

Aptima™ SARS-CoV-2 assay (Panther™ rendszer)

In vitro diagnosztikai használatra.

Kizárólag U.S. exportra.

TARTALOMJEGYZÉK

Általános tudnivalók	2
Alkalmazási terület	2
A teszt összefoglalása és leírása	2
Az eljárás elve	3
Figyelmeztetések és óvintézkedések	4
Reagenstárolási és -kezelési előírások	6
Mintavétel és -tárolás	7
A minta szállítása	12
Minták egyesítése - Megfelelő stratégia meghatározása a megvalósításhoz és a monitorozáshoz	12
Minták előkészítése az egyesítéshez	12
Panther System	13
Mellékelt reagensek és anyagok	13
Szükséges, de külön beszerezhető anyagok	14
A Panther System teszteljárás	16
Megjegyzések az eljáráshoz	18
Minőségellenőrzés	20
Az eredmények értelmezése	21
Korlátozások	22
A Panther SARS-CoV-2 assay teljesítménye	23
Analitikai szenzitivitás	23
Analitikai szenzitivitás az Aptima mintaszállító cső munkafolyamatával	23
Inkluzivitás	24
Analitikai specifitás és mikrobiális interferencia	24
A mintavevő eszköz egyenértékűsége	26
Klinikai teljesítőképesség	27
Klinikai teljesítőképesség az UTM/VTM használatával levett nasopharyngealis kenetmintáknál	27
Klinikai teljesítőképesség a RespDirect mintavevő készlettel az orr elülső részéből levett kenetmintáknál	27
Klinikai teljesítmény mesterséges panellel	28
Irodalomjegyzék	33
Kapcsolattartási információk	34

Általános tudnivalók

Alkalmazási terület

Az Aptima™ SARS-CoV-2 vizsgálat egy in vitro nukleinsav-amplifikációs diagnosztikai vizsgálat, amely a COVID-19 klinikai és/vagy epidemiológiai kritériumainak megfelelő egyénektől, így tünetmentes vagy más okokból COVID-19 fertőzés gyanús egyénektől származó, az orrkagyló közepéről, a nasopharyngealis (NP), nasalis és oropharyngealis (OP) területről vett kenetmintákból, nasopharyngealis mosófolyadékból/aspirátumból, nasalis aspirátumból vagy nyálból izolált és tisztított SARS-CoV-2-ből kinyert RNS kvalitatív kimutatására szolgál.

Ez a teszt a SARS-CoV-2-ből kinyert nukleinsav kvalitatív kimutatására is szolgál olyan egyesített minták esetében, amelyek legfeljebb 5 felső légúti kenetmintát tartalmaznak (pl. az orrkagyló közepéről, a nasopharyngealis, nasalis vagy oropharyngealis területről vett kenetminták), ahol az egyes mintákat megfigyelés alatt, vagy egy egészségügyi szolgáltató által gyűjtik össze, egyedi szállítóközeget tartalmazó injekciós üvegekbe. Az egyesített tesztek negatív eredményei nem tekinthetők véglegesnek. Ha a beteg klinikai jelei és tünetei nincsenek összhangban a negatív eredménnyel, és ha az eredmények a beteg kezeléséhez szükségesek, akkor a betegnél egyedi vizsgálat elvégzését kell mérlegelni. A pozitív vagy érvénytelen eredménnyel rendelkező egyesített mintákhoz tartozó mintákat egyedileg kell tesztelni az eredmény jelentése előtt. Az alacsony vírusterhelésű mintákat nem lehet kimutatni az egyesített mintákban, mivel az egyesített tesztek érzékenysége csökkent. Konkrét betegek esetében, akiknek a mintáját (mintáit) egyesítették, az eredménynek az egészségügyi szolgáltató felé történő jelentésekor fel kell tüntetni, hogy a vizsgálat során egyesítés történt.

Az eredmények a SARS-CoV-2 RNS azonosítására szolgálnak. A SARS-CoV-2 RNS általában a felső légúti mintákból mutatható ki a fertőzés akut fázisában. A pozitív eredmények a SARS-CoV-2 RNS jelenlétét jelzik, a beteg kórtörténetével való klinikai összefüggés és egyéb diagnosztikai információk szükségesek a beteg fertőzési státuszának meghatározásához. A pozitív eredmények nem zárják ki a bakteriális fertőzést vagy a más vírusokkal történő együttes fertőzést.

A negatív eredmények nem zárják ki a SARS-CoV-2 fertőzést, és nem használhatók egyedüli alapként a beteg kezelésével kapcsolatos döntésekhez. A negatív eredményeket össze kell vetni a klinikai megfigyelésekkel, a beteg kórtörténetével és az epidemiológiai információkkal.

A Panther™ és Panther Fusion™ rendszeren végzett Aptima SARS-CoV-2 assay-t olyan klinikai laboratóriumi személyzet használhatja, amely megfelelő oktatásban és képzésben részesült a Panther és Panther Fusion rendszerek működésére és in vitro diagnosztikai eljárásokra vonatkozóan.

A teszt összefoglalása és leírása

A koronavírusok egy nagy víruscsalád, amelyek állatokban vagy emberekben is okozhatnak betegségeket. Emberben számos koronavírusról ismert, hogy légúti fertőzéseket okoz, a náthától kezdve a súlyosabb betegségekig, mint például a közel-keleti légúti szindróma (MERS) és a súlyos akut légzőszervi szindróma (SARS). A legutóbb felfedezett koronavírus, a SARS-CoV-2 okozza a kapcsolódó koronavírus betegséget, a COVID-19-et. Ez az új vírus és betegség nem volt ismert, mielőtt a járvány 2019 decemberében elkezdődött volna a kínai Wuhanban.¹

A COVID-19 leggyakoribb tünetei a láz, a fáradtság és a száraz köhögés. Néhány betegnél előfordulhatnak fájdalmas orrdugulás, orrfolyás, torokfájás, újonnan jelentkező íz- vagy szagvesztés vagy hasmenés. Ezek a tünetek általában enyhék és fokozatosan kezdődnek. Vannak, akik megfertőződnek, de nem jelentkeznek tünetek, és nem érzik rosszul magukat.

A betegség a fertőzött személy köhögése vagy tüsszentése során keletkező cseppek révén terjedhet. Ezek a cseppek a közelben lévő emberek szájába vagy orrába, vagy esetleg a tüdőbe kerülhetnek.² Ezek a cseppek az ember körül lévő tárgyakon és felületeken is lerakódhatnak. A SARS-CoV-2 átterjedhet más emberekre úgy, hogy megérintik ezeket a tárgyakat vagy felületeket, majd megérintik a szemüket, az orrukat vagy a szájukat.

A COVID-19-et okozó vírus embereket fertőz és könnyen terjed az egyik személyről a másikra.³ 2020. március 11-én az Egészségügyi Világszervezet (WHO) világméretű járványnak minősítette a COVID-19 járványt.^{4,5}

Az eljárás elve

Az Aptima SARS-CoV-2 assay ötvözi a célmolekula-megkötés, a transzkripció által közvetített amplifikáció (Transcription Mediated Amplification, TMA) és a kettős kinetikai vizsgálat (Dual Kinetic Assay, DKA) technológiáit.

A vizsgálati minták levehetőek, majd átvihetők a mintaszállító közeget (STM) tartalmazó Hologic Panther Fusion líziscsővekbe. Alternatívaként a minták az STM-et tartalmazó Aptima Multitest készlet vagy a továbbfejlesztett vizsgálatiminta-szállító közeget (eSTM) tartalmazó RespDirect mintavevő készlet segítségével is levehetőek. Az STM és az eSTM lizálja a sejteket, felszabadítja a célnukleinsavat, és megvédi őket a tárolás során bekövetkező lebomlástól. Amikor az Aptima SARS-CoV-2 assay-t a laboratóriumban végzik el, a cél RNS-molekulákat izolálják a mintákból megkötő oligomerek alkalmazásával, mágneses mikrorészecskékkel történő célmolekula-megkötéssel. A megkötő oligomerek a célmolekulák specifikus régióinak megfelelő szekvenciákat és egymás utáni dezoxiadenozin csoportokat tartalmaznak. Minden célponthoz külön megkötő oligomert használnak. A hibridizációs lépés során a megkötő oligomerek szekvenciaspecifikus régiói hozzákötődnek a célmolekula specifikus régióhoz. Ezt követően a befogó oligomer:cél komplex kinyeréséhez szobahőmérsékletre kell csökkenteni a reakció hőmérsékletét. A hőmérséklet csökkenése lehetővé teszi a befogó oligomer dezoxiadenozin régiója és a kovalens kötéssel mágneses részecskékhez kapcsolt poli-dezoxitimidin molekulák közötti hibridizációt. Utána mágneses segítségével a reakcióedény széléhez húzzák a mikrorészecskéket, többek között azokat is, amelyek megkötött célmolekulákat tartalmaznak, és eltávolítják a felülúszót. A részecskék mosásával eltávolítják a visszamaradt mintamatrixot, amely esetlegesen az amplifikációs reakciót gátló anyagokat tartalmazhat. A célmegkötési lépések befejezése után a minták készen állnak az amplifikálásra.

A célmolekula amplifikációs assay-k a komplementer oligonukleotid primerek azon képességén alapulnak, hogy a cél nukleinsav szálaik specifikusan lágyulnak és ez lehetővé teszi az enzimatikus amplifikációt. Az Aptima SARS-CoV-2 assay a SARS-CoV-2 vírusból származó RNS speciális régióit replikálja. Az RNS-amplifikációs termék-szekvenciák (amplikon) kimutatását nukleinsav-hibridizációval végezzük. Az egyszálú kemilumineszcens nukleinsavpróbákat, amelyek egyediek és komplementerek az egyes cél amplikonok és a belső kontroll (IC) amplikon régiójával, különböző akridinium-észter (AE) molekulákkal jelölik. Az AE-vel jelölt próbák amplikonnal kombinálva stabil hibrideket képeznek. A szelektív reagens megkülönbözteti a hibridizált és nem hibridizált próbákat, kiküszöbölve a nem hibridizált próbákból származó jeleket. A kimutatási lépés során a jelölt hibridek által kibocsátott fényt fotonjelként mérik egy luminométerben, és relatív fényegység (RLU) mértékegységben adják meg. A DKA-ban a jelölt próbák kinetikai profiljainak különbségei lehetővé teszik a jel differenciálását; a kinetikus profilok a detektálás leolvasási ideje alatt a foton kimenet méréséből származnak. Az IC jel kemilumineszcens detektálási reakciója nagyon gyors kinetikával rendelkezik, és kinetikailag „villanó” típusú. A SARS-CoV-2 jel kemilumineszcens detektálási reakciója viszonylag lassúbb és kinetikailag „izzó” típusú. A vizsgálati eredményeket a teljes RLU és a kinetikai görbe típusa alapján meghatározott határérték adja meg.

Az Aptima SARS-CoV-2 assay ugyanazon reakcióban amplifikálja és detektálja az ORF1ab gén két konzervált régióját, ugyanazon „izzó” kinetikai típus alkalmazásával. A két régió nem differenciált, és vagy az egyik vagy mindkét régió amplifikációja RLU jelhez vezet. A vizsgálati eredményeket a teljes RLU és a kinetikai görbe típusa alapján meghatározott határérték adja meg.


Figyelmeztetések és óvintézkedések

- A. *In vitro* diagnosztikai használatra. Figyelmesen olvassa el ezt a teljes tájékoztatót és a *Panther/Panther Fusion rendszer Kezelői kézikönyvét*.
- B. Ezeket az eljárásokat kizárólag ennek az assay-nek a használatára és a potenciálisan fertőző anyagok kezelésére megfelelően képzett személyzet végezheti. Kiömlés esetén azonnal fertőtlenítsse a megfelelő helyi eljárásokkal.
- C. Az összes mintát fertőzőként kezelje és dolgozza fel, a helyes mikrobiológiai gyakorlat és eljárások (GMPP) alapjául szolgáló laboratóriumi gyakorlatok és eljárások szerint. Lásd az Egészségügyi Világszervezet (WHO) koronavírus betegséggel (COVID-19) kapcsolatos biológiai biztonsági laboratóriumi útmutatásait: ideiglenes útmutató. [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. A minták fertőzőek lehetnek. A teszt végzése során alkalmazzon általános óvintézkedéseket. A megfelelő kezelési és ártalmatlanítási módszerek meghatározása a laboratórium vezetőjének felelőssége. Ezt a diagnosztikai eljárást kizárólag a fertőző anyagok kezelésére megfelelően kiképzett személyzet hajthatja végre.⁶
- E. Ha a közegészségügyi hatóságok által ajánlott hatályos klinikai szűrési kritériumok alapján SARS-CoV-2 fertőzés gyanúja merül fel, a mintákat megfelelő fertőzés-ellenőrzési óvintézkedések mellett kell levenni.
- F. Kizárólag a gyártótól beszerzett vagy a gyártó által előírt egyszer használatos laboratóriumi eszközök használhatók.
- G. Használjon megfelelő egyéni védőfelszerelést a SARS-CoV-2-gyanús személyektől származó minták levételekor és kezelésekor, a CDC Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Associates 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) irányelvek szerint.
- H. A minták és a reagensek kezelése során viseljen egyszer használatos, púdermentes kesztyűt, védőszemüveget és laborköpenyt. A minták és a reagensek kezelését követően a kezét alaposan meg kell mosni.
- I. Minden olyan anyagot, amely érintkezett a mintákkal és a reagensekkel, a vonatkozó nemzeti, nemzetközi és regionális előírásoknak megfelelően ártalmatlanítson.
- J. A RespDirect mintavevő készleten, a Panther Fusion vizsgálatiminta-lízis csöveken (SLT), a Hologic vizsgálatiminta-lízis csöveken, az Aptima Multitest mintavevő készleten, az Aptima Unisex kenetmintavevő készleten, az Aptima vizsgálatiminta-szállító készleten és a Hologic közvetlenül betölthető rögzítőkupakos mintavevő készleten feltüntetett lejáratási idő a mintának a csőbe történő átvitelére és nem a minta vizsgálatára vonatkozik. A feltüntetett lejáratási idők előtt levett/átvitt minták még a lejáratási idő után is alkalmasak a tesztelésre, feltéve, hogy a mintákat a megfelelő termék tájékoztatóban közölt előírások szerint szállítják és tárolják.

- K. A minta épségének megőrzése érdekében megfelelő tárolási körülményeket kell biztosítani a minta szállítása során. A minta stabilitását az ajánlástól eltérő szállítási körülmények között nem értékelték.
- L. Az olyan nyálminta vizsgálata esetén, amelyet nem a megadott körülmények között tároltak, nagyobb lehet az érvénytelen eredmény kockázata.
- M. A minták kezelési lépései során óvakodjon a keresztszennyeződéstől. A minták nagyon magas koncentrációban tartalmazhatják a vírust vagy más mikroorganizmusokat. Ügyeljen arra, hogy a mintatartályok ne érintkezzenek egymással, és az ártalmatlanítás során ne vigye az elhasznált anyagokat a nyitott tárolóedények fölé. Ha megérinti a mintákat, cserélje le a kesztyűjét.
- N. A lejáratú idő után ne használja a reagenseket és a kontrollokat.
- O. A vizsgálati elemeket az ajánlott tárolási körülmények között tárolja. További információért lásd: *Reagenstárolási és -kezelési előírások* (6. oldal) és *A Panther System teszteljárás* (16. oldal).
- P. Ne öntse össze az assay reagenseket vagy folyadékokat. Ne töltsse fel a reagenseket vagy folyadékokat; a Panther rendszer ellenőrzi a reagensszintet.
- Q. Kerülje a reagensek mikrobiális vagy ribonukleázszal történő kontaminációját.
- R. Ne használjon olyan anyagot, amely guanidinium-tiocianátot tartalmazhat vagy bármilyen guanidint tartalmazó anyagot a készüléken. Nagyon reakcióképes és/vagy mérgező vegyületek képződhetnek, ha nátrium-hipoklorittal érintkeznek.
- S. A készletben lévő reagensek H-mondatokkal vannak ellátva.

Megjegyzés: A veszélyjelző mondatok megfelelnek az EU biztonsági adatlapokon (Safety Data Sheets, SDS) alkalmazott osztályoknak. Az Ön régiójában használt veszélyjelző információkat lásd a weboldalunkon – www.hologicsds.com – található biztonsági adatlap könyvtár régióspecifikus biztonsági adatlapján (SDS). A szimbólumokra vonatkozó további információkkal kapcsolatban lásd a szimbólumok értelmezését: www.hologic.com/package-inserts.

EU H-mondatok	
Amplification Reagent <i>HEPES, 25-30%</i>	
—	— H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását P280 – Szemvédő/arcvédő használata kötelező
Enzyme Reagent <i>HEPES, 1-5%</i>	
—	— H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását P280 – Szemvédő/arcvédő használata kötelező

—	<p>Probe Reagent <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 35-40%</i> <i>Succinic Acid 10-15%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 10-15%</i></p> <p>—</p> <p>H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását P280 – Szemvédő/arcvédő használata kötelező</p>
—	<p>Target Capture Reagent <i>HEPES, 5-10%</i> <i>EDTA, 1-5%</i> <i>LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1-5%</i></p> <p>—</p> <p>H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását P280 – Szemvédő/arcvédő használata kötelező</p>
	<p>Selection Reagent <i>BORIC ACID 1-5%</i></p> <p>VIGYÁZAT! H315 – Bőrirritáló hatású</p>

Reagenstárolási és -kezelési előírások

- A. A következő reagensek 2–8 °C-on (hűtőszekrényben) tárolva stabilak:
- Aptima SARS-CoV-2 amplifikációs reagens
 - Aptima SARS-CoV-2 enzimreagens
 - Aptima SARS-CoV-2 próbareagens
 - Aptima SARS-CoV-2 belső kontroll
 - Aptima SARS-CoV-2 pozitív kontroll
 - Aptima SARS-CoV-2 negatív kontroll
- B. A következő reagensek 2 °C és 30 °C között tárolva stabilak:
- Aptima SARS-CoV-2 amplifikációs rekonstitúciós oldat
 - Aptima SARS-CoV-2 enzim rekonstitúciós oldat
 - Aptima SARS-CoV-2 próba rekonstitúciós oldat
 - Aptima SARS-CoV-2 szelekciós reagens
- C. A következő reagensek 15 °C és 30 °C között (szobahőmérsékleten) tárolva stabilak:
- Aptima SARS-CoV-2 célmolekula-megkötő reagens
 - Aptima mosóoldat
 - Aptima puffer a dezaktivációs folyadékhoz
 - Aptima olaj reagens
- D. A célmolekula-megkötő reagens munkahígítása (wTCR) 15–30 °C-on tárolva 30 napig stabil. Nem szabad hűtve tárolni.

- E. Elkészítés után az enzimreagens, az amplifikációs reagens és a próbareagens 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten tárolva 30 napig stabil.
- F. A fel nem használt feloldott reagenseket és a wTCR reagenst ártalmatlanítani kell 30 nap után vagy a törzstétel lejáratási ideje után, amelyik hamarabb következik be.
- G. A kontrollok az injekciós üvegeken feltüntetett dátumig stabilak.
- H. A Panther System fedélzetén tárolt reagensek a készülékben 120 órán át stabilak.
- I. A próbareagens és az elkészített próbareagens fényérzékeny. Ezek a reagensek fénytől védve tárolandók. A megadott elkészítés utáni stabilitást az elkészített próbareagens 12 óras, két 60 W-os fénycsővel, 43 cm távolságban és 30 °C alatti hőmérsékleten történő megvilágítása alapján határozták meg. Az elkészített próba fényterhelését ennek megfelelően kell korlátozni.
- J. Szobahőmérsékletre történő felmelegedés után néhány kontrollcső zavarosnak tűnhet vagy csapadékot tartalmazhat. A kontrollok zavarossága vagy a bennük lévő csapadék nem befolyásolja a kontroll teljesítményét. A kontrollok használhatók tiszta vagy zavaros/kicsapódott állapotban. Ha tiszta kontrollokra van szükség, akkor az oldódást fel lehet gyorsítani úgy, hogy a szobahőmérséklet-tartomány (15 °C és 30 °C között) felső határán inkubáljuk azokat.
- K. Ne fagyassza le a reagenseket.**

Mintavétel és -tárolás

Vizsgálati minták - A betegtől levett megfelelő szállítórendszerbe helyezett klinikai anyagok. Az Aptima SARS-CoV-2 vizsgálat esetében ez az orrkagyló közepéről vett, illetve az NP, nasalis és OP kenetmintákat, vagy nasopharyngealis mosófolyadékból/aspirátumból vagy nasalis aspirátumból történő mintavételt jelenti, vírusszállító közegben (VTM/UTM), fiziológiás sóoldatban, Liquid Amies alapú folyékony szállítóközegben, továbbfejlesztett vizsgálatiminta-szállító közegben (eSTM) vagy vizsgálatiminta-szállító közegben (STM). Ezenkívül nyálminta is vehető a vizsgálathoz.

Minták - Általánosabb kifejezés a Panther System rendszerrel vizsgálandó bármely anyag leírására, beleértve a vizsgálati mintákat, a Panther Fusion mintalízis csőbe, a kemény kupakkal ellátott Hologic mintalízis csőbe, az Aptima Multitest mintaszállító csőbe, a Hologic Direct Load Capture Cap csőbe átvitt vizsgálati mintákat és a kontrollokat.

Megjegyzés: Minden mintát úgy kell kezelni, mintha potenciálisan fertőző ágenseket tartalmazna. Az általános óvintézkedéseket kell alkalmazni.

Megjegyzés: A minták kezelési lépései során ügyeljen arra, hogy ne alakuljon ki keresztszennyeződés. Például a felhasznált anyagokat ne a nyitott csövek felett áthaladva dobja ki.

Kenetmintavétel

Gyűjtse össze az NP, a nasalis és az OP kenetmintákat a szokásos technika szerint poliészter-, műselyem- vagy nejlonvégű mintavevő vattapálcával. A kenetmintát azonnal tegye 3 ml-es VTM vagy UTM-be. A kenetmintákat másik lehetőségként hozzáadhatja fiziológiás sóoldathoz, Liquid Amies alapú folyékony szállítóközeghez vagy STM-hez. Az

Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit készlet és a Hologic Direct Load Capture Cap mintavevő készlet használható az OP és a nasalis kenetminták levételére. A Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit - CLASSIQSwab készlet az OP és az orrkenetminták levételére szolgál. A Hologic közvetlenül betölthető rögzítőkupakos mintavevő - FLOQSwab készlet az orrkagyló közepéről történő mintavételre és az NP kenetminták levételére szolgál. A Hologic RespDirect mintavevő készlet az NP és az orrkenetminták levételére használható.

A mintavételt követően a VTM/UTM-be helyezett minták 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten tárolhatók 96 órán, mielőtt átviszik a mintalízis csőbe vagy az átviteli csövekbe, az alábbiakban leírtak szerint. A fennmaradó minta mennyiségek ≤ -70 °C-on tárolhatók.

A mintavételt követően az Aptima Multitest csőben, a Hologic közvetlenül betölthető rögzítőkupakos csőben és a Továbbfejlesztett közvetlenül betölthető csőben lévő vizsgálati mintákat 2 °C és 30 °C közötti hőmérsékleten, legfeljebb 6 napig lehet tárolni.

Megjegyzés: Az Aptima Multitest csőbe, a Hologic közvetlenül betölthető rögzítőkupakos csőbe és a Továbbfejlesztett közvetlenül betölthető csőbe levett vizsgálati mintákat kupakkal lezárva és állított helyzetben kell tárolni az állványban.

Nasopharyngealis mosófolyadékából/aspirátumból és nasalis aspirátumból történő mintavétel

A nasopharyngealis mosófolyadékából/aspirátumból és nasalis aspirátumból történő mintavételt a szokásos technikákkal végezze el.

Nyálmintavétel

Vegyen 1 ml +/- 0,2 ml nyálmintát egy szabványos, 1 ml-es jelöléssel ellátott gyűjtőcsőbe. Kérje meg a vizsgálati alanyt, hogy segítse elő a nyáleválasztást és legalább 30 másodpercig forgassa a nyálat a szájában, mielőtt a gyűjtőcsőbe köpne. A levett nyál minta 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékleten legfeljebb 12 órán át tárolható, mielőtt a 4 ml +/- 0,4 ml minimálisan szükséges közeget (Minimum Essential Media, MEM) hozzáadja a nyál minta hígításához és összekeveréséhez. A MEM-ben hígított minták 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékleten tárolhatók 2 órán át, mielőtt átviszik az 500 µL hígított nyálat a mintalízis csőbe vagy az átviteli csövekbe, az alábbiakban leírtak szerint. A feldolgozott vizsgálati minták 2 °C és 30 °C közötti hőmérsékleten legfeljebb 6 napig tárolhatók.

A minta feldolgozása

Kupakkal végzett munkafolyamat az Aptima SARS-CoV-2 Assay szoftver használatával

A minta feldolgozása a Panther Fusion mintalízis csővel

- A. A Panther rendszeren végzett tesztelés előtt 500 µl* levett mintát vigyen át egy Panther Fusion mintalízis csőbe.

***Megjegyzés:** A fagyasztott minták tesztelésekor a feldolgozás előtt hagyja, hogy a minta szobahőmérsékletűre melegedjen.

A minta feldolgozása az Aptima mintaátviteli csővel

- A. A Panther rendszeren végzett tesztelés előtt 1 ml* levett mintát ** vigyen át egy Aptima mintaátviteli csőbe.

***Megjegyzés:** A fagyasztott minták tesztelésekor a feldolgozás előtt hagyja, hogy a minta szobahőmérsékletűre melegedjen.

****Megjegyzés:** Alternatív megoldásként fel nem használt Aptima Multitest csövet vagy Aptima Unisex csövet is alkalmazhat.

- B. Tegye vissza szorosan a kupakot az Aptima mintaszállító csőre.
- C. Óvatosan fordítsa meg a csövet 2-3-szor, így biztosítva a minta teljes keveredését.

Az Aptima Multitest mintavevő készlettel levett minta feldolgoása

- A. Miután az Aptima Multitest mintavevő készlet segítségével vett mintát* az Aptima Multitest csőbe helyezte, további feldolgozásra nincs szükség.

***Megjegyzés:** A fagyasztott minták tesztelésekor a feldolgozás előtt hagyja, hogy a minta szobahőmérsékletűre melegedjen.

Vizsgálati minták feldolgoása a Továbbfejlesztett közvetlenül betölthető csővel (RespDirect mintavevő készlet)

- A. A vizsgálati minta Továbbfejlesztett közvetlenül betölthető csőbe (RespDirect mintavevő készlet) történő levétele után a vizsgálati minta behelyezhető a készülékbe.

Megjegyzés: Ha a vizsgálati mintáknál CLT vagy izolált p-jelölés látható, a mintákat 5-10 percig 1800 fordulat/perc fordulatszámom vortexelheti egy többcsöves vortexen (vagy 5-ös beállításon a 102160G katalógusszámú keverőn).

Másik megoldásként az egyes csövek manuálisan 15 másodpercig maximális fordulatszámom egy szabványos asztali vortexkeverőn is vortexelhetők.

Ha korábban átszúrta a csövek kupakját, a vortexelés előtt új átszúrható kupakkal ellátva helyezze be azokat a készülékbe.

Ha az ismételt vizsgálat során CLT-eredményt kap, vegyen új mintát.

Megjegyzés: A fagyasztott vizsgálati minták tesztelésekor a feldolgozás előtt hagyja, hogy a vizsgálati minta szobahőmérsékletűre melegedjen, mielőtt behelyezi a készülékbe.

Megjegyzés: Ha a laboratóriumba a Továbbfejlesztett közvetlenül betölthető cső (RespDirect mintavevő készlet) úgy érkezik meg, hogy nem tartalmaz kenetmintát vagy egy cső két kenetmintát tartalmaz, akkor a vizsgálati mintát nem szabad elfogadni.

Kupak nélkül végzett munkafolyamat az Aptima SARS-CoV-2 Assay szoftver használatával

A minta feldolgoása a Panther Fusion mintalízis csővel

- A. Vegye le a kupakot az átszúrható kupakkal ellátott Panther Fusion mintalízis csőről. Az átszúrható kupak megtartható, vagy a következő lépésben használható egy kemény kupak.
- B. A Panther rendszeren végzett tesztelés előtt töltsön át 500 µl mintát az átszúrható kupakkal vagy kemény kupakkal ellátott Panther Fusion mintalízis csőbe.
- C. A cső tetejével való érintkezés elkerülése érdekében lazítsa meg a kupakot, és helyezze a mintacsövet a mintatartóba.
- D. Vegye le és dobja el a kupakot. A szennyeződés elkerülése érdekében ne vigye át a kupakot más mintatartó állványok vagy mintacsövek felett. Vizsgálja meg a mintaanyag csövét. Ha buborékok vannak benne, óvatosan távolítsa el azokat a mintaanyag csövéből (például használjon steril mintavevő vattapálcát vagy hasonló módszert).

Megjegyzés: A buborékok eltávolításának elmulasztása befolyásolhatja az assay feldolgozását és érvénytelen eredményeket okozhat.

- E. Helyezze az állványtartót a mintatartóra és töltsé be az állványt a készülékbe.

A minta feldolgozása a kemény kupakkal ellátott Hologic mintalízis csővel

- A. Vegye le a kupakot a kemény kupakkal ellátott Hologic mintalízis csőről, és őrizze meg.
- B. A Panther rendszeren végzett tesztelés előtt töltsön 500 µl mintát a kemény kupakkal ellátott Hologic mintalízis csőbe.
- C. A vírus inaktiválásához és homogenizálásához ajánlatos a csőre visszatenni a kupakot és háromszor óvatosan megfordítani.
- D. A cső tetejével való érintkezés elkerülése érdekében lazítsa meg a kupakot, és helyezze a mintacsövet a mintatartóba.
- E. Vegye le és dobja el a kupakot. A szennyeződés elkerülése érdekében ne vigye át a kupakot más mintatartó állványok vagy mintacsövek felett. Vizsgálja meg a mintaanyag csövét. Ha buborékok vannak benne, óvatosan távolítsa el azokat a mintaanyag csövéből (például használjon steril mintavevő vattapálcát vagy hasonló módszert).

Megjegyzés: A buborékok eltávolításának elmulasztása befolyásolhatja az assay feldolgozását és érvénytelen eredményeket okozhat.

- F. Helyezze az állványtartót a mintatartóra és töltsé be az állványt a készülékbe.

A Hologic Direct Load Capture Cap mintavevő készlettel vett minta feldolgozása

- A. Miután a levett mintát* a Hologic Direct Load Capture Cap csőbe helyezte, további feldolgozásra nincs szükség.

***Megjegyzés:** A fagyasztott minták tesztelésekor a feldolgozás előtt hagyja, hogy a minta szobahőmérsékletűre melegedjen.

- B. A cső tetejével való érintkezés elkerülése érdekében lazítsa meg a kupakot, és helyezze a mintacsövet a mintatartóba.
- C. Vegye le és dobja el a kupakot és a mintavevő vattapálcát. A szennyeződés elkerülése érdekében ne vigye át a kupakot más mintatartó állványok vagy mintacsövek felett. Vizsgálja meg a mintaanyag csövét. Ha buborékok vannak benne, óvatosan távolítsa el azokat a mintaanyag csövéből (például használjon steril mintavevő vattapálcát vagy hasonló módszert).

Megjegyzés: Ha a mintavevő vattapálcát a kupak nem rögzítette, helyezze vissza a csövet, ezzel biztosítva a mintavevő vattapálca rögzítését és eltávolítását a csőből. A mintavevő vattapálcát tartalmazó Direct Load Capture Cap csöveket nem szabad a Panther rendszerbe betölteni.

Megjegyzés: A buborékok eltávolításának elmulasztása befolyásolhatja az assay feldolgozását és érvénytelen eredményeket okozhat.

- D. Helyezze az állványtartót a mintatartóra és töltsé be az állványt a készülékbe.

Az Aptima Multitest mintavevő készlettel levett vizsgálati minta feldolgozása

- A. Szerezze be és kövesse a Panther Fusion mintalízis csőre (A. lépés) vagy a kemény kupakkal ellátott Hologic mintalízis csőre (A. lépés) vonatkozó utasításokat.
- B. A Panther rendszeren végzett tesztelés előtt 500 µl levett vizsgálati mintát vigyen át az Aptima Multitest csőből egy Panther Fusion mintalízis csőbe vagy a Hologic mintalízis csőbe a fenti mintafeldolgozási részekben leírtak szerint.

Mintaanyag tárolása

- A. A Panther rendszer fedélzetén található mintaanyagok archiválhatók egy későbbi további vizsgálat céljából.
- B. STM-ben lévő minták tárolása tesztelés előtt vagy után
 1. Az Aptima Multitest csőben, az Aptima vizsgálatiminta-tartó csőben és a Hologic közvetlenül betölthető rögzítőkupakos csőben lévő mintákat függőlegesen, az állványban kell tárolni a következő feltételek mellett:
 - 2 °C és 30 °C között, 6 napig
 2. A Vizsgálatiminta-lízis csőben lévő minták a következő feltételek mellett tárolhatók:
 - • 15 °C és 30 °C között, 6 napig vagy
 - • 2 °C és 8 °C között, -20 °C-on és -70 °C-on, legfeljebb 1 hónapig.
 3. A mintákat új, tiszta műanyaggal vagy fóliával kell lefedni.
 4. Ha fagyasztani vagy szállítani kell a tesztelt mintákat, távolítsa el az átszűrhető kupakot a vizsgálatiminta-tartó csövekről és tegyen a helyükre nem átszűrhető kupakot. Ha másik intézménybe kell szállítani a mintákat tesztelés céljából, mindvégig ajánlatos fenntartani az előírt hőmérsékletet. A kupak eltávolítása előtt a vizsgálatiminta-szállító csövek esetében centrifugálással (5 perc, 420 relatív centrifugális gyorsulás (RCF)) vissza kell juttatni az összes folyadékot a cső aljára. Kerülje a kifröccsenést és a keresztzennyezést.
- C. A Továbbfejlesztett közvetlenül betölthető csőben (RespDirect mintavevő készlet) lévő vizsgálati minták tárolása
 1. A minták a következő feltételek mellett tárolhatók:
 - 2°C és 30 °C között, 6 napig vagy
 - 2 °C és 8 °C között, -20 °C-on és -70 °C-on, legfeljebb 1 hónapig. A fagyasztási/ olvasztási ciklusokat a lehető legkevesebbre kell csökkenteni a minta lehetséges bomlása miatt.
 2. Korábban már tesztelt mintákat új, tiszta műanyaggal vagy fóliával kell lefedni.
 3. Ha fagyasztani vagy szállítani kell a tesztelt mintákat, távolítsa el az átszűrhető kupakot a vizsgálatiminta-tartó csövekről és tegyen a helyükre nem átszűrhető kupakot. Ha másik intézménybe kell szállítani a mintákat tesztelés céljából, mindvégig ajánlatos fenntartani az előírt hőmérsékletet. A korábban már tesztelt és újra lefedett minták kupakjának eltávolítása előtt a vizsgálatiminta-tartó csövek 5 percig, 420 RCF mellett centrifugálhatók, ezzel visszajuttatva az összes folyadékot a cső aljára. Kerülje a kifröccsenést és a keresztzennyezést.

A minta szállítása

Tartsa fenn a minta tárolási körülményeit a *Mintavétel és -tárolás részben leírtak szerint*, 7. oldal.

Megjegyzés: A minták szállítását a vonatkozó nemzeti, nemzetközi és regionális szállítási előírásoknak megfelelően kell végezni.

Minták egyesítése - Megfelelő stratégia meghatározása a megvalósításhoz és a monitorozáshoz

A minták egyesítésének mérlegelésekor a laboratóriumoknak értékelniük kell az egyesítési stratégia megfelelőségét a tesztpopuláció pozitív aránya és az egyesítési munkafolyamat hatékonysága alapján.

Minták előkészítése az egyesítéshez

A következő felső légúti mintákat validálták az Aptima SARS-CoV-2 assay-vel való használatra, és a minták egyesítésével is tesztelhetők: nasopharyngealis, oropharyngealis, az orrkagyló közepéről vett és nasalis kenetminták, amelyeket mintaszállító közegbe (STM) gyűjtöttek. Minden egyesített minta tisztán STM mintákat tartalmazhat. Az alábbiakban ismertetjük az ajánlott mintaegyesítési munkafolyamatot.

2,9 ml STM-t tartalmazó mintavevő csövekbe gyűjtendő minták

Mintaelőkészítési utasítások közvetlenül egy általános csőbe egyesített mintákhoz

Hajtsa végre a következő eljárást, amikor a 2,9 ml STM-be levett mintákat egyesíti úgy, hogy az egyes mintákat közvetlenül egy üres csőbe viszi át a *Panther* vagy a *Panther Fusion System Kezelői kézikönyv* specifikációi szerint.

- A. Szerezzen be egy Panther rendszerrel kompatibilis üres csövet.
- B. Határozza meg a megfelelő mennyiséget az egyes vizsgálati mintákból a megvalósítandó egyesítési méret alapján. 2,9 ml STM-be vett minták nem igényelnek további STM-mel történő hígítást a vizsgálat előtt.

Megjegyzés: Az egyes minták ajánlott együttes mennyisége az alkalmazott cső méreteitől függ. A Hologic képviselője ajánlásokat adhat a Panther rendszeren történő feldolgozás minimális mennyiségi követelményeiről.

- C. A Panther rendszer tesztelése előtt gondosan vigye át az egyes minták meghatározott mennyiségét a 2,9 ml STM-t tartalmazó csövekből az üres csőbe.
- D. Biztosítsa az elkészített egyesített minták homogenizálását.
- E. Tartsa meg az egyes mintákat további vizsgálatokhoz, ha szükséges.

Panther System

A Panther System készüléken végzett Aptima SARS-CoV-2 assay-hez szükséges reagensek listáját lásd alább. A reagensek neve mellett a reagensazonosító szimbólumok is fel vannak tüntetve.

Mellékelt reagensek és anyagok

Aptima SARS-CoV-2 assay készlet PRD-06419

250 teszt (2 doboz)

Aptima SARS-CoV-2 hűtődoboz (2/1-es doboz)
(kézhezvétel után 2–8 °C-on kell tárolni)

Szimbólum	Összetevő	Mennyiség 250 tesztkészlet
A	Aptima SARS-CoV-2 amplifikációs reagens <i>Nem fertőző nukleinsavak <5% térfogatnövelő szert tartalmazó, pufferelt oldatban szárítva.</i>	1 üveg
E	Aptima SARS-CoV-2 enzimreagens <i>Reverz transzkriptáz és RNS polimeráz <10% térfogatnövelő szert tartalmazó, HEPES-sel pufferelt oldatban szárítva.</i>	1 üveg
P	Aptima SARS-CoV-2 próbareagens <i>Nem fertőző kemilumineszcens DNS próbák <5% detergenst tartalmazó borostyánkősav pufferes oldatban szárítva.</i>	1 üveg
IC	Aptima SARS-CoV-2 belső kontroll	1 üveg

Aptima SARS-CoV-2 szobahőmérsékleti doboz (2/2-es doboz)
(kézhezvétel után 15–30 °C-on kell tárolni)

Szimbólum	Összetevő	Mennyiség 250 tesztkészlet
AR	Aptima SARS-CoV-2 amplifikációs rekonstitúciós oldat <i>Tartósítószereket tartalmazó vizes oldat.</i>	1 x 27,7 ml
ER	Aptima SARS-CoV-2 enzim rekonstitúciós oldat <i>Felületaktív anyagot és glicerint tartalmazó, HEPES-sel pufferelt oldat.</i>	1 x 11,1 ml
PR	Aptima SARS-CoV-2 próba rekonstitúciós oldat <i><5% detergenst tartalmazó borostyánkősav pufferes oldat.</i>	1 x 35,4 ml
S	Aptima SARS-CoV-2 szelektációs reagens <i>Felületaktív anyagot tartalmazó, 600 mM borátpufferes oldat.</i>	1 x 108 ml
TCR	Aptima SARS-CoV-2 célmolekula-megkötő reagens <i>Szilárd fázist és megkötő oligomereket tartalmazó pufferolt sóoldat.</i>	1 x 54 ml
	Feloldáshoz használt feltételek	3
	Törzstétel vonalkódos lapja	1 lap

Szükséges, de külön beszerezhető anyagok

Megjegyzés: Ellenkező megjegyzés hiányában a Hologic által értékesített anyagok mellett fel van tüntetve a katalógusszám.

	<u>Kat. sz.</u>
Panther System	303095
Aptima Assay folyadék készlet <i>(Aptima mosóoldat, Aptima puffer a dezaktivációs folyadékhoz és Aptima olaj reagens)</i>	303014 (1000 teszt)
Aptima Auto Detect készlet	303013 (1000 teszt)
Többcsöves egységek (MTU-k)	104772-02
Panther hulladékgyűjtő tasak készlet	902731
Panther hulladékgyűjtő fedél	504405
Vagy Panther Run készlet <i>MTU-kat, hulladékzsákokat, hulladékgyűjtő fedeleket, vizsgálati folyadékokat és automatikus kimutató anyagokat tartalmaz</i>	303096 (5000 teszt)
Hegyek, 1000 µl, filteres, folyadékérzékelős, vezetéképes és eldobható Nem minden termék érhető el minden régióban. Régióspecifikus információkért forduljon képviselőjéhez	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Aptima SARS-CoV-2 kontroll készlet <i>PC - Aptima SARS-CoV-2 pozitív kontroll. Nem fertőző nukleinsav <5% detergenst tartalmazó pufferelt oldatban. Mennyiség 5 x 1,7 ml</i> <i>NC - Aptima SARS-CoV-2 negatív kontroll. <5% detergenst tartalmazó pufferelt oldat. Mennyiség 5 x 1,7 ml</i>	PRD-06420
Aptima Multitest mintavevő vattapálca készlet	PRD-03546
Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit - CLASSIQSwabs	PRD-06951
Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit - FLOQSwabs	PRD-06952
Hologic RespDirect mintavevő készlet	PRD-07403
Aptima mintaszállító készlet	301154C
Aptima mintaszállító készlet - nyomtatható	PRD-05110
Aptima Unisex mintavevő vattapálca készlet endocervicalis és férfi húgyúti kenetmintákhoz	301041
Panther Fusion mintalízis csövek, 100 darab/tasak <i>a cső 0,71 ml STM-t tartalmaz, átszűrhető kupakkal</i>	PRD-04339
Hologic lízis csövek, 100 darab <i>a cső 0,71 ml STM-t tartalmaz, kemény kupakkal</i>	PRD-06554
Fehérítő, 5–8,25%-os (0,7M-1,16M) nátrium-hipoklorit-oldat	—
Eldobható hintőpormentes kesztyűk	—
Nem átszűrhető cserekupakok	504415

	<u>Kat. sz.</u>
Hologic Solid Cap a PRD-06951* és PRD-06952* készülékekkel történő használatra, 100 kupak/tasak * egyszer használatos fedél a Hologic Direct Load Capture Cap (PRD-06951 és PRD-06952) kupakhoz a fedetlen munkafolyamat részeként végzett tesztelés után	PRD-07028
Pótkupakok a 250 db-os tesztkészlethez Amplifikációs és próbareagenst tartalmazó oldatok CL0041 (100 kupak) Enzimreagens rekonstitúciós oldat 501616 (100 kupak) TCR és szelektációs reagens CL0040 (100 kupak)	—

Opcionális anyagok

	<u>Kat. sz.</u>
Hologic fehérítő aktiválószer tisztításhoz a felületek és berendezések rutinszerű tisztításához	302101
Csőrázó	—
Többcsöves Vortex	102160G
Asztali Vortex	—

A Panther System teszteljárás

Megjegyzés: A további eljárásleírásokat lásd a Panther/Panther System Kezelői kézikönyvében.

A. A munkaterület előkészítése

Tisztítsa meg a reagensek és minták készítéséhez használt munkafelületeket. Törölje le a munkafelületeket 2,5–3,5%-os (0,35–0,5 M) nátrium-hipoklorit oldattal. Hagyja, hogy a nátrium-hipoklorit oldat legalább 1 percig érintkezzen a felületekkel, majd öblítse le vízzel. Ne hagyja megszáradni a nátrium-hipoklorit oldatot. Takarja le a reagensek és minták készítéséhez használt munkafelületeket tiszta, műanyag hátlappal borított, nedvszívó laboratóriumi terítővel.

B. Reagens feloldása/előkészítése új készlethez

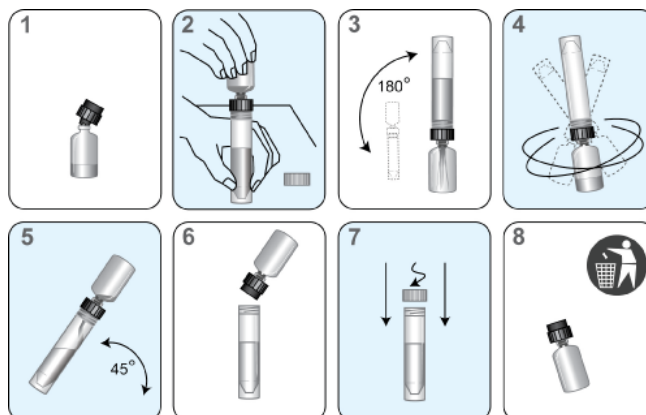
Megjegyzés: Mindig kezdje a reagensek feloldásával, és csak utána kezdje el a munkát a Panther System készüléken.

1. Az amplifikációs, enzim- és próbareagensek feloldásához keverje össze a liofilizált reagenst a rekonstitúciós oldattal. A hűtve tárolt rekonstitúciós oldatokat használat előtt szobahőmérsékletre kell melegíteni.
 - a. Párosítsa össze az egyes rekonstitúciós oldatokat a megfelelő liofilizált reagenssel. A feloldáshoz használt feltét csatlakoztatása előtt győződjön meg arról, hogy a rekonstitúciós oldat és a reagens címkéje azonos színű.
 - b. A törzstétel vonalkódos lapja (Master Lot Barcode Sheet) segítségével ellenőrizze, hogy megfelelő reagenseket párosított-e össze.
 - c. Vegye le a liofilizált reagens üvegéről a kupakot, és határozott mozdulattal illessze be a rekonstitúciós feltét bevágott végét az üveg nyílásába (1. ábra, 1. lépés).
 - d. Nyissa fel a megfelelő rekonstitúciós oldatot, és helyezze a kupakot tiszta, lefedett munkafelületre.
 - e. Támassza meg a rekonstitúciós oldat üvegét az asztalon, és határozott mozdulattal illessze be a feltét másik végét az üveg nyílásába (1. ábra, 2. lépés).
 - f. Lassan fordítsa fejjel lefelé az így összekapcsolt üvegeket. Hagyja, hogy az oldat lefolyjon az üvegből a porüvegbe (1. ábra, 3. lépés).
 - g. Forgatással alaposan keverje össze az oldatot a porüvegben (1. ábra, 4. lépés).
 - h. Várja meg, amíg a liofilizált reagens teljesen feloldódik, majd ismét fordítsa meg a palackokat 45°-os dőlésszöget használva a habképződés minimalizálása érdekében (1. ábra, 5. lépés). Hagyja, hogy a folyadék lefolyjon a rekonstitúciós oldat palackjába.
 - i. Vegye le a rekonstitúciós feltétet és a porüveget (1. ábra, 6. lépés).
 - j. Helyezze vissza a műanyag palack kupakját. A címkére írja rá a kezelő nevének monogramját és a feloldás dátumát (1. ábra, 7. lépés).
 - k. Dobja ki a rekonstitúciós feltétet és a porüveget (1. ábra, 8. lépés).

Opció: Az amplifikációs, az enzim- és a próbareagensek további keverése elvégezhető csőrázóval. A reagenseket úgy keverheti össze, hogy a visszacsomagolt műanyag palackot legalább 5 percre 20 fordulat/perc (vagy azzal egyenértékű) sebességű csőrázóra helyezi.

Figyelmeztetés: A reagensek feloldása során kerülje a habképződést. A hab zavarja a Panther System készülék szintérezelő funkcióját.

Figyelmeztetés: A várt teszteredmények előfeltétele a vizsgálati reagensek megfelelő összekeverése.



1. ábra Reagensek feloldása – Panther System

2. Készítse el a célmolekula-megkötő reagens munkahígítását (wTCR)
 - a. Párosítsa össze a megfelelő TCR és IC üvegeket.
 - b. A törzstétel vonalkódos lapja (Master Lot Barcode Sheet) segítségével ellenőrizze, hogy megfelelő reagenseket párosított-e össze a készletből.
 - c. Nyissa fel a TCR üvegét, és helyezze a kupakot tiszta, lefedett munkafelületre.
 - d. Nyissa fel az IC üvegét és töltse az üveg teljes tartalmát a TCR üvegébe. Várható, hogy kis mennyiségű folyadék az IC üvegben marad.
 - e. Helyezze fel a TCR kupakját, és óvatosan forgassa az üveget a tartalom összekeveréséhez. Kerülje a habképződést ebben a lépésben.
 - f. Írja fel a kezelő monogramját és az aktuális dátumot a címkére.
 - g. Ártalmatlanítsa az elhasznált IC üveget és a kupakját.
3. A szelekciós reagens előkészítése
 - a. Ellenőrizze a reagenspalack tételszámát, és bizonyosodjon meg arról, hogy megegyezik a törzstétel vonalkódos lapján szereplő számmal.
 - b. Írja fel a kezelő monogramját és az aktuális dátumot a címkére.

Megjegyzés: A rendszerbe töltés előtt fejjel lefelé fordítva óvatosan keverje össze mindegyik reagensüveg tartalmát. Eközben kerülje a habképződést.

C. Előzőleg feloldott reagensek előkészítése

1. Az előzőleg feloldott amplifikációs, enzim- és próbareagenseket hagyni kell szobahőmérsékletre melegedni (15–30 °C) a vizsgálat elindítása előtt.

Opció: A reagenseket szobahőmérsékletre melegedése elősegíthető úgy, hogy az elkészített amplifikációs, enzim- és próbareagenseket legalább 25 percre 20 RPM sebességű (vagy azzal egyenértékű) csőrázóba helyezzük.
2. Ha a feloldott próbareagensben csapadék képződött és szobahőmérsékleten nem oldható fel, melegítse a kupakkal lezárt üveget legfeljebb 62 °C-on 1–2 percig. A hőkezelés után a próbareagens akkor is használható, ha csapadék marad vissza. Mielőtt betöltené a

rendszerbe, a próbareagenst fel és le forgatva homogenizálja, ügyelve arra, hogy ne képződjön hab.

3. A rendszerbe töltés előtt fejfelé fordítva óvatosan keverje össze mindegyik reagensüveg tartalmát. Eközben kerülje a habképződést. Erre a lépésre nincs szükség, ha a reagenseket közvetlenül a csőrázóban történő keverés után töltik be a rendszerbe.
4. A reagensüvegeket nem szabad utántölteni. A Panther System készülék felismeri és elutasítja az utántöltött üvegeket.
5. *A várt teszteredmények előfeltétele a vizsgálati reagensek megfelelő összekeverése.*

D. A minta kezelése Panther Fusion mintalízis csővel vagy Aptima mintaszállító csővel

Megjegyzés: *Készítsen elő egy mintát a Mintavétel és -tárolás fejezetben szereplő Mintaelőkészítési utasítások szerint, mielőtt a mintákat a Panther rendszerbe töltené.*

1. Az állványba töltés előtt vizsgálja meg a mintacsöveket. Ha egy mintacső buborékokat tartalmaz, vagy kisebb a mennyisége, mint általában megfigyelhető, finoman koppintson a cső aljára, hogy a tartalom a cső aljára kerüljön.

Megjegyzés: *A feldolgozási hibák elkerülése érdekében a Panther Fusion mintalízis csőbe vagy az Aptima mintaszállító csőbe átvitt minták esetében ügyeljen arra, hogy megfelelő minta mennyiséget adjon a csőbe. Ha megfelelően levett mintát adunk a csőbe, akkor a rendelkezésre álló mennyiség 3 nukleinsav-extrakció végrehajtására elegendő.*

E. A vizsgálati minta kezelése Hologic mintalízis cső használatával

1. Készítse elő a vizsgálati mintákat a *Mintavétel és -tárolás* részben foglalt mintafeldolgozási utasításoknak megfelelően.

Megjegyzés: *A feldolgozási hibák elkerülése érdekében a Hologic mintalízis csőbe átvitt vizsgálati minták esetében ügyeljen arra, hogy megfelelő mintamennyiséget adjon a csőbe.*

Megjegyzés: *Ha megfelelően levett vizsgálati mintát adunk a Hologic mintalízis csőbe (PRD-06554), akkor a rendelkezésre álló mennyiség 2 nukleinsav-extrakció végrehajtására elegendő.*

Megjegyzés: *Aptima SARS-CoV-2 kupak nélküli cső assay szoftver használatakor távolítsa el a kupakot a pozitív és negatív kontrollról, mielőtt betöltené azokat a Panther rendszerbe.*

Megjegyzés: *A Továbbfejlesztett közvetlenül betölthető Tube cső (RespDirect mintavevő készlet) esetében 4 nukleinsav-extrakció elvégzéséhez elegendő térfogat áll rendelkezésre.*

F. A rendszer előkészítése

1. Állítsa be a rendszert a *Panther/Panther Fusion System Kezelői kézikönyve* és a *Megjegyzések az eljáráshoz* szerinti utasítások alapján. Ügyeljen arra, hogy megfelelő méretű reagensállványokat és TCR adaptereket használjanak.
2. Töltse be a mintákat.

Megjegyzések az eljáráshoz

A. Kontrollok

1. A Panther rendszer Aptima Assay szoftverének megfelelő működéséhez egy pár kontroll szükséges. Az Aptima SARS-CoV-2 pozitív és negatív kontrollokat az állvány bármelyik helyzetébe vagy a Panther rendszer bármelyik mintasávjába be lehet tölteni. A betegminta pipettázása akkor indul el, ha az alábbi feltételek egyike teljesül:

- a. A rendszer egy pár kontroll feldolgozását végzi.
 - b. Érvényes kontrolleredményeket regisztrált a rendszer.
2. Miután kipipettázták a kontrollt a csövekbe és folyamatban van a feldolgozásuk egy adott reagenskészlet mérése során, az adott reagenskészlethez kapcsolódó minták 24 óráig futtathatók, kivéve, ha:
- a. A kontroll eredmények érvénytelenek.
 - b. A kapcsolódó assay reagenskészletet eltávolítják a rendszerből.
 - c. A kapcsolódó assay reagenskészlet meghaladta a stabilitási határértékeket.
3. Minden Aptima kontrollcső egyszer tesztelhető. Ha egynél több példányt próbál készíteni a csőből, az feldolgozási hibát idézhet elő.
4. A betegminta pipettázása akkor indul el, ha az alábbi feltételek egyike teljesül:
- a. Érvényes kontrolleredményeket regisztrált a rendszer.
 - b. A rendszer egy pár kontroll feldolgozását végzi.
- B. Hőmérséklet
- A szobahőmérséklet definíció szerint 15–30 °C.
- C. Púderes kesztyűk
- Mint más reagensrendszerek esetében, az egyes típusú kesztyűkön található túlzott mennyiségű púder a felnyitott csövek kontaminációjához vezethet. Púdermentes kesztyűk használata javasolt.
- D. Laboratóriumi szennyezésfigyelő protokoll a Panther rendszerhez
- Számos laboratóriumra specifikus tényező járulhat hozzá a szennyeződéshez, beleértve a vizsgálati mennyiséget, a munkafolyamatot, a betegség prevalenciáját és számos más laboratóriumi tevékenységet. Ezeket a tényezőket figyelembe kell venni a szennyezés-monitorozás gyakoriságának megállapításakor. A szennyezés-monitorozás intervallumait az egyes laboratóriumi gyakorlat és eljárások alapján kell meghatározni.
- A laboratóriumi szennyeződés monitorozása érdekében a következő eljárást lehet elvégezni az Aptima Unisex mintavevő vattapálca készlet használatával, endocervicalis és férfi húgyúti kenetminták esetén:
1. Címkézze fel a kenetminta-szállító csöveket a vizsgálandó területeknek megfelelő számokkal.
 2. Távolítsa el a mintavevő vattapálcát (kék pálcát zöld nyomtatással) a csomagolásából, nedvesítse meg a vattapálcát a mintaszállító közeggel (STM), és körkörös mozdulatokkal törölje át a kijelölt területet.
 3. Azonnal tegye a mintavevő vattapálcát a szállítócsőbe.
 4. Óvatosan törje el a mintavevő vattapálcát a törővonalnál; ügyeljen arra, hogy a cső tartalma ne fröccsenjen ki.
 5. Tegye vissza a kupakot szorosan a kenetminta-szállító csőre.
 6. Ismétlje meg a 2 – 5. lépéseket minden egyes területre, ahonnan kenetmintát kell venni.
- E. Ha az eredmények pozitívak, lásd: *Az eredmények értelmezése*. A Panther rendszer-specifikus szennyezés-monitorozással kapcsolatos további információkért forduljon a Hologic műszaki ügyfélszolgálatához.

Minőségellenőrzés

A futtatást vagy a minta eredményét érvénytelenítheti a Panther rendszer, ha problémák merülnek fel a vizsgálat végrehajtása során. Az érvénytelen eredménnyel rendelkező mintákat újra tesztelni kell.

Negatív és pozitív kontrollok

Az érvényes eredmények előállításához egy assay kontroll sorozatot kell tesztelni. A negatív és a pozitív assay kontrollból minden alkalommal tesztelni kell egyet, amikor új készletet töltünk be a Panther rendszerbe, vagy amikor az érvényes kontrollok aktuális készlete lejárt.

A Panther rendszer úgy van konfigurálva, hogy megkövetelje az assay kontrollok futtatását az adminisztrátor által meghatározott, legfeljebb 24 órás időközönként. A Panther rendszer szoftvere riasztja a kezelőt, ha az assay kontrollok tesztelése szükséges, és nem kezd új tesztek, amíg az assay kontrollok nincsenek betöltve és meg nem kezdték azok feldolgozását.

A feldolgozás során az assay kontrollok elfogadási kritériumait a Panther rendszer automatikusan ellenőrzi. Ahhoz, hogy az eredmények érvényesek legyenek, az assay kontrolloknak át kell esniük a Panther rendszer által elvégzett érvényességi ellenőrzések sorozatán.

Ha az assay kontrollok minden érvényességi ellenőrzésen megfelelnek, akkor azokat a adminisztrátor által megadott időintervallumokra érvényesnek tekintik. Az időintervallum letelte után az assay kontrollokat a Panther rendszer lejárnak tekinti, és egy új mintavétel megkezdése előtt a rendszer megköveteli egy új assay kontroll készlet tesztelését.

Ha valamelyik assay kontroll esetében nem sikerül az érvényesség ellenőrzése, a Panther rendszer automatikusan érvényteleníti az érintett mintákat, és az új mintavételek megkezdése előtt új assay kontroll készlet tesztelését kéri.

Belső kontroll

Minden wTCR minta mellett egy belső kontrollt futtatunk. A feldolgozás során a belső kontroll elfogadási kritériumait automatikusan ellenőrzi a Panther rendszerszoftver. A belső kontroll kimutatása nem szükséges azoknál a mintáknál, amelyek a SARS-CoV-2-re pozitívak. A belső kontrollt minden olyan mintában ki kell mutatni, amely a SARS-CoV-2-re negatív. Azokat a mintákat, amelyek nem felelnek meg az említett kritériumoknak, a rendszer érvénytelenként jelenti. Minden érvénytelen eredménnyel rendelkező mintaanyagot újra kell tesztelni.

A Panther rendszert úgy tervezték, hogy pontosan ellenőrizze a folyamatokat, amikor az eljárásokat az ebben a tájékoztatóban és a *Panther/Panther Fusion System Kezelői kézikönyvben* foglalt utasítások szerint hajtják végre.

Az eredmények értelmezése

A Panther rendszer automatikusan meghatározza a minták és a kontrollok vizsgálati eredményeit. A teszt eredménye lehet negatív, pozitív vagy érvénytelen.

Az 1. táblázat az érvényes futtatás esetében jelentett lehetséges eredményeket mutatja az eredmények értelmezésével.

1. táblázat: Az eredmények értelmezése

SARS-CoV-2 eredmény	IC eredmény	Értelmezés
Neg	Érvényes	SARS-CoV-2 nem kimutatható.
POS	Érvényes	SARS-CoV-2 kimutatható.
Érvénytelen	Érvénytelen	Érvénytelen. Hiba történt az eredmény létrehozásakor; tesztelje újra a mintát.

Megjegyzés: A belső kontroll kimutatása nem szükséges azoknál a mintáknál, amelyek a SARS-CoV-2-re pozitívak.

Az egyesített minták eredményeinek értelmezése

Negatív: Az egyesített minta tesztjének negatív eredményei nem tekinthetők véglegesnek. Ha a beteg klinikai jelei és tünetei nincsenek összhangban a negatív eredménnyel, és ha az eredmények a beteg kezeléséhez szükségesek, akkor a betegnél egyedi vizsgálat elvégzését kell mérlegelni. A mintaegyesítés alkalmazását minden olyan minta esetében fel kell tüntetni, amelynek eredménye negatív.

Pozitív: A pozitív eredménnyel rendelkező egyesített mintákhoz tartozó mintákat egyedileg kell tesztelni az eredmény jelentése előtt. Az alacsony vírusterhelésű mintákat nem lehet kimutatni az egyesített mintákban, mivel az egyesített tesztek érzékenysége csökkent.

Érvénytelen: Az érvénytelen eredménnyel rendelkező vizsgálati mintákat egyedileg kell tesztelni az eredmény jelentése előtt. Érvénytelen futtatás esetén azonban az egyesített minták ismételt tesztelése megfelelő lehet, a laboratóriumi munkafolyamattól és a kívánt eredményjelentési időtől függően.

Korlátozások

- A. Ezt az assay-t kizárólag az eljárás elvégzésére képzett személyzet végezheti el. Az utasítások be nem tartása téves eredményeket eredményezhet.
- B. A megbízható eredmények a megfelelő mintavételtől, -szállítástól, -tárolástól és -feldolgozástól függenek.
- C. A helyes laboratóriumi gyakorlatok és a tájékoztatóban meghatározott eljárások betartásával kerülje el a szennyeződést.
- D. A pozitív eredmény a releváns vírustól származó nukleinsav kimutatását jelzi. A nukleinsav akkor is fennmaradhat, ha a vírus már életképtelen.
- E. Az Aptima SARS-CoV-2 vizsgálat általános, tünetmentes szűrőpopulációban történő alkalmazása az infekciókontroll terv részeként használható, amely további megelőző intézkedéseket, például előre meghatározott sorozatos vizsgálati tervet vagy a magas kockázatú egyének célzott vizsgálatát is magában foglalhat. A negatív eredményeket feltételezettnek kell tekinteni, és nem zárják ki a közösségi átvitel vagy más expozíció révén szerzett jelenlegi vagy jövőbeli fertőzést. A negatív eredményeket az egyén közelmúltbeli expozícióinak, kórtörténetének, valamint a COVID-19-nek megfelelő klinikai jelek és tünetek jelenlétének összefüggésében kell vizsgálni.
- F. A COVID-19 vírussal fertőzött, tünetmentes egyének esetleg nem bocsátanak ki annyi vírust, hogy elérjék a teszt kimutatási határát, így hamis negatív eredményt adnak.
- G. Tünetek hiányában nehéz megállapítani, hogy a tünetmentes egyéneknél túl későn vagy túl korán végezték-e el a tesztet. Ezért a tünetmentes egyéneknél negatív eredményeket adhatnak olyan egyének, akiket túl korán teszteltek, és később pozitívvá válhatnak, olyan egyének, akiket túl későn teszteltek, és akiknél a fertőzés szerológiai vizsgálattal igazolható, vagy olyan egyének, akik soha nem voltak fertőzöttek.
- H. A következő VTM/UTM típusokat validálták.
- Remel MicroTest M4, M4RT, M5 vagy M6 készítmények
 - Copan univerzális szállítóközeg
 - BD univerzális vírusszállító közeg
- Megjegyzés:** Ne használjon olyan közeget, amely guanidinium-tiocianátot tartalmazhat, vagy bármilyen guanidint tartalmazó anyagot.

A Panther SARS-CoV-2 assay teljesítménye

Analitikai szenzitivitás

Az Aptima SARS-CoV-2 vizsgálat analitikai szenzitivitását (kimutatási határ vagy LoD) inaktivált tenyésztett SARS-CoV-2 vírussal (USA-WA1/2020; BEI Források; NR-52281) adalékolt, feldolgozott negatív klinikai nasopharyngealis UTM/VTM kenetminták és a SARS-CoV-2 WHO Nemzetközi standard (NIBSC 20/146) sorhígításainak vizsgálatával határozták meg. A tenyésztett vírus esetében. Az egyes sorhígításokkal végzett tíz ismétlést értékelték két vizsgálati reagenstétel mindegyikével két Panther rendszeren. A LoD a meghatározás alapján 0,01 TCID₅₀/mL volt a vizsgált mintában, és további 20 ismétlés vizsgálatával ellenőrizték egy vizsgálati reagenstétellel. A LoD-t fiziológiás sóoldatban, Liquid Amies alapú folyékony szállítóközegben és vizsgálatiminta-szállító közegben (STM) lévő kenetmintákkal erősítették meg. A WHO Nemzetközi standard esetében a három reagens-tétel mindegyikével legalább 24 ismétlést teszteltek Probit-elemzéssel minden egyes tételnél, és további 24 ismétléssel megerősítették egy tétel felhasználásával. A legalacsonyabb koncentráció, amelyenél ≥95%-os kimutatás volt megfigyelhető, 87,5 NE/ml volt (224 NE/ml a tiszta, feldolgozatlan mintában). A LoD megerősítését elvégezték a RespDirect mintavevő készlettel is huszonnégy ismétléssel, egyetlen reagens tételben, és ≥95%-os kimutatás volt megfigyelhető 27,7–87,5 NE/ml mellett.

Hasonlóan tervezett vizsgálatot végeztek az Aptima SARS-CoV-2 analitikai érzékenységének meghatározására nyálminták felhasználásával. Az egyesített negatív klinikai nyálminta mátrixhoz inaktivált tenyésztett SARS-CoV-2 vírust adtak hozzá (USA-WA1/2020; BEI erőforrások: NR-52281). A LoD a meghatározás alapján 0,01 TCID₅₀/ml volt a vizsgált mintában, ami 0,13 TCID₅₀/ml koncentrációnak felel meg a levett nyálmintában.

Az Aptima SARS-CoV-2 assay analitikai szenzitivitását emellett három kereskedelmi forgalmazó referenciaanyagának felhasználásával értékelték. A referenciaanyag sorhígítását STM-ben készítették el, és minden szintnél 20 vagy több ismétlést teszteltek két Panther rendszeren, két assay reagenstétel felhasználásával. A referenciaanyagokat és a ≥ 95%-os kimutatást eredményező legalacsonyabb hígítási szinteket a 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat: A kereskedelmi referenciaanyagok analitikai szenzitivitásának értékelése

Beszállító	Név	Referenciaszám	Tételszám	Analitikai szenzitivitás
ZeptoMetrix	SARS-CoV-2 External Run kontroll	NATSARS(COV2)-ERC	324332	83 kópia/ml
SeraCare	AccuPlex SARS-Cov-2 referenciaanyag	0505-0126	10483977	83 kópia/ml
Exact Diagnostic	SARS-CoV-2 standard	COV019	20033001	83 kópia/ml

Analitikai szenzitivitás az Aptima mintaszállító cső munkafolyamatával

Az Aptima SARS-CoV-2 assay 0,01 TCID₅₀/ml meghatározott analitikai szenzitivitását (kimutatási határ) az Aptima mintaszállító cső mintaelőkészítési munkafolyamatával igazolták. A megerősítést inaktivált tenyésztett SARS-CoV-2 vírussal (USA-QA1/2020; BEI Források; NR-52281) végezték negatív klinikai nasopharyngealis (NP) kenetmintával, fiziológiás sóoldatban, Liquid Amies alapú folyékony szállítóközegben és mintaszállító közegben (STM) lévő kenetmintákkal, egy reagenstételen végzett 20 ismétléssel (3. táblázat).

3. táblázat: Az LoD megerősítése az Aptima mintaszállító cső munkafolyamatával

Cél-	mátrix	N Érvényes	N Pozitív	Pozitivitás %-os aránya	Átl kRLU	Szórás kRLU	%CV
Inaktivált SARS-CoV-2 vírus	NP kenetminta	20	20	100%	1063	61	5,8%
	STM	20	20	100%	1064	116	10,9%
	Sóoldat	20	20	100%	1102	60	5,4%
	Folyékony Amies	20	20	100%	1101	51	4,7%

Inkluzivitás

Az Aptima SARS-CoV-2 assay inkluzivitását a vizsgálat célmolekula-megkötő oligomereinek, amplifikációs primereinek és detektáló próbáinak *in silico* elemzésével értékelték az NCBI és a GISAID génadatbázisokban elérhető 9 896 SARS-CoV-2 szekvenciához viszonyítva. Bármely hiányzó vagy félreérthető szekvenciainformációval rendelkező szekvenciát eltávolítottak az elemzésből, amelynek eredményeként 9 879 szekvenciát értékelték a vizsgálat első cél régiójára és 9 880 szekvenciát a második cél régióra vonatkozóan. Az *in silico* analízis mindkét célrendszer assay oligomereivel 100%-os homológiát mutatott a 9 749 értékelt szekvenciánál (98,5%), és 100%-os homológiát jelzett mind a 9 896 szekvencia esetében legalább egy célrendszer assay oligomereivel. Nem voltak olyan kiértékelt szekvenciák, amelyek olyan azonosított eltéréseket mutattak, amelyek várhatóan befolyásolják mindkét célrendszer hatását vagy teljesítményét.

Analitikai specifitás és mikrobiális interferencia

Az Aptima SARS-CoV-2 assay analitikai specifitását 30 mikroorganizmus tesztelésével értékelték, amelyek általános légúti kórokozókat vagy szorosan rokon fajokat képviselnek (4. táblázat). A baktériumokat 10^6 CFU/ml mellett, a vírusokat pedig 10^5 TCID₅₀/ml mellett tesztelték, kivéve, ahol másként jelezték. A mikroorganizmusokat SARS-CoV-2 inaktivált vírus jelenlétével és anélkül tesztelték 3x LoD mellett. Az Aptima SARS-CoV-2 assay analitikai specifitása 100%-os volt, mikrobiális interferenciára utaló bizonyíték nélkül.

A mikroorganizmusok vizsgálata mellett *in silico* elemzést is végeztek a vizsgálat specifitásának felmérésére a 4. táblázatban felsorolt mikroorganizmusok vonatkozásában. Az *in silico* analízis nem mutatott valószínűsíthető keresztreakciót az értékelt 112 GenBank szekvencia egyikével sem.

4. táblázat: Az Aptima SARS-CoV-2 analitikai specificitása és mikrobiális interferencia vizsgálatánál alkalmazott mikroorganizmusok

Mikroorganizmus	Koncentráció	Mikroorganizmus	Koncentráció
Humán koronavírus 229E	1E+5 TCID ₅₀ /ml	Parainfluenza vírus 1	1E+5 TCID ₅₀ /ml
Humán koronavírus OC43	1E+5 TCID ₅₀ /ml	Parainfluenza vírus 2	1E+5 TCID ₅₀ /ml
Humán koronavírus HKU1 ¹	1E+6 kópia/ml	Parainfluenza vírus 3	1E+5 TCID ₅₀ /ml
Humán koronavírus NL63	1E+4 TCID ₅₀ /ml	Parainfluenza vírus 4	1E+3 TCID ₅₀ /ml
SARS-koronavírus ¹	1E+6 kópia/ml	Influenza A	1E+5 TCID ₅₀ /ml
MERS-koronavírus	1E+4 TCID ₅₀ /ml	Influenza B	2E+3 TCID ₅₀ /ml
Adenovírus (pl. C1 Ad. 71)	1E+5 TCID ₅₀ /ml	Enterovírus (pl. EV68)	1E+5 TCID ₅₀ /ml
Humán metapneumovírus (hMPV)	1E+6 TCID ₅₀ /ml	Rhinovirus	1E+4 TCID ₅₀ /ml
Légúti syncytialis 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
Egyesített humán orröblítési minta ² - az emberi légzőrendszerben élő mikroflóra megjelenítésére	N/A		

¹ Tenyésztett vírus és a teljes genomból tisztított nukleinsav a humán koronavírus HKU1 és a SARS-koronavírus esetében nem áll rendelkezésre. A vizsgálattal megcélzott ORF1ab génrégióknak megfelelő HKU1 és SARS-koronavírus IVT-eket alkalmazták a keresztreaktivitás és a mikrobiális interferencia értékelésére.

² Az egyesített humán orröblítési minta értékelése helyett 30 egyedi negatív klinikai NP kenetmintát teszteltek az emberi légzőrendszerben élő mikroflóra megjelenítésére.

A mintavevő eszköz egyenértékűsége

A VTM/UTM közegbe levett NP vizsgálati minták és a RespDirect (eSTM) rendszerbe levett NP és NS vizsgálati minták egyenértékűségét egyedi negatív vizsgálati minták és a légúti fertőzés tüneteit mutató betegektől levett, párosított negatív klinikai NP és NS kenetmintákból készített mesterséges pozitív panelek vizsgálatával értékelték. A mesterséges paneleket úgy állították elő, hogy az egyes donorok párosított NP és NS vizsgálati mintáit a SARS-CoV-2 WHO nemzetközi standardjával a 2-szeres és 5-szörös LoD értéknek megfelelő mennyiségben adalékolták.

A negatív és a mesterséges panelek eredményei hasonló egyezést mutattak a két mintavevő eszköz és a vizsgálati minták típusai között (5. táblázat).

5. táblázat: A SARS-CoV-2-vel adalékolt, egyes mintavevő eszközökkel levett, párosított egyedi klinikai vizsgálati mintákból álló negatív és mesterséges panelek eredményei

Analit	Minta koncentrációja	N mintavevő eszközönként	VTM/UTM %-os egyezés	RespDirect-NP %-os egyezés	RespDirect-NS %-os egyezés
Nincs (Negatív minta)	0	150	99,3	97,3	100
SARS-CoV-2	2X LoD	50	100	100	100
	5X LoD	50	100	100	100

Klinikai teljesítőképesség

Klinikai teljesítőképesség az UTM/VTM használatával levett nasopharyngealis kenetmintáknál

Az Aptima SARS-CoV-2 assay klinikai teljesítményét a Panther Fusion SARS-CoV-2 assay-hez (Hologic, Inc.) viszonyítva értékelték, maradék klinikai mintákból álló panel segítségével. A vizsgálathoz a légúti fertőzés jeleit és tüneteit mutató amerikai betegektől származó megmaradt klinikai nasopharyngealis mintákat gyűjtöttek össze.

Referencia eredményként kiszámították a pozitív százalékos egyezést (Positive Percent Agreement, PPA) és a negatív százalékos egyezést (Negative Percent Agreement, NPA) a Panther Fusion assay-hez viszonyítva, amelyet az 6. táblázat mutat. Az Aptima SARS-CoV-2 assay 100% pozitív és 98,2% negatív egyezést mutatott.

A nasopharyngealis mosófolyadék/aspirátum, a nasalis aspirátum, az orrkenetek és az orrkagyló középső részéről vett kenetek elfogadható minták a vírusos légúti fertőzések tesztelésére. Az ilyen mintatípusok teljesítményét azonban nem értékelték kifejezetten az Aptima SARS-CoV-2 assay-vel.

6. táblázat: Aptima SARS-CoV-2 klinikai egyezés

		Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay	
		Pozitív	Negatív
Aptima SARS-CoV-2 Assay	Pozitív	50	1
	Negatív	0	54

Pozitív százalékos egyezés: (95% CI): 100% (92,9% - 100%)

Negatív százalékos egyezés: (95% CI): 98,2% (90,4% - 99,7%)

Általános egyezés: (95% CI): 99,0% (94,8% - 99,8%)

Klinikai teljesítőképesség a RespDirect mintavevő készlettel az orr elülső részéből levett kenetmintáknál

Ebben a multicentrikus vizsgálatban az Aptima SARS-CoV-2 vizsgálat klinikai teljesítőképességét értékelték a COVID-19-nek megfelelő légúti fertőzés tüneteit mutató egyénekből származó, az orr elülső részéről (ANS) levett kenetminták esetében, amelyeket az új RespDirect mintavevő pálcával vettek a továbbfejlesztett mintaszállító közegbe (eSTM). Minden alanytól két vizsgálati mintát vettek prospektív módon, egy vizsgálati mintát vírusszállító közegben (VTM), amelyet egy képzett egészségügyi szakember (HCP) vett le egy szabvány mintavevő pálca segítségével, és egy vizsgálati mintát RespDirect eSTM közegben, amelyet vagy az egészségügyi szakember vagy a beteg (egészségügyi szakember felügyelete mellett) vett a RespDirect mintavevő pálca segítségével. A vizsgálatban szereplő összes ANS kenetmintát 2023 januárja és 2023 februárja között vették le.

Az RespDirect eSTM közegbe levett összes ANS vizsgálati mintát az Aptima SARS-CoV-2 vizsgálatlal tesztelték három amerikai klinikai vizsgálóhelyen. A VTM közegbe levett összes ANS vizsgálati mintát két, gyorsított eljárásban engedélyezett (EUA) nukleinsav-amplifikációs tesztel (NAAT) vizsgálták a SARS-CoV-2 fertőzöttségi státusz megállapítása érdekében, egy összetett összehasonlító algoritmus alapján. Ha bármelyik összehasonlító vizsgálat mintája pozitív lett, az SARS-CoV-2 fertőzött státuszt eredményezett; mindkét összehasonlító vizsgálat eredményének negatívnak kellett lennie ahhoz, hogy a SARS-CoV-2 fertőzött státusz negatív legyen. A pozitív (PPA) és negatív (NPA) százalékos egyezést a SARS-CoV-2 fertőzöttségi státuszhoz viszonyítva számították ki.

Az általános PPA 96,1%, az NPA pedig 97,1% volt az Aptima SARS-CoV-2 vizsgálat esetében a tüneteket mutató egyénektől, RespDirect eSTM közegbe levett ANS vizsgálati mintákkal, amint az a 7. táblázatban látható. A pozitív SARS-CoV-2 fertőzöttségi státuszú ANS kenetminták Ct-értékei 18,18 és 35,71 között mozogtak (átlag: 27,14) az 1. NAAT esetében, valamint 15,3 és 44,5 között (átlag: 26,50) a 2. NAAT esetében. Az öt, hamis pozitív eredményt mutató ANS vizsgálati mintát nem vizsgálták újra alternatív nukleinsav-amplifikációs teszttel.

7. táblázat: Klinikai teljesítőképesség a RespDirect eSTM közegbe levett ANS vizsgálati mintákban

		SARS-CoV-2 fertőzöttségi státusz	
		Pozitív	Negatív
Általános	Pozitív	49	5
	Negatív	2	169
		PPA: 96,1% (86,8% – 98,9%)	
		NPA: 97,1% (93,5% – 98,8%)	

Klinikai teljesítmény mesterséges panellel

Az Aptima SARS-CoV-2 assay klinikai teljesítményét az Aptima mintaszállító cső mintaelőkészítési munkafolyamatával értékelték, egy mesterséges mintákból álló panellel összehasonlítva. A vizsgálat során 115 maradék klinikai nasopharyngealis mintából álló panelt teszteltek mind a Panther Fusion mintalízis cső (Specimen Lysis Tube), mind pedig az Aptima mintaszállító cső munkafolyamatainak felhasználásával. Az összes mintát a légúti fertőzés jeleit és tüneteit mutató amerikai betegektől vették. A panel 65 SARS-CoV-2 pozitív és 50 SARS-CoV-2 negatív mintából állt. A 65 pozitív minta közül 40 koncentrációja 0,5-2x LoD volt, 25 pedig 3-5x LoD, célként inaktivált tenyésztett SARS-CoV-2 vírust (USA-QA1/2020; BEI Források; NR-52281) alkalmazva.

A pozitív százalékos egyezést (Positive Percent Agreement, PPA) és a negatív százalékos egyezést (Negative Percent Agreement, NPA) mindkét mintaelőkészítési munkafolyamatnál a mesterséges mintapanel várható eredményéhez viszonyítva számolták, amelyet az Aptima mintaszállító cső esetében a 8. táblázat, a mintalízis cső esetében pedig a 9. táblázat mutat be. A mesterséges minták kimutatási jellemzőit a célkoncentráció alapján számították ki, amint az a 10. táblázatban látható. Mindkét mintaelőkészítési munkafolyamat 100%-os egyezést mutatott az értékelt panelek esetében.

8. táblázat: Az Aptima mintaszállító cső munkafolyamatának teljesítménye a várt eredményekhez viszonyítva

		Várt eredmény		
		Pozitív	Negatív	Összesen
Az Aptima mintaszállító cső eredménye	Pozitív	65	0	65
	Negatív	0	50	50
	Összesen	65	50	115

Általános egyezés: 100% (96,8% - 100%)

Pozitív egyezés: 100% (94,4% - 100%)

Negatív egyezés: 100% (92,9% - 100%)

9. táblázat: A mintalízis cső munkafolyamatának teljesítménye a várt eredményekhez viszonyítva

		Várt eredmény		
		Pozitív	Negatív	Összesen
A mintalízis cső eredménye	Pozitív	65	0	65
	Negatív	0	50	50
	Összesen	65	50	115

Általános egyezés: 100% (96,8% - 100%)

Pozitív egyezés: 100% (94,4% - 100%)

Negatív egyezés: 100% (92,9% - 100%)

10. táblázat: Mesterséges nasopharyngealis kenetminták kimutatási jellemzői

Célkonc.	Aptima mintaszállító cső munkafolyamat						Mintalízis cső munkafolyamat					
	n Érvényes	n Pozitív	% Pozitív	Átlagos kRLU	Szórás kRLU	%CV	n Érvényes	n Pozitív	% Pozitív	Átlagos kRLU	Szórás kRLU	%CV
Neg	50	0	0	299	9,7	3,2	50	0	0	300	9,3	3,1
0,5x LoD	10	10	100	1050	208,5	19,9	10	10	100	1153	113,0	9,8
1,0x LoD	10	10	100	1176	102,1	8,7	10	10	100	1205	24,3	2,0
1,5x LoD	10	10	100	1222	31,6	2,6	10	10	100	1223	21,9	1,8
2,0x LoD	10	10	100	1225	22,6	1,8	10	10	100	1237	26,0	2,1
3,0x LoD	10	10	100	1228	13,6	1,1	10	10	100	1215	25,5	2,1
4,0x LoD	5	5	100	1238	16,7	1,4	5	5	100	1212	12,5	1,0
5,0x LoD	10	10	100	1237	18,2	1,5	10	10	100	1246	28,3	2,3

Klinikai teljesítmény természetes úton fertőzött pozitív mintákkal

Az Aptima SARS-CoV-2 assay klinikai teljesítményét az Aptima mintaszállító cső mintaelőkészítési munkafolyamatával értékelték az Aptima és a Panther Fusion SARS-CoV-2 assay-vel tesztelt mintalízis cső munkafolyamatával összehasonlítva. A vizsgálathoz 15 egyedi SARS-CoV-2 pozitív nasopharyngealis kenetminta három hígítását készítették el és dolgozták fel mindkét munkafolyamattal. A SARS-CoV-2 mintákat korábban nem-Hologic molekuláris vizsgálat alapján pozitívnak találták.

Az Aptima SARS-CoV-2 assay pozitív százalékos egyezése az Aptima mintaszállító cső és a mintalízis cső munkafolyamatával sorrendben 97,5% (87,1% - 99,6%), illetve 100% (91,0% - 100%) volt, a referenciaként alkalmazott Panther Fusion SARS-CoV-2 assay-vel összehasonlítva, a mintalízis cső munkafolyamat felhasználásával. Az Aptima mintaszállító cső munkafolyamatának pozitív százalékos egyezése 95,0% (83,5% - 98,6%) volt, a mintalízis cső munkafolyamatával összehasonlítva.

Klinikai teljesítmény nyálmintákkal

Az Aptima SARS-CoV-2 vizsgálat klinikai teljesítményét nyálmintákkal az NP kenet vizsgálati mintákkal összehasonlítva értékelték 303 egyidejűleg vizsgált személy esetében. A 303 alany között volt 160 (52,8%), akik enyhe tüneteket mutattak, és 143 (47,2%), akik a vizsgálat idején tünetmentesek voltak. Referencia eredményként kiszámították a pozitív százalékos egyezést

(Positive Percent Agreement, PPA) a nyálmintákra vonatkozóan és a negatív százalékos egyezést (Negative Percent Agreement, NPA) az NP kenet vizsgálati mintákhoz viszonyítva, amelyet az 11. táblázat mutat. Az Aptima SARS-CoV-2 vizsgálat 87,0% pozitív és 99,2% negatív egyezést mutatott az egyes vizsgálati mintatípusok között.

11. táblázat: Aptima SARS-CoV-2 klinikai egyezés a nyál és NP kenet vizsgálati minták között

		NP kenetminta	
		Pozitív	Negatív
Nyál	Pozitív	47	2
	Negatív	7	245

Megjegyzés: 2 vizsgálati minta érvénytelen eredményeket adott.

Pozitív százalékos egyezés: (95% CI): 87,0% (83,0% - 96,0%)

Negatív százalékos egyezés: (95% CI): 99,2% (97,1% - 99,9%)

Klinikai teljesítmény tünetmentes egyéneknél

Az Aptima SARS-CoV-2 vizsgálat klinikai teljesítményét a légúti fertőzés jeleit és tüneteit nem mutató (tünetmentes) egyéneknél értékelték egy EUA molekuláris vizsgálattal összehasonlítva. Amerikai betegektől prospektíven levett nasopharyngealis kenet vizsgálati mintákat értékelték, köztük 45 SARS-CoV-2-re pozitív és 315 SARS-CoV-2-re negatív mintát, az EUA összehasonlító vizsgálat segítségével. A PPA-t és az NPA-t az EUA összehasonlító vizsgálat eredményeihez viszonyítva számították ki. A PPA 100%, az NPA pedig 96,5% volt az Aptima SARS-CoV-2 vizsgálat esetében tünetmentes egyéneknél, amint az a 12. táblázatban látható.

12. táblázat: Klinikai egyezés tünetmentes egyénektől vett NP kenet vizsgálati mintákban

		EUA vizsgálat	
		Pozitív	Negatív
Aptima SARS-CoV-2 vizsgálat	Pozitív	45	11
	Negatív	0	304

Pozitív százalékos egyezés (PPA): 100% (92,1% - 100%)

Negatív százalékos egyezés (NPA): 96,5% (93,9% - 98,0%)

A 11 hamis pozitív eredményt mutató NP kenet vizsgálati mintából hat (6) pozitív eredményt mutatott az összehasonlító EUA vizsgálattal végzett ismételt tesztet követően. E 6 minta Ct-értékei 35,5 és 38,9 között mozogtak, ami alacsony vírusterhelésre utalt.

Legfeljebb 5 minta tesztelés előtti egyesítésének klinikai teljesítménye

Az Aptima SARS-CoV-2 assay klinikai teljesítményét legfeljebb 5 mintából álló poolokban értékelték. A vizsgálat során 5 mintából álló poolt értékelték, amely pozitív és negatív minta poolokat tartalmazott. Minden pozitív minta poolban egy pozitív minta volt, a többi minta negatív volt, míg a negatív minta poolok csak negatív mintákból álltak. A vizsgálat során 50 pozitív és 20 negatív minta poolt értékelték. A vizsgálatban használt pozitív minták lefedték a vizsgálat kimutatási tartományát, és 20%-ban alacsony pozitív mintákat tartalmaztak. Az egyesítési vizsgálat klinikai teljesítményének értékeléséhez szükséges mintákat a Panther Fusion SARS-CoV-2 assay-vel kapott Ct eredmények alapján választották ki. Azért a Panther

Fusion SARS-CoV-2 assay-t használták erre a célra, mert a Panther Fusion SARS-CoV-2 és az Aptima SARS-CoV-2 assay-k LoD-értéke az FDA referenciapanelével való értékelés alapján megegyezik (azaz 600 NDU/ml). A vizsgálatba bevont alacsony pozitív minták definíció szerint azok a minták, amelyeknek a Ct értéke 1-2 Ct-n belül van a Panther Fusion SARS-CoV-2 assay LoD-jéhez viszonyítva. Mind az egyesített, mind az egyedi mintákat Aptima SARS-CoV-2 assay-vel értékelték.

Referencia eredményként kiszámították a pozitív százalékos egyezést (Positive Percent Agreement, PPA) és a negatív százalékos egyezést (Negative Percent Agreement, NPA), amelyet a 13. táblázat mutat. A poolban lévő valamennyi értékelt pozitív minta pozitív eredményt adott. Mivel az Aptima assay kRLU értékei nem felelnek meg a célkoncentrációnak, a jel és az in silico szenzitivitási elemzését nem végezték el.

13. táblázat: Egyedi és 5 mintából álló egyesített poolok egyezése

		Egyedi minta eredménye		
		Pozitív	Negatív	Összesen
5 mintából álló pool eredménye	Pozitív	50	0	50
	Negatív	0	20	20
	Összesen	50	20	70

Általános egyezés: 100% (94,8% - 100,0%)

Pozitív egyezés: 100% (92,9% - 100,0%)

Negatív egyezés: 100% (83,9% - 100,0%)

Legfeljebb 5, tünetmentes betegektől származó vizsgálati minta tesztelés előtti egyesítésének klinikai teljesítménye

Az Aptima SARS-CoV-2 vizsgálat klinikai teljesítményét tünetmentes betegektől származó vizsgálati mintákból álló készletekben értékelték. Legfeljebb 5 vizsgálati mintából álló méretű készleteket értékelték, pozitív és negatív, tünetmentes betegektől származó vizsgálati mintákkal egyaránt. Minden pozitív vizsgálati minta készletben egy pozitív minta volt, a többi minta negatív volt, míg a negatív minta készletek csak negatív mintákból álltak. A hármas készletmérethez 32 pozitív és 32 negatív vizsgálati minta készletet értékelték. A négyes készletmérethez 36 pozitív és 31 negatív vizsgálati minta készletet értékelték. Az ötös készletmérethez 36 pozitív és 30 negatív vizsgálati minta készletet értékelték. A vizsgálatban használt pozitív minták lefedték a vizsgálat kimutatási tartományát, és mindegyik készletméret 25%-ban alacsony pozitív mintákat tartalmazott. A klinikai teljesítményén vizsgálatába való felvételhez szükséges vizsgálati mintákat a Panther Fusion SARS-CoV-2 vizsgálatot kapott Ct eredmények alapján választották ki. Azért a Panther Fusion SARS-CoV-2 vizsgálatot használták erre a célra mert a Panther Fusion SARS-CoV-2 és az Aptima SARS-CoV-2 vizsgálatok LoD-értéke az FDA referenciapanelével való értékelés alapján megegyezik (azaz 600 NDU/ml). A vizsgálatba bevont alacsony pozitív minták definíció szerint azok a minták, amelyeknek a Ct értéke 1–2 Ct-n belül van a Panther Fusion SARS-CoV-2 vizsgálat LoD-jéhez viszonyítva. Mind az egyesített, mind az egyedi mintákat Aptima SARS-CoV-2 vizsgálatot értékelték.

Referencia eredményként mindegyik értékelt készletmérethez vonatkozóan kiszámították a pozitív százalékos egyezést (Positive Percent Agreement, PPA) és a negatív százalékos egyezést (Negative Percent Agreement, NPA), amelyet a 14., a 15. és a 16. táblázat mutat be. Három féle készletméret mellett a nyolc vizsgálati minta közül egy, amelynek célkoncentrációja a vizsgálat LoD-jén vagy annak közelében volt, az egyedi mérésnél pozitív eredményt adott, de amikor a

készlet részeként vizsgálták, akkor a pozitivitást nem mutatták ki. Négyes készletméret esetén az összes pozitív vizsgálati minta pozitív eredményt adott, amikor a vizsgálatot egyesítve végezték. Ötös készletméret esetén a kilenc vizsgálati minta közül öt, amelyek célkoncentrációja a vizsgálat LoD-jén vagy annak közelében volt, az egyedi mérésnél pozitív eredményt adott, de amikor a készlet részeként vizsgálták, akkor a pozitivitást nem mutatták ki. Mivel az Aptima vizsgálat kRLU értékei nem felelnek meg a célkoncentrációnak, a jel és az *in silico* szenzitivitási elemzését nem végezték el.

14. táblázat: Tünetmentes egyénektől származó egyedi és 3 mintából álló egyesített vizsgálati minta készletek egyezése

		Egyedi vizsgálati minta eredménye		
		Pozitív	Negatív	Összesen
3 mintából álló készlet eredménye	Pozitív	31	0	31
	Negatív	1	32	33
	Összesen	32	32	64

Általános egyezés: 98,4% (91,7% - 99,7%)

Pozitív egyezés: 96,9% (84,3% - 99,4%)

Negatív egyezés: 100% (89,3% - 100%)

15. táblázat: Tünetmentes egyénektől származó egyedi és 4 mintából álló egyesített vizsgálati minta készletek egyezése

		Egyedi vizsgálati minta eredménye		
		Pozitív	Negatív	Összesen
4 mintából álló készlet eredménye	Pozitív	36	0	36
	Negatív	0	31	31
	Összesen	36	31	67

Általános egyezés: 100% (94,6% - 100%)

Pozitív egyezés: 100% (90,4% - 100%)

Negatív egyezés: 100% (89,0% - 100%)

16. táblázat: Tünetmentes egyénektől származó egyedi és 5 mintából álló egyesített vizsgálati minta készletek egyezése

		Egyedi vizsgálati minta eredménye		
		Pozitív	Negatív	Összesen
5 mintából álló készlet eredménye	Pozitív	31	0	31
	Negatív	5	30	35
	Összesen	36	30	66

Általános egyezés: 92,4% (83,5% - 96,7%)

Pozitív egyezés: 86,1% (71,3% - 93,9%)

Negatív egyezés: 100% (88,6% - 100%)

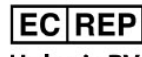
Irodalomjegyzék

1. **World Health Organization.** Q&A on coronaviruses (COVID-19). March 9, 2020. A World Health Organization honlapja: <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/q-a-coronaviruses>. Letöltve: 2020. március 10.
2. **Centers for Disease Control and Prevention.** <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/how-covid-spreads.html>. Letöltve: 2020. június 17.
3. **Centers for Disease Control and Prevention.** Coronavirus Disease 2019-(COVID-19) in the U.S. Updated March 10, 2020. A Centers for Disease Control and Prevention honlapja: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-in-us.html>. Letöltve: 2020. március 10.
4. **Centers for Disease Control and Prevention.** Coronavirus Disease 2019 Information for Travel. Page last reviewed March 8, 2020. A Centers for Disease Control and Prevention honlapja: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/travelers/index.html>. Letöltve: 2020. március 10.
5. **Centers for Disease Control and Prevention.** Coronavirus Disease 2019-(COVID-19) Situation Summary. Updated March 9, 2020. A Centers for Disease Control and Prevention honlapja: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/summary.html>. Letöltve: 2020. március 10.
6. **Clinical & Laboratory Standards Institute.** Document M29 Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. A CLSI honlapja: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Letöltve: 2017. szeptember

Kapcsolattartási információk



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Az országspecifikus Műszaki támogatás és Ügyfélszolgálat e-mail-címéért és telefonszámáért látogasson el a következő honlapra: www.hologic.com/support.

A Hologic, az Aptima, a Panther és a Panther Fusion a Hologic, Inc. vállalatnak és/vagy leányvállalatának a védjegyei, illetve bejegyzett védjegyei az Egyesült Államokban és/vagy más országokban.

A jelen tájékoztatóban megjelenő minden más védjegy a jogos tulajdonosok birtokában van.

Ezt a terméket egy vagy több, a www.hologic.com/patents címen felsorolt egyesült államokbeli szabadalom védheti.

©2022-2023 Hologic, Inc. Minden jog fenntartva.

AW-22752-2801 005. vált.
2023-06