
	Negatívne	7	245

Poznámka: 2 preparáty vykazovali neplatné výsledky.

Pozitívna zhoda v percentách: (95 % CI): 87,0 % (83,0 % – 96,0 %)

Negatívna zhoda v percentách: (95 % CI): 99,2 % (97,1 % – 99,9 %)

Klinická účinnosť u asymptomatických jedincov

Klinická účinnosť rozboru Aptima SARS-CoV-2 u jedincov bez prejavov a príznakov respiračnej infekcie (asymptomatickí jedinci) sa hodnotila v porovnaní s molekulárnym rozborom EUA. Pomocou porovnávacieho rozboru EUA sa vyhodnotili prospektívne odobraté preparáty z nazofaryngeálneho výteru od pacientov z USA vrátane 45 preparátov pozitívnych na vírus SARS-CoV-2 a 315 preparátov negatívnych na vírus SARS-CoV-2. PPA a NPA boli vypočítané vo vzťahu k výsledkom porovnávacieho rozboru EUA. PPA a NPA boli 100 % a 96,5 % (v tomto poradí) pre rozbor Aptima SARS-CoV-2 u asymptomatických jedincov, ako je uvedené v tabuľke 12.

Tabuľka 12: Klinická zhoda u preparátov z NP výteru od asymptomatických jedincov

Rozbor Aptima SARS-CoV-2	Rozbor EUA		
		Pozitívne	Negatívne
Pozitívne		45	11
Negatívne		0	304

Pozitívna percentuálna zhoda (PPA): 100 % (92,1 % – 100 %)

Negatívna percentuálna zhoda (NPA): 96,5 % (93,9 % – 98,0 %)

Šesť (6) z 11 preparátov NP výterov s falošne pozitívnymi výsledkami bolo potvrdených ako pozitívne po opätovnom testovaní porovnávacím rozborom EUA. Hodnoty Ct pre týchto 6 vzoriek sa pohybovali medzi 35,5 a 38,9, čo naznačuje nízku vírusovú nálož.

Klinický výkon poolovania až 5 preparátov pred testovaním

Klinický výkon rozboru Aptima SARS-CoV-2 bol hodnotený v pooloch pozostávajúcich až z 5 preparátov. Za účelom štúdie bola hodnotená veľkosť poolu s 5 preparátmi a zahrnutí sa pozitívne aj negatívne pooly preparátov. Každý pozitívny pool preparátov obsahoval jeden pozitívny preparát a ostatné negatívne, pričom negatívne pooly obsahovali len negatívne preparáty. Za účelom štúdie bolo hodnotených 50 pozitívnych a 20 negatívnych poolov preparátov. Pozitívne preparáty použité v štúdiu pokryli detegovateľný rozsah rozboru a zahŕňali 20 % preparátov s nízkou pozitivitou. Preparáty na inklúziu do štúdie klinického výkonu poolovania boli vybrané na základe výsledkov Ct získaných pomocou rozboru Panther Fusion SARS-CoV-2. Rozbor Panther Fusion SARS-CoV-2 sa použil na tento účel z dôvodu, že rozbor Panther Fusion SARS-CoV-2 a Aptima SARS-CoV-2 majú rovnaký LoD pri hodnotení pomocou referenčného panela FDA (t. j., 600 NDU/ml). Preparáty s nízkou pozitivitou zahrnuté v štúdiu boli definované ako majúce hodnotu Ct do 1 – 2 Ct LoD rozboru Panther Fusion SARS-CoV-2. Poolované aj samostatné preparáty boli hodnotené pomocou rozboru Aptima SARS-CoV-2.

Vypočítali sa pozitívna percentuálna zhoda (PPA) a negatívna percentuálna zhoda (NPA) vo vzťahu k očakávanému (jednotlivému) výsledku, ako uvádza tabuľka Tabuľka 13. Všetky hodnotené pozitívne preparáty dosiahli pozitívny výsledok v poole. Keďže hodnoty kRLU pre rozbor Aptima nezodpovedajú cieľovej koncentrácii, signálu a in silico citlivosti, analýza nebola vykonaná.

Tabuľka 13: Zhoda samostatných a poolovaných preparátov pri veľkosti poolu 5

Výsledok poolu 5 preparátov	Samostatný výsledok preparátu			
		Pozitívne	Negatívne	Spolu
Pozitívne		50	0	50
Negatívne		0	20	20
Spolu		50	20	70

Celková zhoda: 100 % (94,8 % – 100,0 %)

Pozitívna zhoda: 100 % (92,9 % – 100,0 %)

Negatívna zhoda: 100 % (83,9 % – 100,0 %)

Klinická účinnosť zoskupenia až 5 preparátov asymptomatických pacientov pred testovaním

Klinická účinnosť rozboru Aptima SARS-CoV-2 sa hodnotila v skupinách preparátov s preparátmi odobratými od asymptomatických pacientov. Veľkosti skupiny až 5 preparátov sa hodnotili s pozitívnymi aj negatívnymi preparátmi asymptomatických pacientov. Každá pozitívna skupina preparátov obsahovala jeden pozitívny preparát a ostatné negatívne preparáty, pričom negatívne skupiny preparátov obsahovali len negatívne preparáty. Pre veľkosť skupiny troch sa hodnotilo 32 pozitívnych a 32 negatívnych skupín preparátov. Pre veľkosť skupiny štyroch sa hodnotilo 36 pozitívnych a 31 negatívnych skupín preparátov. Pre veľkosť skupiny piatich sa hodnotilo 36 pozitívnych a 30 negatívnych skupín preparátov. Pozitívne preparáty použité v štúdiu pokrývali detegovateľný rozsah rozboru a každá veľkosť skupiny obsahovala 25 % nízko pozitívnych preparátov. Preparáty zahrnuté do štúdie klinickej účinnosti boli vybrané na základe výsledkov Ct získaných pomocou rozboru Panther Fusion SARS-CoV-2. Rozbor Panther Fusion SARS-CoV-2 sa použil na tento účel, keďže rozbor Panther Fusion SARS-CoV-2 a Aptima SARS-CoV-2 majú rovnakú hodnotu LoD pri vyhodnotení na referenčnom paneli FDA (t. j. 600 NDU/ml). Preparáty s nízkou pozitívnosťou zahrnuté v štúdiu boli definované ako majúce hodnotu Ct do 1 – 2 Ct LoD rozboru Panther Fusion SARS-CoV-2. Zoskupené aj samostatné preparáty boli hodnotené pomocou rozboru Aptima SARS-CoV-2.

Pozitívna percentuálna zhoda (PPA) a negatívna percentuálna zhoda (NPA) boli vypočítané vo vzťahu k očakávanému (individuálnemu) výsledku pre každú hodnotenú veľkosť skupiny, ako je uvedené v tabuľke 14, tabuľke 15 a tabuľke 16. Pre veľkosť skupiny v počte troch, jeden z ôsmich preparátov hodnotených s cieľovou koncentráciou na alebo v blízkosti LoD rozboru priniesol individuálny pozitívny výsledok, ale nebol detegovaný ako súčasť skupiny preparátov. Pre veľkosť skupiny v počte štyroch dosiahli všetky hodnotené pozitívne preparáty pozitívny výsledok pri testovaní ako súčasť skupiny. Pre veľkosť skupiny v počte piatich, päť z deviatich preparátov hodnotených s cieľovými koncentraciami na alebo v blízkosti LoD rozboru prinieslo individuálny pozitívny výsledok, ale neboli detegované ako súčasť skupiny preparátov. Keďže hodnoty kRLU pre rozbor Aptima nezodpovedajú cieľovým koncentraciám, nebol vykonaný signál a *in silico* analýza citlivosti.

Tabuľka 14: Asymptomatický jednotlivec a zhoda zoskupených preparátov s veľkosťou skupiny v počte 3

		Samostatný výsledok preparátu		
		Pozitívne	Negatívne	Spolu
Výsledok skupiny 3 preparátov	Pozitívne	31	0	31
	Negatívne	1	32	33
	Spolu	32	32	64

Celková zhoda: 98,4 % (91,7 % – 99,7 %)

Pozitívna zhoda: 96,9 % (84,3 % – 99,4 %)

Negatívna zhoda: 100 % (89,3 % – 100 %)

Tabuľka 15: Asymptomatický jednotlivec a zhoda zoskupených preparátov s veľkosťou skupiny v počte 4

		Samostatný výsledok preparátu		
		Pozitívne	Negatívne	Spolu
Výsledok skupiny 4 preparátov	Pozitívne	36	0	36
	Negatívne	0	31	31
	Spolu	36	31	67

Celková zhoda: 100 % (94,6 % – 100 %)

Pozitívna zhoda: 100 % (90,4 % – 100 %)

Negatívna zhoda: 100 % (89,0 % – 100 %)

Tabuľka 16: Asymptomatický jednotlivec a zhoda zoskupených preparátov s veľkosťou skupiny v počte 5

		Samostatný výsledok preparátu		
		Pozitívne	Negatívne	Spolu
Výsledok skupiny 5 preparátov	Pozitívne	31	0	31
	Negatívne	5	30	35
	Spolu	36	30	66

Celková zhoda: 92,4 % (83,5 % – 96,7 %)

Pozitívna zhoda: 86,1 % (71,3 % – 93,9 %)

Negatívna zhoda: 100 % (88,6 % – 100 %)

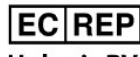
Bibliografia

1. **Svetová zdravotnícka organizácia.** Otázky a odpovede o koronavírusoch (COVID-19). 9. marec 2020. Webová stránka Svetovej zdravotníckej organizácie: <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/q-a-coronaviruses>. Prezerané 10. marca 2020.
2. **Agentúra CDC (Centers for Disease Control and Prevention).** <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/how-covid-spreads.html>. Prezerané 17. júna 2020.
3. **Agentúra CDC (Centers for Disease Control and Prevention).** Koronavírusové ochorenie 2019 (COVID-19) v USA. Aktualizované 10. marca 2020. Webová stránka agentúry CDC <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-in-us.html>. Prezerané 10. marca 2020.
4. **Agentúra CDC (Centers for Disease Control and Prevention).** Koronavírusové ochorenie 2019 – informácie ohľadom cestovania. Stránka naposledy kontrolovaná 8. marca 2020. Webová stránka agentúry CDC <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/travelers/index.html>. Prezerané 10. marca 2020.
5. **Agentúra CDC (Centers for Disease Control and Prevention).** Koronavírusové ochorenie 2019 – súhrn situácie. Aktualizované 9. marca 2020. Webová stránka agentúry CDC <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/summary.html>. Prezerané 10. marca 2020.
6. **Klinický a laboratórny štandardný inštitút (CLSI, Clinical & Laboratory Standards Institute).** Dokument M29 Ochrana laboratórných pracovníkov pred infekciami získanými pri výkone povolania. Webová stránka CLSI <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Prezerané v septembri 2017.

Kontaktné informácie



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



Hologic BV
Da Vinciilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

E-mailovú adresu a telefónne číslo na technickú podporu a zákaznícky servis špecifické pre vašu krajinu nájdete na stránkach www.hologic.com/support.

Hologic, Aptima, Panther a Panther Fusion sú ochranné známky a/alebo registrované ochranné známky spoločnosti Hologic, Inc. a/alebo jej pobočiek v USA a/alebo v iných krajinách.

Akékoľvek ďalšie ochranné známky, ktoré môžu byť vyobrazené na tomto príbalovom letáku, sú majetkom príslušných vlastníkov.

Výrobok je chránený jedným alebo viacerými patentmi Spojených štátov, ktoré sú uvedené na webovej stránke www.hologic.com/patents.

©2022-2023 Hologic, Inc. Všetky práva vyhradené.

AW-22752-3201 Rev. 005
2023-06