

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

Pro diagnostické použití *in vitro*.

Pouze k exportu z USA.

OBSAH

Obecné informace	2
Určené použití	2
Shrnutí a vysvětlení testu	2
Principy postupu	3
Varování a bezpečnostní opatření	4
Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi	5
Odběr a skladování vzorků	6
Přeprava klinických vzorků	10
Spojení vzorků – stanovení vhodné strategie pro implementaci a sledování	10
Příprava vzorků ke spojení	11
Systém Panther	12
Reagensie a materiály, které jsou součástí dodávky	12
Požadované materiály dostupné samostatně	13
Postup testu na systému Panther	14
Poznámky k postupu	17
Kontrola kvality	18
Interpretace výsledků	19
Omezení	20
Funkčnost testu Panther SARS-CoV-2	21
Literatura	29

Obecné informace

Určené použití

Test Aptima™ SARS-CoV-2 je diagnostický test na bázi amplifikace nukleových kyselin *in vitro* ke kvalitativní detekci RNA SARS-CoV-2 izolované a purifikované ze stěrů z nasofaryngu (NP), nosu, střední nosní mušle a orofaryngu (OP), nasofaryngeálního výplachu/aspirátu, nosního aspirátu nebo slin získaných od osob splňujících klinická a/nebo epidemiologická kritéria pro COVID-19, včetně asymptomatických jedinců nebo jiných případů se suspekci na infekci COVID-19.

Tento test slouží také ke kvalitativní detekci nukleové kyseliny ze SARS-CoV-2 ve spojených vzorcích obsahujících až 5 individuálních stěrů z horních cest dýchacích (tzn. nasofarynx, nos, střední nosní mušle nebo orofarynx), přičemž každý vzorek je odebrán pod přímým dohledem zdravotníka nebo zdravotníkem za použití individuálních lahviček obsahujících transportní média. Negativní výsledky z testování spojených vzorků nelze považovat za definitivní. Pokud klinické známky a příznaky pacienta neodpovídají negativnímu výsledku a pokud jsou výsledky nutné pro další léčbu pacienta, je vhodné zvážit individuální testování daného pacienta. Spojené vzorky s pozitivním nebo neplatným výsledkem je před nahlášením výsledku nutné otestovat individuálně. Vzorky s nízkou virovou náloží nemusí být ve spojených vzorcích detekovány kvůli snížené citlivosti testování spojených vzorků. U specifických pacientů, jejichž vzorek/vzorky byly spojeny, je nutné zahrnout do hlášení výsledku zdravotníkovi upozornění, že byl při testování použit spojený vzorek.

Výsledky slouží k identifikaci RNA viru SARS-CoV-2. RNA viru SARS-CoV-2 je obecně detekovatelná ve vzorcích horních cest dýchacích v průběhu akutní fáze infekce. Pozitivní výsledky ukazují na přítomnost viru SARS-CoV-2 RNA, pro stanovení stavu infekce pacienta je však nezbytná klinická korelace s anamnézou pacienta a dalšími diagnostickými informacemi. Pozitivní výsledky nevylučují bakteriální infekci nebo koinfekci jinými viry.

Negativní výsledky nevylučují infekci virem SARS-CoV-2 a neměly by být používány jako jediný podklad pro rozhodnutí o léčbě pacienta. Negativní výsledky musí být dány do kontextu s klinickým pozorováním, anamnézou pacienta a epidemiologickými informacemi.

Test Aptima SARS-CoV-2 v systémech Panther™ a Panther Fusion™ je určen pro použití pracovníky klinické laboratoře, kteří jsou speciálně poučeni a vyškoleni v používání systémů Panther a Panther Fusion a provádění diagnostických postupů *in vitro*.

Shrnutí a vysvětlení testu

Koronaviry jsou velká skupina virů, které mohou způsobovat různá onemocnění zvířat nebo lidí. U člověka některé koronaviry způsobují respirační infekce od běžného nachlazení až po závažnější onemocnění, jako je například tzv. blízkovýchodní respirační syndrom (MERS) a těžký akutní respirační syndrom (SARS). Poslední objevený koronavirus, SARS-CoV-2, způsobuje související koronavirové onemocnění COVID-19. Tento nový virus a onemocnění byly před vypuknutím nákazy v čínském Wu-chanu v prosinci 2019 neznámé.¹

Mezi nejčastější příznaky onemocnění COVID-19 patří horečka, únava a suchý kašel. Někteří pacienti mohou trpět bolestí, nosní kongescí, rýmou, bolestí v krku, novou ztrátou chuti nebo čichu nebo průjmem. Tyto příznaky jsou obvykle mírné a začínají se projevovat postupně. Někteří lidé se nakazí, ale nerozvinou se u nich žádné příznaky a necítí se nemocně. Nemoc se může šířit prostřednictvím respiračních kapének, které vznikají, když infikovaná osoba kašle nebo kýchá. Tyto kapénky mohou vniknout do úst nebo nosů lidí, kteří se nacházejí poblíž, nebo

mohou být vdechnuty do plic.² Tyto kapénky mohou také infikovat objekty a povrchy v blízkosti osoby. Ostatní lidé se mohou virem SARS-CoV-2 nakazit, když se dotknou těchto předmětů nebo povrchů a poté se dotknou očí, nosu nebo úst.

Virus, který způsobuje onemocnění COVID-19, infikuje lidi a snadno se šíří z člověka na člověka.³ Dne 11. března 2020 byla Světovou zdravotnickou organizací (WHO) epidemie onemocnění COVID-19 charakterizována jako pandemie.^{4,5}

Principy postupu

Test Aptima SARS-CoV-2 kombinuje technologie záchytu cíle, transkripčně zprostředkované amplifikace (TMA) a dvojitě kinetické analýzy (DKA).

Vzorky se odebírají a přenášejí do příslušných transportních zkumavek. Transportní roztoky v těchto zkumavkách uvolňují cíle RNA a chrání je před degradací během skladování. Když se test Aptima SARS-CoV-2 provádí v laboratoři, jsou cílové molekuly RNA izolovány ze vzorků za použití záchytových oligomerů pomocí technologie záchytu cíle, která využívá magnetické mikročástice. Záchytové oligomery obsahují sekvence komplementární ke specifickým oblastem cílových molekul a řetězce deoxyadenosinových zbytků. Pro každý cíl je použit samostatný záchytový oligomer. Během hybridizačního kroku se sekvence specifické oblasti záchytových oligomerů vážou na specifické oblasti cílových molekul. Komplex záchytového oligomeru a cíle se poté vychytá z roztoku snížením teploty reakce na pokojovou teplotu. Díky tomuto snížení teploty může proběhnout hybridizace mezi deoxyadenosinovou oblastí záchytového oligomeru a polydeoxythymidinovými molekulami, které jsou kovalentně navázané na magnetické částice. Mikročástice, včetně zachycených cílových molekul, které jsou na ně navázané, jsou pomocí magnetů přitaženy ke stranám reakční nádoby a supernatant se odsaje. Částice se promyjí, aby se odstranila zbytková matrice vzorku, která může obsahovat inhibitory amplifikační reakce. Po dokončení kroků záchytu cíle jsou vzorky připraveny k amplifikaci.

Testy amplifikace cíle jsou založeny na schopnosti komplementárních oligonukleotidových primerů specificky zesílit a umožňovat enzymatickou amplifikaci cílových řetězců nukleové kyseliny. Test Aptima SARS-CoV-2 replikuje specifické oblasti RNA viru SARS-CoV-2. Detekce sekvencí produktů amplifikace RNA (amplikon) se provádí za použití hybridizace nukleových kyselin. Jednovláknové chemiluminiscenční sondy nukleové kyseliny, které jsou unikátní a komplementární k oblasti každého cílového amplikonu a amplikonu pro vnitřní kontrolu (Internal Control (IC) amplicon), jsou značeny různými molekulami akridinium esteru (AE). Sondy označené AE se kombinují s amplikonem za vzniku stabilních hybridů. Selekční reagentie rozlišuje hybridizovanou od nehybridizované sondy, čímž eliminuje generování signálu z nehybridizované sondy. Během detekčního kroku se světlo emitované z označených hybridů měří jako fotonové signály v luminometru, které jsou vykazovány v relativních světelných jednotkách (RLU). Při DKA umožňují rozdíly mezi kinetickými profily značených sond diferenciaci signálu. Kinetické profily jsou odvozeny z měření výstupu fotonů při načítání detekce. Chemiluminiscenční detekční reakce pro signál IC má velmi rychlou kinetiku a má kinetický typ „flasher“. Chemiluminiscenční detekční reakce pro signál viru SARS-CoV-2 je relativně pomalejší a má kinetický typ „glower“. Výsledky testu jsou určeny mezní hodnotou vycházející z celkového počtu RLU a typu kinetické křivky.

Test Aptima SARS-CoV-2 amplifikuje a detekuje dvě konzervované oblasti genu ORF1ab stejnou reakcí za použití stejného kinetického typu „glower“. Tyto dvě oblasti nejsou diferencované a amplifikace jedné nebo obou těchto oblastí vede k vygenerování signálu RLU. Výsledky testu jsou určeny mezní hodnotou vycházející z celkového počtu RLU a typu kinetické křivky.

Varování a bezpečnostní opatření

- A. Pro diagnostické použití *in vitro*. Přečtěte si pozorně celou tuto příbalovou informaci a dokument *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Uživatelská příručka systému Panther / Panther Fusion).
- B. Tyto postupy mohou provádět pouze pracovníci s náležitým školením v použití tohoto testu a zacházení s potenciálně infekčními materiály. Dojde-li k rozliti, ihned proveďte dezinfekci za použití vhodných postupů daného pracoviště.
- C. Se všemi vzorky manipulujte a pracujte jako s infekčním materiálem dle laboratorních postupů a protokolů, které představují základ dobré mikrobiologické praxe a postupů (GMPP). Prostudujte si pokyny pro laboratorní biologickou bezpečnost Světové zdravotnické organizace (WHO) spojené s koronavirovým onemocněním (COVID-19): předběžné pokyny. [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 mohou být infekční. Při provádění tohoto testu dodržujte univerzální bezpečnostní opatření. Je třeba, aby vedoucí laboratoře stanovil správné postupy manipulace s jednorázovým materiálem a postupy jeho likvidace. Tento diagnostický postup smí provádět pouze personál adekvátně vyškolený v manipulaci s infekčními materiály.⁶
- E. Pokud na základě současných kritérií klinického vyšetření doporučených orgány veřejného zdraví existuje podezření na infekci virem SARS-CoV-2, je třeba vzorky odebrat za přijetí příslušných bezpečnostních opatření pro kontrolu infekce.
- F. Používejte pouze dodané nebo určené jednorázové laboratorní vybavení.
- G. Při odběru a manipulaci se vzorky od osob, u kterých existuje podezření na infekci virem SARS-CoV-2, používejte vhodné osobní ochranné prostředky, jak je uvedeno v dokumentu vydaném agenturou CDC Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) (Prozatímní pokyny pro laboratorní biologickou bezpečnost při manipulaci a zpracování vzorků spojených s novým typem koronaviru 2019 (2019-nCoV)).
- H. Při manipulaci se vzorky a reagensy používejte jednorázové rukavice bez talku, ochranné brýle a laboratorní pláště. Po manipulaci se vzorky a reagensy si pečlivě umyjte ruce.
- I. Všechny materiál, který přišel do kontaktu se vzorky a reagensy, zlikvidujte v souladu s příslušnými národními, mezinárodními a regionálními předpisy.
- J. Data expirace uvedené na zkumavkách pro lýzu vzorku Panther Fusion, zkumavkách pro lýzu vzorku Hologic, odběrové soupravě Aptima Multitest Collection Kit, soupravě pro odběr stěrů Aptima Unisex Swab Specimen Collection Kit, odběrové soupravě pro transfer vzorků Aptima Specimen Transfer Kit a odběrové soupravě Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit se týkají převodu vzorku do zkumavky a nikoli testování vzorku. Vzorky odebrané/přenesené před těmito daty expirace jsou validní pro testování za předpokladu, že byly přepravovány a skladovány v souladu s příslušnou příbalovou informací, a to i když tato data expirace již uplynula.
- K. Chcete-li zajistit integritu vzorku, zajistěte při přepravě vzorků vhodné přepravní podmínky. Stabilita vzorků za jiných než doporučených přepravních podmínek nebyla hodnocena.

- L. Testování vzorku slin, který byl skladován mimo stanovené podmínky, může vést k vyššímu riziku neplatného výsledku.
- M. Při manipulaci se vzorky zabraňte křížové kontaminaci. Vzorky mohou obsahovat extrémně vysoké koncentrace virů nebo jiných organismů. Zajistěte, aby se jednotlivé nádoby se vzorky vzájemně nedotýkaly, a při likvidaci použitých materiálů je nepřenášejte nad otevřenými nádobkami. Pokud se dotknete vzorku, vyměňte si rukavice.
- N. Nepoužívejte reagentie a kontroly po datu expirace.
- O. Skladujte složky testu za doporučených podmínek skladování. Další informace viz část *Požadavky na skladování reagentií a zacházení s nimi* (strana 5) a *Provádění testování v systému Panther* (strana 14).
- P. Neslévejte žádné reagentie či kapaliny z testu. Reagentie ani kapaliny nedolévejte; systém Panther ověřuje hladiny reagentií.
- Q. Zabraňte mikrobiální a ribonukleázové kontaminaci reagentií.
- R. Nepoužívejte na nástroj materiál, který může obsahovat guanidinium thiokyanát, ani žádné materiály obsahující guanidin. Při smísení s chlornanem sodným se mohou tvořit vysoce reaktivní a/nebo toxické sloučeniny.
- S. Reagentie v této soupravě je označena bezpečnostními symboly a symboly rizik.

Poznámka: Informace o nebezpečí jsou v souladu s klasifikacemi bezpečnostních listů (SDS) EU. Informace pro komunikaci o nebezpečí specifické pro váš region jsou k dispozici v dokumentech SDS specifických pro region v knihovně bezpečnostních datových listů na webové stránce www.hologicds.com.

	Selektivní reagentie KYSELINA BORITÁ 1–5 % VAROVÁNÍ H315 – Dráždí kůži
---	--

Reagentie pro záchyt cíle EDTA 1–5 % HYDROXID LITHIA, MONOHYDRÁT, 1–5 % H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky H402 – Škodlivý pro vodní organismy

Požadavky na skladování reagentií a zacházení s nimi

- A. Následující reagentie jsou stabilní při skladování při teplotě 2 °C až 8 °C (v chladničce):
 - Amplifikační reagentie Aptima SARS-CoV-2
 - Enzymová reagentie Aptima SARS-CoV-2
 - Reagentie sondy Aptima SARS-CoV-2
 - Vnitřní kontrola Aptima SARS-CoV-2
 - Pozitivní kontrola Aptima SARS-CoV-2
 - Negativní kontrola Aptima SARS-CoV-2

- B. Následující reagentie jsou stabilní při skladování při teplotě 2 °C až 30 °C:
Rekonstituční roztok pro amplifikaci Aptima SARS-CoV-2
Rekonstituční roztok pro enzymy SARS-CoV-2
Rekonstituční roztok pro sondy SARS-CoV-2
Selekční reagentie Aptima SARS-CoV-2
- C. Následující reagentie jsou stabilní při skladování při teplotě 15 °C až 30 °C (při pokojové teplotě):
Reagentie pro záchyt cíle Aptima SARS-CoV-2
Promývací roztok Aptima
Pufř Aptima pro deaktivální kapalinu
Olejevá reagentie Aptima
- D. Pracovní reagentie záchytu cíle (wTCR) je při skladování při teplotě 15 °C až 30 °C stabilní po dobu 30 dnů. Neuchovávejte v chladničce.
- E. Po rekonstituci jsou enzymová reagentie, amplifikační reagentie a reagentie sondy stabilní po dobu 30 dnů, pokud jsou skladovány při teplotě 2 °C až 8 °C.
- F. Jakékoli nepoužité rekonstituované reagentie a wTCR zlikvidujte po 30 dnech nebo po uplynutí data expirace hlavní šarže, podle toho, co nastane dříve.
- G. Kontroly jsou stabilní do data vyznačeného na lahvičkách.
- H. Reagentie skladované v systému Panther jsou stabilní po dobu 120 hodin.
- I. Reagentie sondy i rekonstituovaná reagentie sondy jsou fotosenzitivní. Reagentie skladujte tak, aby byly chráněny před světlem. Uvedená stabilita rekonstituovaných reagentií je udávána na základě vystavení rekonstituované reagentie sondy dvěma fluorescenčním 60W žárovkám po dobu 12 hodin ve vzdálenosti 43 cm a při teplotě nižší než 30 °C. Expozice rekonstituované reagentie sondy světlu by měla být odpovídajícím způsobem omezena.
- J. Při ohřátí na pokojovou teplotu se mohou některé kontrolní zkumavky zakalit nebo mohou obsahovat sraženiny. Zakalení nebo sraženiny vyskytující se u kontrol neovlivní účinnost kontroly. Kontroly mohou být použity, ať už jsou čiré, nebo zakalené / obsahují sraženiny. Pokud jsou požadovány čiré kontroly, může být rozpuštění urychleno jejich inkubací na horním konci teplotního rozmezí pro pokojovou teplotu (15 °C až 30 °C).
- K. Reagentie nezmrazujte.**

Odběr a skladování vzorků

Klinické vzorky – klinický materiál odebraný pacientovi umístěný ve vhodném transportním systému. V případě testu Aptima SARS-CoV-2 se jedná o stěry z nosohltanu, nosu, střední nosní mušle a orofaryngu nebo odběr vzorku z nasofaryngeálního výplachu/aspirátu a nazálního aspirátu do virového transportního média (VTM/UTM), fyziologického roztoku, Liquid Amies nebo média pro transport vzorků (specimen transport medium, STM). Kromě toho lze odebrat k použití s testem sliny.

Vzorky – představují obecnější termín, který popisuje jakýkoli materiál pro testování pomocí systému Panther včetně vzorků, přenesených vzorků do zkumavky pro lýzu vzorku Panther Fusion, zkumavky pro lýzu vzorku Hologic s pevným uzávěrem, transportní zkumavky Aptima Specimen, transportní zkumavky Aptima Multitest a zkumavky se záchytným uzávěrem k přímému zavedení Hologic a kontrol.

Poznámka: *Se všemi vzorky je nutné zacházet jako s potenciálně infekčními. Postupujte dle univerzálních bezpečnostních opatření.*

Poznámka: *Během manipulace se vzorky dbejte na to, aby se zabránilo křížové kontaminaci. Například při likvidaci nepřenášejte použitý materiál nad otevřenými zkumavkami.*

Odběr stěrů

Stěry z nosohltanu, nosu a orofaryngu odeberte standardním postupem za použití tamponů z polyesteru, rayonu nebo z nylonu. Stěry okamžitě umístěte do 3ml VTM nebo UTM. Stěry mohou být případně také přidány do fyziologického roztoku, Liquid Amies nebo STM. Pro odběr stěrů z orofaryngu a nosu může být použita souprava pro odběr stěrů Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit a souprava Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit. Odběrová souprava Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit – CLASSIQSwab slouží k odběru OP a nosních stěrových vzorků. Odběrová souprava Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit – FLOQSwab slouží k odběru vzorků ze střední nosní mušle a NP stěrů.

Po odběru mohou být vzorky odebrané ve VTM/UTM před přenesením do zkumavky pro lýzu vzorku nebo do transferových zkumavek skladovány při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 96 hodin, jak je popsáno v části týkající se zpracování vzorků níže. Zbývající objemy vzorků lze skladovat při teplotě ≤ -70 °C.

Po odběru do zkumavky Aptima Multitest a zkumavky se záchytným uzávěrem k přímému zavedení Hologic mohou být vzorky uchovávány při teplotě 2 °C až 30 °C po dobu až 6 dnů.

Poznámka: *Vzorky odebrané do zkumavek Aptima Multitest a zkumavek se záchytným uzávěrem k přímému zavedení Hologic doporučujeme uložit ve stojanu uzavřené víčky a ve vertikální poloze.*

Odběr vzorku nasofaryngeálního výplachu/aspirátu a nazálního aspirátu

Vzorky nasofaryngeálního výplachu/aspirátu a nazálního aspirátu odebírejte za použití standardních technik.

Odběr vzorků slin

Odeberte 1 ml +/- 0,2 ml slin do standardní odběrové zkumavky s 1ml značením. Poučte subjekty, aby se pokusily slinit a alespoň 30 sekund míchaly sliny v ústech, než je vyplivnou do odběrové zkumavky. Odebrané sliny lze skladovat při teplotě 15 až 30 °C po dobu až 12 hodin, než přidáte 4 ml +/- 0,4 ml média Minimum Essential Media (MEM) k naředění a promíchání vzorku slin. Vzorky naředěné v MEM lze uchovávat při teplotě 15 až 30 °C po dobu až 2 hodin, než přenesete 500 µl naředěných slin do zkumavky pro lýzu vzorku nebo přenosových zkumavek dle popisu v části popisující zpracování vzorků níže. Zpracované vzorky lze uchovávat při teplotě 2 až 30 °C po dobu až 6 dní.

Zpracování klinických vzorků

Pracovní postup pro uzavřené vzorky pomocí testového softwaru Aptima SARS-CoV-2

Zpracování vzorků pomocí zkumavek pro lýzu vzorku Panther Fusion

- A. Před testováním v systému Panther přeneste 500 µl odebraného vzorku* do zkumavky pro lýzu vzorku Panther Fusion.

**Poznámka: Při testování zmrazeného vzorku nechte vzorek před zpracováním vytemperovat na pokojovou teplotu.*

Zpracování vzorků pomocí transferové zkumavky na vzorek Aptima

- A. Před testováním v systému Panther přeneste 1 ml odebraného vzorku* do transferové zkumavky na vzorek Aptima**.

**Poznámka: Při testování zmrazeného vzorku nechte vzorek před zpracováním vytemperovat na pokojovou teplotu.*

***Poznámka: Alternativně lze použít nepoužitou zkumavku Aptima Multitest nebo Aptima Unisex.*

- B. Transferovou zkumavku na vzorek Aptima pevně uzavřete.
C. Zkumavku opatrně 2krát až 3krát převraťte, aby se vzorek dostatečně promíchal.

Zpracování vzorků odebraných odběrovou soupravou Aptima Multitest Collection Kit

- A. Po umístění odebraného vzorku* do zkumavky Aptima Multitest pomocí odběrové soupravy Aptima Multitest Collection Kit není nutné žádné další zpracování.

**Poznámka: Při testování zmrazeného vzorku nechte vzorek před zpracováním vytemperovat na pokojovou teplotu.*

Pracovní postup pro otevřené vzorky pomocí testového softwaru Aptima SARS-CoV-2

Zpracování vzorků pomocí zkumavek pro lýzu vzorku Panther Fusion

- A. Otevřete zkumavku pro lýzu vzorku Panther Fusion s propichovacím uzávěrem. Propichovací uzávěr lze odložit stranou pro pozdější použití nebo lze v dalším kroku použít náhradní pevný uzávěr.
B. Před testováním v systému Panther přeneste 500 µl odebraného vzorku do zkumavky pro lýzu vzorku Panther Fusion s propichovacím uzávěrem nebo náhradním pevným uzávěrem.

- C. Abyste zabránili kontaktu s horní částí zkumavky, uvolněte uzávěr a vložte zkumavku se vzorkem do stojanu na vzorky.
- D. Uzávěr odstraňte a zlikvidujte. Nepřenášejte uzávěr přes jiné stojany na vzorky ani zkumavky se vzorky, aby nedošlo ke kontaminaci. Zkontrolujte zkumavku se vzorkem. Pokud se v ní nacházejí bubliny, opatrně je ze zkumavky se vzorkem odstraňte (použijte například špičku sterilního tamponu nebo podobnou metodu).

Poznámka: Případné bubliny ponechané ve vzorku mohou ovlivnit zpracování testu a vést k neplatným výsledkům.

- E. Na stojan na vzorky umístěte přidržovač a stojan vložte do přístroje.

Zpracování vzorků pomocí zkumavek pro lýzu vzorku Hologic s pevným uzávěrem

- A. Sejměte uzávěr ze zkumavky pro lýzu vzorku Hologic s pevným uzávěrem a uzávěr odložte stranou pro pozdější použití.
- B. Před testováním v systému Panther přeneste 500 µl vzorku do zkumavky pro lýzu vzorku Hologic s pevným uzávěrem.
- C. Doporučujeme zkumavku znovu uzavřít a jemně třikrát převrátit, aby byla zajištěna inaktivace viru a homogenní promíchání.
- D. Abyste zabránili kontaktu s horní částí zkumavky, uvolněte uzávěr a vložte zkumavku se vzorkem do stojanu na vzorky.
- E. Uzávěr odstraňte a zlikvidujte. Nepřenášejte uzávěr přes jiné stojany na vzorky ani zkumavky se vzorky, aby nedošlo ke kontaminaci. Zkontrolujte zkumavku se vzorkem. Pokud se v ní nacházejí bubliny, opatrně je ze zkumavky se vzorkem odstraňte (použijte například špičku sterilního tamponu nebo podobnou metodu).

Poznámka: Případné bubliny ponechané ve vzorku mohou ovlivnit zpracování testu a vést k neplatným výsledkům.

- F. Na stojan na vzorky umístěte přidržovač a stojan vložte do přístroje.

Zpracování vzorků odebraných pomocí odběrové soupravy se záchytným uzávěrem k přímému zavedení Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit

- A. Po vložení odebraného vzorku* do zkumavky se záchytným uzávěrem k přímému zavedení Hologic není nutné žádné další zpracování.

***Poznámka:** Při testování zmrazeného vzorku nechte vzorek před zpracováním vytemperovat na pokojovou teplotu.

- B. Abyste zabránili kontaktu s horní částí zkumavky, uvolněte uzávěr a vložte zkumavku se vzorkem do stojanu na vzorky.
- C. Uzávěr odstraňte a i s tamponem jej zlikvidujte. Nepřenášejte uzávěr přes jiné stojany na vzorky ani zkumavky se vzorky, aby nedošlo ke kontaminaci. Zkontrolujte zkumavku se vzorkem. Pokud se v ní nacházejí bubliny, opatrně je ze zkumavky se vzorkem odstraňte (použijte například špičku sterilního tamponu nebo podobnou metodu).

Poznámka: Pokud se tampon nezachytil na uzávěru, znovu zkumavku uzavřete, aby se tampon zachytil a vytáhl ze zkumavky. Zkumavky se záchytným uzávěrem k přímému zavedení obsahující tampon nekládejte do systému Panther.

Poznámka: Případné bubliny ponechané ve vzorku mohou ovlivnit zpracování testu a vést k neplatným výsledkům.

D. Na stojan na vzorky umístěte přidržovač a stojan vložte do přístroje.

Zpracování vzorků odebraných odběrovou soupravou Aptima Multitest Collection Kit

- A. Dohleďte si a dodržujte pokyny pro zkumavku pro lýzu vzorku Panther Fusion (krok A) nebo zkumavku pro lýzu vzorku s pevným uzávěrem Hologic (krok A).
- B. Před testováním v systému Panther přeneste 500 µl odebraného vzorku ze zkumavky Aptima Multitest do zkumavky pro lýzu vzorku Panther Fusion nebo zkumavky pro lýzu vzorku Hologic, jak je popsáno v částech pro zpracování vzorků výše.

Uskladnění vzorku

- A. Vzorek může být v systému Panther archivován pro další pozdější testování.
- B. Uskladnění vzorků před nebo po testování
 1. Vzorky ve zkumavce Aptima Multitest, zkumavce na vzorky Aptima, zkumavce se záchytným uzávěrem k přímému zavedení Hologic nebo zkumavce pro lýzu vzorku by měly být skladovány ve vertikální poloze ve stojanu za následujících podmínek:
 - při teplotě 2 °C až 30 °C po dobu až 6 dnů
 2. Vzorky by měly být překryty novým a čistým plastovým filmem nebo fólií.
 3. Pokud je třeba testované vzorky zmrazit nebo odeslat, odstraňte ze zkumavek propichovací uzávěr a nahraďte ho novým nepropichovacím uzávěrem. Je-li nutné odeslat vzorky k testování na jiné pracoviště, musí se dodržet doporučené teploty. Před otevřením vzorků musí být transportní zkumavky centrifugovány po dobu 5 minut při relativní odstředivé síle 420 (RCF), aby se veškerá kapalina dostala na dno zkumavky. Zabraňte rozstříkávání a křížové kontaminaci.

Přeprava klinických vzorků

Dodržujte podmínky skladování vzorků, jak je popsáno v části *Odběr a skladování vzorků*, strana 6.

Poznámka: Vzorky musí být přepravovány v souladu s platnými národními, mezinárodními a regionálními předpisy pro přepravu.

Spojení vzorků – stanovení vhodné strategie pro implementaci a sledování

Při zvažování spojení vzorků by měly laboratoře vyhodnotit vhodnost strategie spojení vzorků na základě míry positivity v testované populaci a efektivity pracovního postupu se spojováním vzorků.

Příprava vzorků ke spojení

Následující vzorky z horních cest dýchacích jsou validovány k použití s testem Aptima SARS-CoV-2 a lze je testovat po spojení: nasofaryngeální a orofaryngeální stěry, stěry ze střední nosní mušle nebo nosní stěry odebrané do přepravního média pro vzorky (STM). Všechny spojené vzorky musí být čisté vzorky připravené pomocí STM. Doporučený pracovní postup pro spojení vzorků naleznete níže.

Vzorky odebrané pomocí odběrových zkumavek obsahujících 2,9 ml STM

Pokyny k přípravě vzorků spojených přímo do standardní zkumavky

Při spojování vzorků odebraných do 2,9 ml STM postupujte následovně: Přeneste individuální vzorky do prázdné zkumavky dle specifikací v *uživatelské příručce systému Panther / Panther Fusion*.

- A. Pořídte si prázdnou zkumavku kompatibilní se systémem Panther.
- B. Stanovte odpovídající objem potřebný dle jednotlivých vzorků na základě implementované velikosti spojeného vzorku. Vzorky odebrané do 2,9 ml STM nevyžadují před testováním další ředění pomocí STM.

Poznámka: Doporučený kombinovaný objem každého individuálního vzorku závisí na rozměrech použité zkumavky. Zástupce společnosti Hologic vám poskytne doporučení k minimálním požadavkům na objem pro zpracování na systému Panther.

- C. Před testováním v systému Panther opatrně přeneste stanovený objem každého jednotlivého vzorku ze zkumavky obsahující 2,9 ml STM do prázdné zkumavky.
- D. Zajistěte homogenní promíchání každého připravovaného spojeného vzorku.
- E. Ponechte si individuální vzorky pro další testování, které může být později potřeba.

Systém Panther

Níže jsou uvedeny reagentie testu Aptima SARS-CoV-2 pro systém Panther. Vedle názvu reagentie jsou rovněž uvedeny symboly pro identifikaci reagentií.

Reagentie a materiály, které jsou součástí dodávky

Souprava pro testování Aptima SARS-CoV-2 Assay Kit PRD-06419

250 testů (2 boxy)

Chlazený box Aptima SARS-CoV-2 (box 1 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C)

Symbol	Součást	Množství Souprava s 250 testy
A	Amplifikační reagentie Aptima SARS-CoV-2 <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % objemového činidla.</i>	1 lahvička
E	Enzymová reagentie Aptima SARS-CoV-2 <i>Reverzní transkriptáza a RNA polymeráza vysušená v roztoku pufovaném HEPES obsahujícím < 10 % objemového činidla.</i>	1 lahvička
P	Reagentie sondy Aptima SARS-CoV-2 <i>Neinfekční chemiluminiscenční sondy DNA vysušené v sukcinátem pufovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu.</i>	1 lahvička
IC	Vnitřní kontrola Aptima SARS-CoV-2	1 lahvička

Box s pokojovou teplotou Aptima SARS-CoV-2 (box 2 ze 2)
(po přijetí skladujte při teplotě 15 °C až 30 °C)

Symbol	Součást	Množství Souprava s 250 testy
AR	Rekonstituční roztok pro amplifikaci Aptima SARS-CoV-2 <i>Vodný roztok obsahující konzervační látky.</i>	1 x 27,7 ml
ER	Rekonstituční roztok pro enzymy SARS-CoV-2 <i>Roztok pufovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 x 11,1 ml
PR	Rekonstituční roztok pro sondy SARS-CoV-2 <i>Sukcinátem pufovaný roztok obsahující < 5 % detergentu.</i>	1 x 35,4 ml
S	Selektivní reagentie Aptima SARS-CoV-2 <i>600 mmol boritanem pufovaného roztoku obsahujícího surfaktant.</i>	1 x 108 ml
TCR	Reagentie pro záchyt cíle Aptima SARS-CoV-2 <i>Pufovaný solný roztok obsahující tuhé fáze a záchytové oligomery.</i>	1 x 54 ml
	Rekonstituční objímky	3
	List s čárovým kódem hlavní šarže	1 list

Požadované materiály dostupné samostatně

Poznámka: Materiály dostupné od společnosti Hologic mají uvedena katalogová čísla dle seznamu, pokud není uvedeno jinak.

	<u>Kat. č.</u>
Systém Panther	303095
Souprava kapalin pro test Aptima Assay Fluids Kit <i>(Promývací roztok Aptima, pufr Aptima pro deaktivční kapalinu a olejová reagentie Aptima)</i>	303014 (1 000 testů)
Autodetekční souprava Aptima Auto Detect Kit	303013 (1 000 testů)
Vícezkumavkové jednotky (MTU)	104772-02
Souprava odpadních vaků Panther Waste Bag Kit	902731
Kryt odpadního koše Panther	504405
Nebo souprava pro běhy Panther Run Kit <i>Obsahuje MTU, odpadní vaky, kryty odpadních košů, kapaliny pro test a autodetekční reagentie.</i>	303096 (5 000 testů)
Hroty, 1000 µl, filtrované, snímající kapalinu, vodivé a jednorázové	901121 (10612513 Tecan)
Ne všechny produkty jsou dostupné ve všech regionech.	903031 (10612513 Tecan)
Informace specifické pro region vám poskytne váš zástupce	MME-04134 (30180117 Tecan)
	MME-04128
Souprava kontrol Aptima SARS-CoV-2 Controls Kit <i>PC – pozitivní kontrola Aptima SARS-CoV-2. Neinfekční nukleové kyseliny v pufrovaném roztoku obsahujícím < 5 % detergentu. Množství 5 x 1,7 ml</i> <i>NC – negativní kontrola Aptima SARS-CoV-2. Pufrovaný roztok obsahující < 5 % detergentu. Množství 5 x 1,7 ml</i>	PRD-06420
Odběrová souprava Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit	PRD-03546
Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit - CLASSIQSwabs	PRD-06951
Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit - FLOQSwabs	PRD-06952
Souprava pro transfer vzorků Aptima Specimen Transfer Kit	301154C
Souprava pro transfer vzorků Aptima Specimen Transfer Kit – potiskovatelná	PRD-05110
Souprava pro odběr endocervikálních a mužských uretrálních stěrů Aptima Unisex Swab Specimen Collection Kit for Endocervical and Male Urethral Swab Specimens	301041
Zkumavky pro lýzu vzorku Panther Fusion, 100 ks v sáčku <i>Zkumavka obsahuje 0,71 ml STM, s propichovacím uzávěrem.</i>	PRD-04339
Zkumavky pro lýzu vzorku Hologic, 100 ks <i>Zkumavka obsahuje 0,71 ml STM, s pevným uzávěrem.</i>	PRD-06554
Bělidlo, 5 % až 7 % (0,7 mol až 1,0 mol) roztok chlornanu sodného	–
Jednorázové rukavice	–

	<u>Kat. č.</u>
Náhradní nepropichovací uzávěry	504415
Pevný uzávěr Hologic k použití s produkty PRD-06951* a PRD-06952*, 100 uzávěrů na balení	PRD-07028
<i>*Jednorázový uzávěr pro zkumavku Hologic Direct Load Capture Cap (PRD-06951 a PRD-06952) po testování jako součást otevřeného pracovního postupu</i>	
Náhradní uzávěry pro soupravy s 250 testy	–
Rekonstituční roztoky pro amplifikační reagentii a reagentii sondy	CL0041 (100 uzávěrů)
Rekonstituční roztok pro enzymovou reagentii TCR a selekční reagentie	501616 (100 uzávěrů) CL0040 (100 uzávěrů)

Volitelné materiály

	<u>Kat. č.</u>
Hologic Bleach Enhancer pro čištění <i>pro rutinní čištění povrchů a zařízení</i>	302101
Třepačka pro zkumavky	–

Postup testu na systému Panther

Poznámka: Další procedurální informace naleznete v uživatelské příručce systému Panther / Panther Fusion.

A. Příprava pracovního prostoru

Očistěte pracovní povrchy, kde budou připravovány reagentie a vzorky. Pracovní povrchy otřete 2,5 %–3,5 % (0,35M–0,5M) roztokem chlornanu sodného. Nechte chlornan sodný působit na povrchy alespoň 1 minutu a poté je opláchněte vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pokryjte povrchy stolů, na kterých budou připravovány reagentie a vzorky, čistým laboratorním absorpčním ubrusem s gumovou vrstvou.

B. Rekonstrukce/příprava reagentie z nové soupravy

Poznámka: Před zahájením jakékoli práce na systému Panther je třeba provést rekonstrukci reagentií.

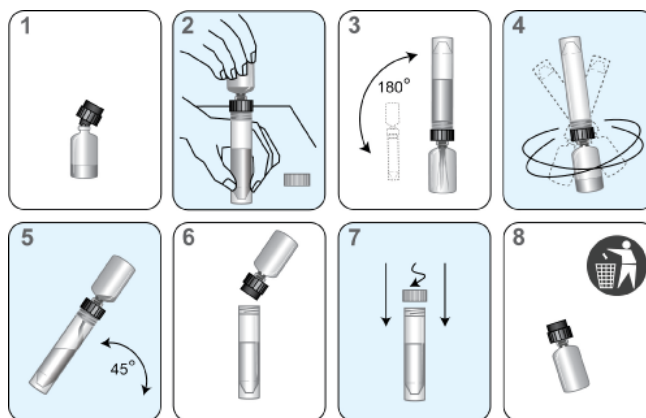
1. K rekonstrukci amplifikační reagentie, enzymové reagentie a reagentie sondy smíchejte obsah lahvičky s lyofilizovanou reagentií s rekonstitučním roztokem. V případě, že rekonstituované roztoky byly uloženy v chladničce, nechte je před použitím dosáhnout pokojové teploty.
 - a. Každý rekonstituční roztok spárujte s odpovídající lyofilizovanou reagentií. Před připojením rekonstituční objímky se ujistěte, že rekonstituční roztoky a reagentie mají shodné barvy štítků.
 - b. Zkontrolujte čísla šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže, abyste zajistili správné spárování reagentií.

- c. Otevřete lahvičku s lyofilizovanou reagentií a pevně zasuňte vroubkovaný konec rekonstituční objímky do otvoru lahvičky (obrázek 1, krok 1).
- d. Otevřete odpovídající rekonstituční roztok a uzávěr položte na čistý zakrytý pracovní povrch.
- e. Držte lahvičku s rekonstitučním roztokem na stole a pevně zasuňte druhý konec rekonstituční objímky do otvoru v lahvičce (obrázek 1, krok 2).
- f. Pomalu překlopte spojené lahvičky. Nechte roztok přetéci z lahvičky do skleněné lahvičky (obrázek 1, krok 3).
- g. Roztok ve skleněné lahvičce důkladně promíchejte otáčením (obrázek 1, krok 4).
- h. Počkejte, až se lyofilizovaná reagencie zcela rozpustí, a obraťte spojené lahvičky zpět při naklonění pod úhlem 45°, aby nedocházelo k tvorbě pěny (obrázek 1, krok 5).
- i. Odstraňte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (obrázek 1, krok 6).
- j. Znovu uzavřete plastovou lahvičku uzávěrem. Na štítek napište iniciály obsluhy a datum rekonstituce (obrázek 1, krok 7).
- k. Rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku zlikvidujte (obrázek 1, krok 8).

Volitelná možnost: Je povoleno další promíchání amplifikační reagencie, enzymová reagencie a reagencie sondy s použitím třepačky na zkumavky. Reagencie mohou být promíchány umístěním znovu uzavřené plastové lahvičky na třepačku nastavenou na 20 ot./min (nebo ekvivalentní hodnotu) po dobu minimálně 5 minut.

Varování: Při rekonstituci reagentií zabraňte tvorbě pěny. Pěna ovlivňuje detekci hladin v systému Panther.

Varování: Dostatečné promísení reagentií je nezbytné pro dosažení požadovaných výsledků testu.



Obrázek 1. Proces rekonstituce systému Panther

2. Příprava pracovní reagencie záchytu cíle (wTCR)
 - a. Spárujte odpovídající lahvičky TCR a IC.
 - b. Zkontrolujte čísla šarže reagentií na listu s čárovým kódem hlavní šarže, abyste zajistili správné spárování reagentií v soupravě.

- c. Otevřete lahvičku TCR a uzávěr odložte na čistý a zakrytý pracovní povrch.
 - d. Otevřete lahvičku IC a nalijte celý obsah do lahvičky TCR. Malé množství roztoku zůstane v lahvičce s IC.
 - e. Uzavřete lahvičku s TCR a krouživými pohyby jemně promíchejte její obsah. Při tomto kroku zabraňte tvorbě pěny.
 - f. Na štítek zapište iniciály obsluhy a aktuální datum.
 - g. Zlikvidujte lahvičku IC a její uzávěr.
3. Příprava selekční reagentie
- a. Zkontrolujte číslo šarže na lahvičce s reagentií, abyste se ujistili, že odpovídá číslu šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže.
 - b. Na štítek zapište iniciály obsluhy a aktuální datum.

Poznámka: Před vložením do systému všechny reagentie pečlivě promíchejte opatrným převrácením. Při převrácení lahviček s reagentiemi zabraňte tvorbě pěny.

C. Příprava dříve rekonstituovaných reagentií

1. Před zahájením testu musejí dříve rekonstituované amplifikační reagentie, enzymové reagentie a reagentie sondy dosáhnout pokojové teploty (15 °C až 30 °C).

Volitelná možnost: Reagentie mohou dosáhnout pokojové teploty umístěním rekonstituované amplifikační reagentie, enzymové reagentie a reagentie sondy na třepačku nastavenou na 20 ot./min (nebo ekvivalentní hodnotu) po dobu minimálně 25 minut.

2. Pokud rekonstituovaná reagentie sondy obsahuje sraženinu, která se při pokojové teplotě nerozpustí, zahřívejte uzavřenou lahvičku při teplotě, která nepřekročí 62 °C, po dobu 1 až 2 minut. Po tomto zahřívacím kroku může být reagentie sondy použita i v případě, že v ní zůstane zbytková sraženina. Reagentii sondy promíchejte převrácením, přičemž dbejte na to, aby se před vložením do systému nevytvořila pěna.
3. Před vložením reagentií do systému všechny reagentie pečlivě promíchejte opatrným převrácením. Při převrácení lahviček s reagentiemi zabraňte tvorbě pěny. Tento krok není nutný, pokud jsou reagentie vloženy do systému bezprostředně po promíchání na třepačce.
4. Lahvičky s reagentiemi nedoplňujte. Systém Panther rozpozná lahvičky, které byly doplněny, a zamítne je.
5. *Dostatečné promísení reagentií je nezbytné pro dosažení požadovaných výsledků testu.*

D. Manipulace se vzorky při použití zkumavky pro lýzu vzorku Panther Fusion nebo transferové zkumavky na vzorek Aptima

Poznámka: Před vložením vzorků do systému Panther je připravte dle pokynů ke zpracování vzorku v části Odběr a skladování vzorků.

1. Před vložením do stojanu zkumavky se vzorky zkontrolujte. Jestliže zkumavka se vzorkem obsahuje bubliny nebo má nižší objem, než je obvyklé, jemně poklepejte na dno zkumavky, aby obsah klesl na dno.

Poznámka: U vzorků přenesených do zkumavky pro lýzu vzorku Panther Fusion nebo transferové zkumavky na vzorek Aptima zajistěte, aby byl do zkumavky přidán odpovídající objem vzorku, aby nedošlo k procesní chybě. Pokud je do zkumavky přidán adekvátně odebraný vzorek, je to dostatečný objem pro provedení 3 extrakcí nukleové kyseliny.

- E. Manipulace se vzorkem za použití zkumavky pro lýzu vzorku Hologic
1. Připravte vzorky podle pokynů ke zpracování vzorku v části *Odběr a skladování vzorků*.
Poznámka: U vzorků přenesených do zkumavky pro lýzu vzorku Hologic zajistěte, aby byl do zkumavky přidán odpovídající objem vzorku, aby nedošlo k procesní chybě.
Poznámka: Pokud je do zkumavky pro lýzu vzorku Hologic (PRD-06554) přidán adekvátně odebraný vzorek, je to dostatečný objem pro provedení 2 extrakcí nukleové kyseliny.
Poznámka: Pokud používáte software pro testování otevřených zkumavek Aptima SARS-CoV-2, odstraňte před vložením do systému Panther uzávěr z pozitivní a negativní kontroly.
- F. Příprava systému
1. Nastavte systém podle pokynů uvedených v *uživatelské příručce systému Panther / Panther Fusion* a v části *Poznámky k postupu*. Použijte stojany na reagentie vhodné velikosti a TCR adaptéry.
 2. Vložte vzorky.

Poznámky k postupu

- A. Kontroly
1. K zajištění správného průběhu práce se softwarem pro testy Aptima Assay Software v systému Panther je nutný jeden pár kontrolních vzorků. Zkumavky s pozitivní kontrolou a negativní kontrolou Aptima SARS-CoV-2 můžete vložit do libovolné pozice stojanu nebo libovolné řady vzorků v systému Panther. Pipetování vzorku pacienta začne, jestliže byla splněna jedna z následujících dvou podmínek:
 - a. Systém momentálně zpracovává dvojici kontrol.
 - b. V systému jsou registrovány platné výsledky kontrol.
 2. Jakmile byly kontrolní zkumavky napipetovány a jsou zpracovávány pro konkrétní soupravu reagentií, mohou být vzorky pacientů použity s přiřazenou soupravou do 24 hodin kromě následujících výjimek:
 - a. Výsledky kontrol jsou neplatné.
 - b. Přiřazená souprava reagentií testu je vyjmuta ze systému.
 - c. Přiřazená souprava reagentií testu překročila limity stability.
 3. Každá zkumavka s kontrolou Aptima může být testována jednou. Chcete-li ze zkumavky pipetovat více než jednou, může dojít k procesním chybám.
 4. Pipetování vzorku od pacienta začne, jakmile bude splněna jedna z následujících dvou podmínek:
 - a. V systému jsou registrovány platné výsledky kontrol.
 - b. Dvojice kontrol se aktuálně zpracovává v systému.
- B. Teplota
- Pokožková teplota je definována jako 15 °C až 30 °C.
- C. Prášek z rukavic
- Stejně jako u jiných systémů reagentií může nadbytek talku z rukavic způsobit kontaminaci otevřených zkumavek. Doporučujeme používat rukavice bez talku.

D. Protokol monitorování kontaminace laboratoří pro systém Panther

Existuje mnoho faktorů specifických pro laboratorní prostředí, které mohou přispět ke kontaminaci, včetně počtu prováděných testů, pracovního postupu, výskytu onemocnění a různých dalších laboratorních činností. Tyto faktory je třeba brát v úvahu při zjišťování frekvence monitorování kontaminace. Intervaly pro sledování kontaminace je třeba stanovit na základě postupů a praxe jednotlivých laboratoří.

Ke sledování laboratorní kontaminace je možné provést následující postup pomocí odběrové soupravy pro odběr endocervikálních a mužských uretrálních stěrů Aptima Unisex Swab Specimen Collection Kit for Endocervical and Male Urethral Swab Specimens:

1. Označte transportní zkumavky pro přenos stěrů čísly odpovídajícími oblastem, které mají být testovány.
2. Vyjměte tampon pro odběr vzorku (modrý tyčinkový tampon se zeleným potiskem) z obalu, navlhčete tampon v médiu pro transport vzorků (STM) a kruhovým pohybem proveďte stěr určené oblasti.
3. Okamžitě vložte tampon do transportní zkumavky.
4. Opatrně odlomte tyčinku tamponu v místě označení; dbejte přitom na to, aby nedošlo k rozstříknutí obsahu.
5. Transportní zkumavku pro přenos stěrů znovu pevně uzavřete.
6. Opakujte kroky 2 až 5 pro každou oblast, kde má být proveden stěr.

E. Pokud jsou výsledky pozitivní, nahlédněte do části *Interpretace výsledků*. Další informace ke sledování kontaminace specifické pro systém Panther vám na požádání poskytne technická podpora společnosti Hologic.

Kontrola kvality

Běh testu nebo výsledek vzorku mohou být zneplatněny systémem Panther, pokud se při provádění testu vyskytnou problémy. Vzorky s neplatnými výsledky je nutné testovat znovu.

Negativní a pozitivní kontroly

Aby byly generovány platné výsledky, musí být testována sada kontrol testu. Jedno opakování negativní a pozitivní kontroly testu musí být testováno pokaždé, když je do systému Panther vložena nová souprava, nebo pokud uplynula doba expirace aktuální sady platných kontrol.

Systém Panther je konfigurován tak, aby vyžadoval testy kontrol v intervalu specifikovaném správcem systému až do 24 dní. Software v systému Panther upozorní obsluhu, když je třeba provést testování kontrol, a nespustí nové testy, dokud nejsou do systému vloženy kontroly a nezačne jejich zpracování.

Během zpracování systém Panther automaticky ověří kritéria pro akceptování kontrol testu. Aby byly generovány platné výsledky, kontroly testu musí projít řadou kontrol platnosti prováděných systémem Panther.

Pokud kontroly testu projdou všemi kontrolami platnosti, jsou považovány za platné pro časový interval specifikovaný správcem systému. Když tento časový interval uplyne, platnost kontrol testu vyprší a systém Panther vydá požadavek, aby před zahájením testování jakýchkoli nových vzorků byla otestována nová sada kontrol testu.

Pokud některá z kontrol testu neprojde kontrolou platnosti, systém Panther automaticky zruší dotčené vzorky a před zahájením testování nových vzorků bude vyžadovat test nové sady kontrol testu.

Vnitřní kontrola

Vnitřní kontrola je ke každému vzorku přidána s wTCR. Během zpracování jsou softwarem systému Panther automaticky ověřována kritéria pro přijetí vnitřní kontroly. Detekce vnitřní kontroly není vyžadována pro vzorky, které jsou pozitivní na virus SARS-CoV-2. Vnitřní kontrola musí být detekována ve všech vzorcích, které jsou negativní pro cíle SARS-CoV-2; vzorky, které nesplňují tato kritéria, budou označeny jako neplatné. Každý vzorek s neplatným výsledkem musí být testován znovu.

Systém Panther je navržen tak, aby přesně ověřoval procesy při provádění postupů podle pokynů uvedených v této příbalové informaci a v *uživatelské příručce systému Panther / Panther Fusion*.

Interpretace výsledků

Systém Panther automaticky stanoví výsledky testu vzorků a kontrol. Výsledek testu může být negativní, pozitivní, nebo neplatný.

V tabulce 1 jsou uvedeny možné hlášené výsledky pro platný test s interpretací výsledků.

Tabulka 1: Interpretace výsledků

Výsledek SARS-CoV-2	Výsledek IC	Interpretace
Neg	Platný	Virus SARS-CoV-2 nebyl detekován.
POZ	Platný	Virus SARS-CoV-2 byl detekován.
Neplatný	Neplatný	Neplatné. Při generování výsledku došlo k chybě, opakujte test.

Poznámka: Detekce vnitřní kontroly není vyžadována pro vzorky, které jsou na virus SARS-CoV-2 pozitivní.

Interpretace výsledků pro spojené vzorky

Negativní: Negativní výsledky z testování spojených vzorků nelze považovat za definitivní. Pokud klinické známky a příznaky pacienta neodpovídají negativnímu výsledku a pokud jsou výsledky nutné pro další léčbu pacienta, je vhodné zvážit individuální testování daného pacienta. Použití spojeného vzorku je nutné uvést u všech vzorků s hlášenými negativními výsledky.

Pozitivní: Vzorky s pozitivním výsledkem testování spojeného vzorku je nutné před hlášením výsledku otestovat individuálně. Vzorky s nízkou virovou náloží nemusí být ve spojených vzorcích detekovány kvůli snížené citlivosti testování spojených vzorků.

Neplatný: Vzorky s neplatným výsledkem je nutné před hlášením výsledku otestovat individuálně. U neplatných zpracování může být v závislosti na pracovním postupu laboratoře a požadované době hlášení výsledků vhodné provést opakované testování spojeného vzorku.

Omezení

- A. Tento test mohou používat pouze osoby vyškolené v požadovaných postupech. Nedodržení těchto pokynů může vést k chybným výsledkům.
- B. Spolehlivost výsledků závisí na adekvátním odběru, transportu, skladování a zpracování vzorků.
- C. Zabraňte kontaminaci dodržováním správné laboratorní praxe a postupů uvedených v této příbalové informaci.
- D. Pozitivní výsledek značí detekci nukleové kyseliny z příslušného viru. Nukleová kyselina může přetrvávat i poté, co již virus není životaschopný.
- E. Použití testu Aptima SARS-CoV-2 v obecné asymptomatické screeningové populaci má sloužit jako součást plánu kontroly infekce, který může zahrnovat další preventivní opatření jako např. předdefinovaný plán sériového testování nebo řízeného testování u vysoce rizikových osob. Negativní výsledky je nutné považovat za orientační – nevylučují aktuální nebo budoucí infekci získanou komunitním přenosem nebo jinou expozicí. Negativní výsledky je nutné zvážit v kontextu individuálních nedávných expozic, anamnézy a přítomnosti klinických známek a příznaků odpovídajících onemocnění COVID-19.
- F. Asymptomatické osoby infikované onemocněním COVID-19 nemusí vylučovat dostatek viru pro limit detekce testu, což povede k falešně negativnímu výsledku.
- G. V případě absence příznaků je těžké určit, jestli asymptomatické osoby byly testovány příliš pozdě nebo příliš časně. Z toho důvodu může negativní výsledek u asymptomatických osob zahrnovat osoby, které byly testovány příliš brzo a u nichž se může pozitivita objevit později, osoby, které byly testovány příliš pozdě a mohou mít serologické známky infekce, nebo osoby, které nebyly nikdy infikované.
- H. Byly ověřeny následující typy VTM/UTM.
- Přípravky Remel MicroTest M4, M4RT, M5 nebo M6
 - Médium Copan Universal Transport Medium
 - Médium BD Universal Viral Transport Medium
- Poznámka:** *Nepoužívejte médium, které může obsahovat guanidinium thiokyanát, ani žádný materiál obsahující guanidin.*

Funkčnost testu Panther SARS-CoV-2

Analytická citlivost

Analytická citlivost (mez detekce, LoD) testu Aptima SARS-CoV-2 byla stanovena testováním sériových ředění spojených negativních klinických vzorků nasofaryngeálních stěrů obohacených inaktivovaným kultivovaným virem SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020; BEI Resources; NR-52281). Deset replikátů každého sériového ředění bylo vyhodnoceno za použití každé ze dvou šarží testovacího činidla na dvou systémech Panther. Hodnota LoD byla stanovena na 0,01 TCID₅₀/ml v testovaném vzorku a ověřena testováním dalších 20 replikátů s jednou šarží testovacího činidla. Hodnota LoD byla také potvrzena s použitím fyziologického roztoku, Liquid Amies a média pro transport vzorků (STM) jako médií pro odběr stěru.

Byla provedena studie s podobným designem za účelem stanovit analytickou senzitivitu testu Aptima SARS-CoV-2 pomocí vzorků slin. Spojená matrice negativních klinických vzorků slin byla doplněna o inaktivovaný kultivovaný virus SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020; BEI zdroj: NR-52281). LoD byl stanoven na úrovni 0,01 TCID₅₀/ml v testovaném vzorku, což odpovídá koncentraci 0,13 TCID₅₀/ml v odebraném vzorku slin.

Analytická citlivost testu Aptima SARS-CoV-2 byla dále vyhodnocena za použití referenčního materiálu od tří komerčních dodavatelů. Sériová ředění referenčního materiálu byla provedena v STM a bylo testováno 20 nebo více replikátů na každé úrovni s použitím každé ze dvou šarží testovacího činidla na dvou systémech Panther. Referenční materiály a nejnižší úrovně ředění vedoucí k detekci $\geq 95\%$ jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 2: Hodnocení analytické citlivosti komerčních referenčních materiálů

Dodavatel	Název	Referenční č.	Č. šarže	Analytická citlivost
ZeptoMetrix	SARS-CoV-2 External Run control	NATSARS(COV2)- ERC	324332	83 kopií/ml
SeraCare	AccuPlex SARS-Cov-2 Reference Material	0505-0126	10483977	83 kopií/ml
Exact Diagnostic	SARS-CoV-2 Standard	COV019	20033001	83 kopií/ml

Analytická citlivost s použitím pracovního postupu s transferovou zkumavkou na vzorek Aptima

Stanovená analytická citlivost 0,01 TCID₅₀/ml (mez detekce) testu Aptima SARS-CoV-2 byla potvrzena za použití pracovního postupu přípravy vzorku pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima. Potvrzení bylo provedeno za použití inaktivovaného kultivovaného viru SARS-CoV-2 (USA-QA1/2020; BEI Resources; NR-52281) v negativním klinickém stěru z nosohltanu (NP), fyziologickém roztoku, Liquid Amies a médiu pro transport vzorků (STM) jako médií pro odběr stěru testováním 20 replikátů s jednou šarží činidla (tabulka 3).

Tabulka 3: Potvrzení LoD s použitím pracovního postupu pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima

Cíl	Matrice	Poč. platných	Poč. pozitivních	% pozitivních	Prům. kRLU	Stand. odch. kRLU	%CV
Inaktivovaný virus SARS-CoV-2	Stěr NP	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 %
	Liquid Amies	20	20	100 %	1 101	51	4,7 %

Inkluzivita

Inkluzivita testu Aptima SARS-CoV-2 byla hodnocena pomocí analýzy *in silico* záchytu cíle testu u oligonukleotidů, amplifikačních primerů a detekčních sond ve vztahu k 9 896 sekvencím RNA viru SARS-CoV-2 dostupným v genových databázích NCBI a GISAID. Z analýzy byla odstraněna jakákoli sekvence s chybějícími nebo nejasnými informacemi o sekvenci; pro první cílovou oblast testu bylo vyhodnoceno 9 879 sekvencí a pro druhou cílovou oblast 9 880 sekvencí. Analýza *in silico* ukázala 100 % homologii s testovacími oligonukleotidy obou cílových systémů pro 9 749 (98,5 %) hodnocených sekvencí a 100 % homologii s testovacími oligonukleotidy alespoň jednoho cílového systému pro všech 9 896 sekvencí. Nebyly zjištěny žádné hodnocené sekvence s identifikovanými neshodami, u nichž by se předpokládalo, že budou mít vliv na vazbu nebo výkon obou cílových systémů.

Analytická specifita a mikrobiální interference

Analytická specifita testu Aptima SARS-CoV-2 byla hodnocena testováním 30 mikroorganismů představujících běžné respirační patogeny nebo blízce příbuzné druhy (tabulka 4). Bakterie byly testovány při počtu 10^6 CFU/ml a viry byly testovány při 10^5 TCID₅₀/ml, pokud není uvedeno jinak. Mikroorganismy byly testovány s přítomností a bez přítomnosti inaktivovaného viru SARS-CoV-2 při hodnotě 3x LoD. Analytická specifita testu Aptima SARS-CoV-2 byla 100 % a nebyl nalezen žádný důkaz mikrobiální interference.

Kromě testování mikroorganismů byla provedena analýza *in silico* k posouzení specifity testu ve vztahu k mikroorganismům uvedeným v tabulce 4. Tato analýza *in silico* neprokázala žádnou pravděpodobnou zkříženou reaktivitu se žádnou ze 112 hodnocených sekvencí GenBank.

Tabulka 4: Analytická specifická a mikrobiální interference testu Aptima SARS-CoV-2

Mikroorganismus	Koncentrace	Mikroorganismus	Koncentrace
Lidský koronavirus 229E	1E + 5 TCID ₅₀ /ml	Virus parainfluenza 1	1E + 5 TCID ₅₀ /ml
Lidský koronavirus OC43	1E + 5 TCID ₅₀ /ml	Virus parainfluenza 2	1E + 5 TCID ₅₀ /ml
Lidský koronavirus HKU1 ¹	1E + 6 kopií/ml	Virus parainfluenza 3	1E + 5 TCID ₅₀ /ml
Lidský koronavirus NL63	1E + 4 TCID ₅₀ /ml	Virus parainfluenza 4	1E + 3 TCID ₅₀ /ml
Koronavirus SARS ¹	1E + 6 kopií/ml	Chřipkový virus typu A	1E + 5 TCID ₅₀ /ml
Koronavirus MERS	1E + 4 TCID ₅₀ /ml	Chřipka B	2E + 3 TCID ₅₀ /ml
Adenovirus (např. C1 Ad. 71)	1E + 5 TCID ₅₀ /ml	Enterovirus (např. EV68)	1E + 5 TCID ₅₀ /ml
Lidský metapneumovirus (hMPV)	1E + 6 TCID ₅₀ /ml	Rhinovirus	1E + 4 TCID ₅₀ /ml
Respirační syncytiální virus	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
Spojený (souhrnný) lidský nosní výplach ² – reprezentuje rozmanitou mikrobiální flóru v dýchacích cestách člověka	Není k dispozici		

¹ Purifikovaná nukleová kyselina kultivovaného viru a celého genomu pro lidský koronavirus HKU1 a koronavirus SARS není momentálně dostupná. K vyhodnocení zkřížené reaktivity a mikrobiální interference byly použity IVT HKU1 a koronavirus SARS odpovídající oblastem genu ORF1ab, na které cílí test.

² Namísto vyhodnocení souhrnného lidského nosního výplachu bylo provedeno testování 30 individuálních negativních vzorků klinického stěru nosohltanu, aby představovaly různorodou mikrobiální flóru v dýchacích cestách člověka.

Klinická funkčnost

Klinická funkčnost testu Aptima SARS-CoV-2 byla vyhodnocena ve srovnání s testem Panther Fusion SARS-CoV-2 (Hologic, Inc.) za použití panelu zbývajících klinických vzorků. Pro tuto studii byly shromážděny zbylé klinické vzorky stěrů z nosohltanu od pacientů z USA se známkami a příznaky respirační infekce.

Pozitivní procentní shoda (Positive Percent Agreement, PPA) a negativní procentní shoda (Negative Percent Agreement, NPA) byly vypočteny ve vztahu k testu Panther Fusion jako referenčnímu výsledku, jak je uvedeno v tabulce 5. Test Aptima SARS-CoV-2 vykázal pozitivní shodu 100 % a negativní shodu 98,2 %.

Nasofaryngeální výplach/aspirát, nazální aspiráty, stěry z nosu a stěry ze střední nosní mušle jsou přijatelnými vzorky pro testování virových respiračních infekcí. Funkčnost testu Aptima SARS-CoV-2 u těchto typů vzorků však nebyla doposud specificky hodnocena.

Tabulka 5: Klinická shoda testu Aptima SARS-CoV-2

	Test Panther Fusion SARS-CoV-2	
	Pozitivní	Negativní
Test Aptima SARS-CoV-2	Pozitivní 50	Negativní 1
	Negativní 0	54

Pozitivní procentuální shoda: (95 % CI): 100 % (92,9–100 %)

Negativní procentuální shoda: (95 % CI): 98,2 % (90,4–99,7 %)

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

Klinická funkčnost s aranžovaným panelem

Klinická funkčnost testu Aptima SARS-CoV-2 s použitím pracovního postupu přípravy pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima byla hodnocena ve srovnání s panelem aranžovaných vzorků. V této studii byl testován panel 115 zbylých klinických nasofaryngeálních vzorků s použitím pracovních postupů pro zkumavku pro lýzu vzorku Panther Fusion (zkumavka pro lýzu vzorku) a pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima. Všechny vzorky byly odebrány od pacientů z USA se známkami a příznaky respirační infekce. Panel se skládal ze 65 vzorků pozitivních na virus SARS-CoV-2 a 50 vzorků negativních na virus SARS-CoV-2. Ze 65 pozitivních vzorků bylo 40 v koncentracích 0,5–2x LoD a 25 bylo v koncentracích 3–5x LoD s použitím inaktivovaného kultivovaného viru SARS-CoV-2 (USA-QA1/2020; BEI Resources; NR-52281) jako cíle.

Pozitivní procentuální shoda (PPA) a negativní procentuální shoda (NPA) pro oba pracovní postupy přípravy vzorků byla vypočtena ve vztahu k očekávanému výsledku panelu aranžovaných vzorků, jak je uvedeno v tabulce 6 pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima a tabulce 7 pro zkumavku pro lýzu vzorku. Detekční charakteristiky pro aranžované vzorky byly vypočteny na základě koncentrace cíle, jak je uvedeno v tabulce 8. Oba pracovní postupy přípravy vzorků vykázaly 100 % shodu s hodnocenými panely.

Tabulka 6: Funkčnost pracovního postupu pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima ve vztahu k očekávaným výsledkům

	Očekávaný výsledek			
	Pozitivní	Negativní	Celkem	
Výsledek pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima	Pozitivní	65	0	65
	Negativní	0	50	50
	Celkem	65	50	115

Celková shoda: 100 % (96,8–100 %)

Pozitivní shoda: 100 % (94,4–100 %)

Negativní shoda: 100 % (92,9–100 %)

Tabulka 7: Funkčnost pracovního postupu pro zkumavku pro lýzu vzorku ve vztahu k očekávaným výsledkům

		Očekávaný výsledek		
		Pozitivní	Negativní	Celkem
Výsledek zkumavky pro lýzu vzorku	Pozitivní	65	0	65
	Negativní	0	50	50
	Celkem	65	50	115

Celková shoda: 100 % (96,8–100 %)

Pozitivní shoda: 100 % (94,4–100 %)

Negativní shoda: 100 % (92,9–100 %)

Tabulka 8: Charakteristiky detekce pro aranžované stěry nosohltanu

Cílová konc.	Pracovní postup pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima						Pracovní postup pro zkumavku pro lýzu vzorku					
	n platných	n pozitivních	% pozitivních	Průměr kRLU	Stand. odch. kRLU	%CV	n platných	n pozitivních	% pozitivních	Průměr kRLU	Stand. odch. 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	1 050	208,5	19,9	10	10	100	1 153	113,0	9,8
1,0x LoD	10	10	100	1 176	102,1	8,7	10	10	100	1 205	24,3	2,0
1,5x LoD	10	10	100	1 222	31,6	2,6	10	10	100	1 223	21,9	1,8
2,0x LoD	10	10	100	1 225	22,6	1,8	10	10	100	1 237	26,0	2,1
3,0x LoD	10	10	100	1 228	13,6	1,1	10	10	100	1 215	25,5	2,1
4,0x LoD	5	5	100	1 238	16,7	1,4	5	5	100	1 212	12,5	1,0
5,0x LoD	10	10	100	1 237	18,2	1,5	10	10	100	1 246	28,3	2,3

Klinické funkční charakteristiky s přirozeně infikovanými pozitivními vzorky

Klinická funkčnost testu Aptima SARS-CoV-2 s použitím pracovního postupu přípravy vzorku pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima byla vyhodnocena ve srovnání s pracovním postupem pro použití zkumavky pro lýzu vzorku s vyhodnocením za použití testů Aptima a Panther Fusion SARS-CoV-2. Pro tuto studii byla pomocí obou pracovních postupů připravena a zpracována tři ředění 15 jedinečných stěrů z nosohltanu pozitivních na SARS-CoV-2. Vzorky SARS-CoV-2 byly dříve stanoveny jako pozitivní pomocí molekulárního testu od jiného výrobce než společnosti Hologic.

Pozitivní procentuální shoda mezi testem Aptima SARS-CoV-2 při použití pracovních postupů pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima a zkumavku pro lýzu vzorku byla při porovnání s testem Panther Fusion SARS-CoV-2 s použitím pracovního postupu pro použití zkumavky pro lýzu vzorku jako reference 97,5 % (87,1 % – 99,6 %), respektive 100 % (91,0 % – 100 %). Pozitivní procentuální shoda pracovního postupu pro transferovou zkumavku na vzorek Aptima byla ve srovnání s pracovním postupem pro použití zkumavky pro lýzu vzorku 95,0 % (83,5 % – 98,6 %).

Klinické funkční charakteristiky u vzorků slin

Klinické funkční charakteristiky testu Aptima SARS-CoV-2 se vzorky slin byly vyhodnoceny ve srovnání se vzorky stěru z nosohltanu u 303 subjektů, které byly testovány současně. 303 subjektů zahrnovalo 160 (52,8 %) s mírnými příznaky a 143 (47,2 %) asymptomatických v době testování. Pozitivní procentní shoda (Positive Percent Agreement, PPA) a negativní procentní shoda (Negative Percent Agreement, NPA) pro vzorky slin byly vypočteny ve vztahu k vzorkům ze stěru z nosohltanu jako referenčnímu výsledku, jak je uvedeno v tabulce 9. Test Aptima SARS-CoV-2 vykázal pozitivní shodu 87,0 % a negativní shodu 99,2 % mezi typy vzorků.

Tabulka 9: Klinická shoda mezi vzorky slin a stěru z nosohltanu u testu Aptima SARS-CoV-2

		Stěr NP	
		Pozitivní	Negativní
Sliny	Pozitivní	47	2
	Negativní	7	245

Poznámka: 2 vzorky mají neplatné výsledky.

Pozitivní procentuální shoda: (95% CI): 87,0 % (83,0 %–96,0 %)

Negativní procentuální shoda: (95% CI): 99,2 % (97,1 %–99,9 %)

Klinické funkční charakteristiky u asymptomatických jedinců

Klinické funkční charakteristiky testu Aptima SARS-CoV-2 u osob bez známek a příznaků respirační infekce (asymptomatické jedince) byly hodnoceny ve srovnání s molekulárním testem EUA. Byly hodnoceny prospektivně odebírané vzorky nasofaryngeálního stěru od pacientů v USA, včetně 45 vzorků pozitivních na SARS-CoV-2 a 315 vzorků negativních na SARS-CoV-2 dle srovnávacího testu EUA. PPA a NPA byly vypočteny ve vztahu k výsledkům srovnávacího testu EUA. PPA a NPA byly 100 %, resp. 96,5 %, pro test Aptima SARS-CoV-2 u asymptomatických jedinců, jak uvádí tabulka 10.

Tabulka 10: Klinická shoda vzorků stěru z nosohltanu u asymptomatických jedinců

		Test EUA	
		Pozitivní	Negativní
Test Aptima SARS-CoV-2	Pozitivní	45	11
	Negativní	0	304

Pozitivní procentuální shoda (PPA): 100 % (92,1 %–100 %)

Negativní procentuální shoda (NPA): 96,5 % (93,9 %–98,0 %)

Šest (6) z 11 vzorků stěru z nosohltanu s falešně pozitivními výsledky bylo potvrzeno jako pozitivní dle opakovaného testování srovnávacím testem EUA. Hodnoty Ct pro těchto 6 vzorků spadaly do rozmezí 35,5 až 38,9, což svědčilo pro nízkou virovou nálož.

Klinické funkční charakteristiky spojení až 5 vzorků před testováním

Klinická funkčnost testu Aptima SARS-CoV-2 byla hodnocena u spojených vzorků sestávajících až z 5 vzorků. U každé studie byly hodnoceny spojené vzorky sestávající z 5 vzorků zahrnující pozitivní a negativní spojené vzorky. Každý pozitivní spojený vzorek obsahoval jeden pozitivní dílčí

vzorek a ostatní dílčí vzorky byly negativní. Negativní spojené vzorky sestávaly pouze z negativních dílčích vzorků. Ve studii bylo hodnoceno 50 pozitivních a 20 negativních spojených vzorků. Pozitivní vzorky použité ve studii pokrývaly rozsah detekce testu a zahrnovaly 20 % slabě pozitivních vzorků. Vzorky zařazené do studie klinických funkčních charakteristik spojených vzorků byly zvoleny na základě Ct výsledků získaných pomocí testu Panther Fusion SARS-CoV-2. Test Panther Fusion SARS-CoV-2 byl použit k tomuto účelu, protože testy Panther Fusion SARS-CoV-2 a Aptima SARS-CoV-2 mají stejnou hodnotu LoD dle hodnocení referenčním panelem FDA (tzn. 600 NDU/ml). Slabě pozitivní vzorky zařazené do studie byly definovány jako vzorky s Ct hodnotou v rozmezí 1–2 Ct LoD testu Panther Fusion SARS-CoV-2. Spojené i individuální vzorky byly hodnoceny pomocí testu Aptima SARS-CoV-2.

Pozitivní procentní shoda (Positive Percent Agreement, PPA) a negativní procentní shoda (Negative Percent Agreement, NPA) byly vypočteny ve vztahu k očekávanému (individuálnímu) výsledku, jak je uvedeno v tabulce Tabulka 11. Všechny hodnocené pozitivní vzorky měly v testování spojených vzorků pozitivní výsledek. Jelikož hodnoty kRLU pro test Aptima neodpovídají cílové koncentraci, nebyla provedena analýza signálu ani citlivosti in silico.

Tabulka 11: Shoda individuálních a spojených vzorků se spojenými vzorky obsahujícím 5 dílčích vzorků

		Výsledek individuálního vzorku		
		Pozitivní	Negativní	Celkem
Spojených 5 vzorků	Pozitivní	50	0	50
	Negativní	0	20	20
	Celkem	50	20	70

Celková shoda: 100 % (94,8–100,0 %)

Pozitivní shoda: 100 % (92,9–100,0 %)

Negativní shoda: 100 % (83,9–100,0 %)

Klinické funkční charakteristiky spojení až 5 vzorků asymptomatických pacientů před testováním

Klinické funkční charakteristiky testu Aptima SARS-CoV-2 byly hodnoceny u spojených vzorků odebraných asymptomatickým pacientům. Spojené vzorky zahrnující až 5 jednotlivých vzorků byly vyhodnoceny s pozitivními i negativními vzorky asymptomatických pacientů. Každý pozitivní spojený vzorek obsahoval jeden pozitivní dílčí vzorek a ostatní dílčí vzorky byly negativní. Negativní spojené vzorky sestávaly pouze z negativních dílčích vzorků. Pro spojené 3 vzorky bylo hodnoceno 32 pozitivních a 32 negativních spojených vzorků. Pro spojené 4 vzorky bylo hodnoceno 36 pozitivních a 31 negativních spojených vzorků. Pro spojených 5 vzorků bylo hodnoceno 36 pozitivních a 30 negativních spojených vzorků. Pozitivní vzorky použité ve studii pokrývaly rozsah detekce testu a každá velikost spojených vzorků zahrnovala 25 % slabě pozitivních vzorků. Vzorky zařazené do studie klinických funkčních charakteristik byly zvoleny na základě Ct výsledků získaných pomocí testu Panther Fusion SARS-CoV-2. Test Panther Fusion SARS-CoV-2 byl k tomuto účelu použit, protože testy Panther Fusion SARS-CoV-2 a Aptima SARS-CoV-2 mají stejnou hodnotu LoD dle hodnocení referenčním panelem FDA (tzn. 600 NDU/ml). Slabě pozitivní vzorky zařazené do studie byly definovány jako vzorky s hodnotou Ct v rozmezí 1–2 Ct LoD testu Panther Fusion SARS-CoV-2. Spojené i individuální vzorky byly hodnoceny pomocí testu Aptima SARS-CoV-2.

Pozitivní procentní shoda (Positive Percent Agreement, PPA) a negativní procentní shoda (Negative Percent Agreement, NPA) byly vypočteny ve vztahu k očekávanému (individuálnímu) výsledku pro každou hodnocenou velikost spojeného vzorku, jak je uvedeno v tabulce 12, tabulce 13 a tabulce 14. U spojených vzorků ze 3 individuálních vzorků poskytl jeden z osmi hodnocených vzorků s cílovou

koncentrací na úrovni LoD testu nebo v blízkosti této hodnoty individuální pozitivní výsledek, ale nebyl detekován jako součást spojeného vzorku. U spojených vzorků ze 4 individuálních vzorků poskytly všechny hodnocené pozitivní vzorky pozitivní výsledek při spojeném testování. U spojených vzorků z 5 individuálních vzorků poskytlo pět z devíti hodnocených vzorků s cílovou koncentrací na úrovni LoD testu nebo v blízkosti této hodnoty individuální pozitivní výsledek, ale nebyly detekovány jako součást spojeného vzorku. Jelikož hodnoty kRLU pro test Aptima neodpovídají cílové koncentraci, nebyla provedena analýza signálu ani citlivosti *in silico*.

Tabulka 12: Shoda individuálních a spojených vzorků asymptomatických jedinců se spojenými vzorky obsahujícími 3 dílčí vzorky

		Výsledek individuálního vzorku		
		Pozitivní	Negativní	Celkem
Výsledek spojených 3 vzorků	Pozitivní	31	0	31
	Negativní	1	32	33
	Celkem	32	32	64

Celková shoda: 98,4 % (91,7 %–99,7 %)

Pozitivní shoda: 96,9 % (84,3 %–99,4 %)

Negativní shoda: 100 % (89,3 %–100 %)

Tabulka 13: Shoda individuálních a spojených vzorků asymptomatických jedinců se spojenými vzorky obsahujícími 4 dílčí vzorky

		Výsledek individuálního vzorku		
		Pozitivní	Negativní	Celkem
Výsledek spojených 4 vzorků	Pozitivní	36	0	36
	Negativní	0	31	31
	Celkem	36	31	67

Celková shoda: 100 % (94,6 %–100 %)

Pozitivní shoda: 100 % (90,4 %–100 %)

Negativní shoda: 100 % (89,0 %–100 %)

Tabulka 14: Shoda individuálních a spojených vzorků asymptomatických jedinců se spojenými vzorky obsahujícími 5 dílčích vzorků

		Výsledek individuálního vzorku		
		Pozitivní	Negativní	Celkem
Výsledek spojených 5 vzorků	Pozitivní	31	0	31
	Negativní	5	30	35
	Celkem	36	30	66

Celková shoda: 92,4 % (83,5 %–96,7 %)

Pozitivní shoda: 86,1 % (71,3 %–93,9 %)

Negativní shoda: 100 % (88,6 %–100 %)

Literatura

1. **Světová zdravotnická organizace.** Q&A on coronaviruses (COVID-19). 9. března 2020. Webové stránky Světové zdravotnické organizace <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/q-a-coronaviruses>. Přístup 10. března 2020.
2. **Středisko pro kontrolu a prevenci onemocnění.** <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/how-covid-spreads.html>. Přístup středa 17. června 2020.
3. **Středisko pro kontrolu a prevenci nemocí.** Coronavirus Disease 2019-(COVID-19) in the U.S. Aktualizováno 10. března 2020. Webová stránka Střediska pro kontrolu a prevenci nemocí <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-in-us.html>. Přístup 10. března 2020.
4. **Středisko pro kontrolu a prevenci nemocí.** Coronavirus Disease 2019 Information for Travel. Stránka naposledy zkontrolována 8. března 2020. Webová stránka Střediska pro kontrolu a prevenci nemocí <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/travelers/index.html>. Přístup 10. března 2020.
5. **Středisko pro kontrolu a prevenci nemocí.** Coronavirus Disease 2019-(COVID-19) Situation Summary. Aktualizováno 9. března 2020. Webová stránka Střediska pro kontrolu a prevenci nemocí <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/summary.html>. Přístup 10. března 2020.
6. **Institút pro klinické a laboratorní standardy.** Document M29 Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Webová stránka CLSI <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Přístup září 2017.



Hologic BV
Da Vinciilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Zákaznická podpora: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Technická podpora: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Více informací získáte na webové stránce www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Panther a Panther Fusion jsou ochranné známky a/nebo registrované ochranné známky společnosti Hologic, Inc., a/nebo jejích dceřiných společností v USA a/nebo v jiných zemích.

Veškeré ostatní ochranné známky, které se mohou objevit v této příbalové informaci, jsou majetkem příslušných vlastníků.

Tento produkt může být krytý jedním či více patenty USA uvedenými na webové stránce www.hologic.com/patents.

©2022 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.

AW-22752-2601, rev. 004
2022-04