

Paraflu Assay (Panther Fusion™ System)

Mode d'emploi
Pour diagnostic *in vitro*
Réservé à l'exportation américaine

Informations générales	2
Usage prévu	2
Résumé et explication du test	2
Principe de la procédure	2
Avertissements et précautions	3
Conditions de conservation et de manipulation des réactifs	6
Prélèvement et conservation des échantillons	7
Transport des échantillons	8
Panther Fusion System	9
Réactifs et matériels fournis pour le test Panther Fusion Paraflu Assay	9
Matériels requis et disponibles séparément	10
Procédure de test pour le Panther Fusion System	11
Remarques concernant la procédure	12
Contrôle de la qualité	13
Interprétation des résultats	14
Limites	15
Performances du test avec le système Panther Fusion	16
Performance clinique : étude rétrospective	16
Performance clinique : étude prospective	17
Sensibilité analytique	19
Spécificité analytique	19
Interférence concurrentielle	21
Interférence	22
Contamination de transfert	23
Précision du test	23
Reproductibilité	25
Bibliographie	28
Coordonnées et historique des révisions	29

Informations générales

Usage prévu

Le test Panther Fusion™ Paraflu assay est un test diagnostique *in vitro* par PCR multiplex en temps réel (RT-PCR) pour la détection rapide et qualitative et la différenciation des virus parainfluenza 1, parainfluenza 2, parainfluenza 3 et parainfluenza 4 (HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 et HPIV-4). Les acides nucléiques sont isolés et purifiés à partir d'échantillons nasopharyngés (NP) prélevés par écouvillonnage chez des sujets présentant des signes et des symptômes d'infection des voies respiratoires.

Ce test facilite le diagnostic différentiel des infections à virus HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 et HPIV-4 chez l'homme. Un résultat négatif n'exclut pas une infection au virus HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3, et HPIV-4 et ne doit pas être utilisé comme seule base pour le traitement ou les autres décisions de prise en charge. Ce test est conçu pour une utilisation sur le système Panther Fusion.

Résumé et explication du test

Les virus parainfluenza humains (HPIV) appartiennent à la famille des *Paramyxoviridae*. Il s'agit de virus enveloppés à ARN antisens et simple brin. Il en existe quatre types (1 à 4). Chaque type de virus HPIV présente différentes caractéristiques cliniques et épidémiologiques. Aux États-Unis, les infections associées au virus HPIV-1 sont observées plus fréquemment durant les années impaires et les virus HPIV-2 et virus HPIV-3 sont présents chaque année. Les virus HPIV infectent généralement les nourrissons et les jeunes enfants ; cependant, toute personne peut être infectée par les virus HPIV. Les virus HPIV-1 et virus HPIV-2 provoquent le croup, le virus HPIV-1 étant le plus souvent identifié comme la cause chez les enfants. Tous deux peuvent également causer des maladies respiratoires des voies supérieures et inférieures et des symptômes de rhume. HPIV-3 est plus souvent associé à la bronchiolite, à la bronchite et à la pneumonie. HPIV-4 n'est pas identifié aussi souvent, mais peut causer des maladies des voies respiratoires de légères à sévères. La période d'incubation, à savoir la durée entre l'exposition au virus HPIV et l'apparition des symptômes, est généralement de 2 à 7 jours.¹

Principe de la procédure

Le test Panther Fusion Paraflu assay comporte trois étapes principales : lyse de l'échantillon, capture de l'acide nucléique et transfert de l'éluat puis RT-PCR multiplex durant laquelle les analytes sont détectés, différenciés et amplifiés simultanément. La capture et l'éluat de l'acide nucléique ont lieu dans un tube unique sur le système Panther Fusion. L'éluat est transféré dans le tube réactionnel Panther Fusion contenant les réactifs du test. La RT-PCR multiplex est ensuite effectuée sur l'acide nucléique élué, sur le système Panther Fusion.

Capture et éluat de l'acide nucléique : avant le traitement et l'analyse sur le système Panther Fusion, les échantillons sont transférés dans un tube de lyse contenant un milieu de transport des échantillons (STM) qui lyse les cellules, libère l'acide nucléique cible et le protège de la dégradation au cours du stockage.

Le contrôle interne-S (IC-S) est ajouté à chaque échantillon de test et aux contrôles par l'intermédiaire du réactif-S de capture du Panther Fusion (« working Panther Fusion Capture Reagent-S » ; wFCR-S). L'IC-S dans le réactif permet de suivre l'amplification, la détection et le traitement des échantillons.

Les oligonucléotides de capture s'hybrident à l'acide nucléique de l'échantillon testé. L'acide nucléique hybridé est alors séparé du reste de l'échantillon dans un champ magnétique.

Les étapes de lavage permettent d'éliminer les composants exogènes du tube réactionnel. L'étape d'éluion permet la récupération de l'acide nucléique purifié. Durant l'étape de capture et d'éluion de l'acide nucléique, la totalité de l'acide nucléique est isolée de l'échantillon.

Transfert de l'éluat et RT-PCR : au cours de l'étape de transfert d'éluion, l'acide nucléique élué est transféré dans un tube réactionnel du Panther Fusion contenant déjà l'huile et le mastermix reconstitué.

L'amplification de la cible s'effectue par RT-PCR. Une transcriptase inverse est utilisée pour générer une copie d'ADN de la séquence cible. Des amorces sens et antisens spécifiques de la cible et des sondes amplifient alors les cibles, détectant et distinguant simultanément plusieurs types de cibles par RT-PCR multiplex.

Le système Panther Fusion compare le signal de fluorescence à un seuil prédéterminé pour produire un résultat qualitatif indiquant la présence ou l'absence de l'analyte.

Les analytes et le canal utilisé pour leur détection sur le système Panther Fusion sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Analyte	Gène ciblé	Canal de l'appareil
HPIV-1	Hémagglutinine-neuraminidase	FAM
HPIV-2	Hémagglutinine-neuraminidase	HEX
HPIV-3	Hémagglutinine-neuraminidase	ROX
HPIV-4	Nucléocapside	RED647
Contrôle interne	Sans objet	RED677

Avertissements et précautions

- A. Pour usage diagnostique *in vitro* seulement.
- B. Réservé à un usage professionnel.

Recommandations concernant les laboratoires

- C. Lire attentivement l'intégralité de cette notice et le *Manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System*.
- D. Le réactif-S activateur Panther Fusion (« Panther Fusion Enhancer Reagent-S », FER-S) est corrosif, nocif si avalé ; il provoque de graves brûlures et des lésions oculaires.
- E. Seul le personnel dûment formé à l'utilisation de ce test et à la manipulation de matériel potentiellement infectieux peut effectuer ces procédures. En cas de déversement, désinfecter immédiatement conformément aux procédures appropriées de l'établissement.
- F. Manipuler tous les échantillons comme s'ils étaient infectieux, en respectant les procédures de laboratoire telles que celles décrites dans « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories »⁸ du CDC/NIH et dans le Document M29 du CLSI, « Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections ».⁹

- G. N'utiliser que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.
- H. Porter des gants jetables non poudrés, des lunettes de protection et une blouse de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs. Se laver soigneusement les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs.
- I. Éliminer tout matériel ayant été en contact avec les échantillons et les réactifs conformément aux réglementations nationales, internationales et régionales.

Recommandations concernant les échantillons

- J. Les dates de péremption figurant sur les tubes de lyse d'échantillon du Panther Fusion concernent le transfert de l'échantillon dans le tube, et non le test de l'échantillon. Les échantillons collectés ou transférés avant ces dates de péremption sont valides pour des tests s'ils ont été transférés et conservés conformément à la notice correspondante, même si ces dates de péremption sont dépassées depuis lors.
- K. Maintenir des conditions de conservation appropriées pendant le transport des échantillons pour préserver leur intégrité. La stabilité des échantillons dans des conditions de transport autres que celles recommandées n'a pas été évaluée.

Recommandations concernant les tests

- L. Éviter toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Les échantillons peuvent contenir des taux extrêmement élevés de virus ou d'autres organismes. Veiller à éviter tout contact entre les différents tubes d'échantillons et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert pour éliminer du matériel usagé. Changer de gants en cas de contact avec les échantillons.
- M. Ne pas utiliser les réactifs ou les contrôles après la date de péremption.
- N. Conserver les composants du test dans les conditions de conservation recommandées. Voir *Conditions de conservation et de manipulation des réactifs* et *Procédure de test pour le Panther Fusion System* pour plus d'informations.
- O. Ne pas mélanger les réactifs de test ou les liquides. Ne pas compléter les niveaux de réactifs ou de fluides ; le système Panther Fusion vérifie les niveaux des réactifs.
- P. Éviter la contamination des réactifs par des microbes ou des ribonucléases.
- Q. Les règles de contrôle qualité doivent être respectées, conformément aux réglementations locales et régionales ou aux exigences d'accréditation et aux procédures normalisées de contrôle de la qualité du laboratoire.
- R. Ne pas utiliser la cartouche de test si le sachet de stockage n'est plus étanche ou si le film de la cartouche de test n'est pas intact. Contacter Hologic si cela se produit.
- S. Ne pas utiliser les packs de fluides si l'opercule fuit. Contacter Hologic si cela se produit.
- T. Manipuler les cartouches de test avec précaution. Ne pas laisser tomber ni inverser les cartouches de test. Éviter l'exposition prolongée à la lumière ambiante.

Remarque : la signalisation des risques reflète les classifications des fiches de données de sécurité (FDS) de l'UE. Pour des informations sur la signalisation des risques spécifiques à une région, consulter la FDS spécifique à la région dans la bibliothèque des fiches de données de sécurité sur le site www.hologicds.com. Pour plus d'informations sur les symboles, consulter la légende des symboles à l'adresse www.hologic.com/package-inserts.

Informations sur les dangers pour l'UE**Huile Panther Fusion Oil**
POLYDIMETHYLSILOXANE 100 %**ATTENTION**

H315 - Provoque une irritation cutanée
H319 - Provoque une sévère irritation des yeux

**Panther Fusion Enhancer Reagent-S (FER-S)**
LITHIUM HYDROXYDE, MONOHYDRATE 5-10 %**DANGER**

H302 - Nocif en cas d'ingestion
H314 - Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves
P260 - Ne pas respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols
P280 - Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage
P303 + P361 + P353 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/se douche
P305 + P351 + P338 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer
P310 - Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin
P280 - Porter un équipement de protection des yeux/du visage



Conditions de conservation et de manipulation des réactifs

A. Le tableau suivant présente les exigences de conservation et de manipulation pour ce test.

Réactif	Conservation non ouvert	Stabilité à bord/ après ouverture ¹	Conservation après ouverture
Cartouche Panther Fusion Paraflu assay	2 °C à 8 °C	60 jours	2 °C à 8 °C ²
Réactif Panther Fusion Capture Reagent-S (FCR-S)	15 °C à 30 °C	30 jours	15 °C à 30 °C
Réactif Panther Fusion Enhancer Reagent-S (FER-S)	15 °C à 30 °C	30 jours	15 °C à 30 °C
Contrôle interne Panther Fusion Internal Control-S (IC-S)	2 °C à 8 °C	(En wFCR-S)	Sans objet
Tampon d'éluion Panther Fusion Elution Buffer	15 °C à 30 °C	60 jours	15 °C à 30 °C
Huile Panther Fusion Oil	15 °C à 30 °C	60 jours	15 °C à 30 °C
Tampon I de reconstitution Panther Fusion Reconstitution Buffer I	15 °C à 30 °C	60 jours	15 °C à 30 °C
Contrôle positif Panther Fusion Paraflu Positive Control	2 °C à 8 °C	Flacon à usage unique	Non applicable - À usage unique
Contrôle négatif Panther Fusion Negative Control	2 °C à 8 °C	Flacon à usage unique	Non applicable - À usage unique

Remplacer immédiatement les réactifs à la bonne température de conservation dès leur retrait du système Panther Fusion.

¹ La stabilité à bord commence au moment où le réactif est placé sur le système Panther Fusion pour la cartouche Panther Fusion Paraflu assay, le FCR-S, le FER-S et l'IC-S. Pour le tampon Panther Fusion Reconstitution Buffer I, le tampon Panther Fusion Elution Buffer et le réactif Panther Fusion Oil Reagent, la stabilité à bord commence à la première utilisation du pack de réactifs.

² Si la cartouche de test est enlevée du système Panther Fusion, la conserver dans un récipient hermétique avec dessiccateur, à la température de stockage recommandée.

- B. Les réactifs de capture et activateur (Working Panther Fusion Capture Reagent-S et Panther Fusion Enhancer Reagent-S) sont stables pendant 60 jours lorsqu'ils sont conservés bouchés entre 15 °C et 30 °C. Ne pas réfrigérer. Jeter tout réactif inutilisé qui a dépassé sa durée de stabilité à bord.
- C. Les contrôles non ouverts sont stables jusqu'à la date indiquée sur les flacons.
- D. Éviter toute contamination croisée pendant la manipulation et le stockage des réactifs.
- E. **Ne pas congeler les réactifs.**

Prélèvement et conservation des échantillons

Spécimens : matériel clinique prélevé sur un patient et placé dans un système de transport approprié. Pour le test Panther Fusion Paraflu assay, cela inclut les échantillons NP prélevés par écouvillonnage dans le milieu de transport viral (VTM).

Échantillons : terme plus générique pour décrire tout matériel à tester sur le système Panther Fusion ; cela comprend les échantillons, les échantillons transférés dans un tube de lyse d'échantillon Panther Fusion et les contrôles.

Remarque : manipuler tout échantillon comme potentiellement infectieux. Respecter les précautions universelles.

Remarque : éviter toute contamination croisée pendant les étapes de manipulation des échantillons. Par exemple, veiller à ne pas passer au-dessus de tubes ouverts lors de l'élimination de matériels usagés.

A. Les types d'échantillons comprennent les échantillons sur écouvillon NP.

Prélever les échantillons NP par écouvillonnage selon la technique classique, avec un écouvillon à embout en polyester, rayonne ou nylon. Placer immédiatement l'échantillon sur écouvillon dans 3 mL de VTM.

L'utilisation des types de VTM suivants a été vérifiée :

- Formulations Remel MicroTest M4, M4RT, M5 ou M6
- Copan Universal Transport Medium
- BD Universal Viral Transport Medium

B. Traitement de l'échantillon

1. Avant de le tester sur le système Panther Fusion, transférer l'échantillon* dans un tube de lyse d'échantillon Panther Fusion.

- Transférer 500 µL d'échantillon sur écouvillon NP dans un tube de lyse d'échantillon Panther Fusion.

***Remarque** : les échantillons congelés doivent d'abord parvenir à température ambiante avant toute utilisation. Ne pas soumettre les échantillons à plus de 3 cycles de congélation/décongélation.

2. Conservation des échantillons avant le test

- a. Après le prélèvement, les échantillons peuvent être conservés entre 2 °C et 8 °C pendant 96 heures avant d'être transférés dans le tube de lyse d'échantillon Panther Fusion. Les volumes d'échantillons restants peuvent être conservés à ≤ -70 °C pendant 24 mois maximum.
- b. Les échantillons dans le tube de lyse d'échantillon Panther Fusion peuvent être conservés comme suit :
 - 15 °C à 30 °C jusqu'à 6 jours ou
 - 2 °C à 8 °C jusqu'à 3 mois.

Remarque : il est recommandé de conserver les échantillons transférés dans un tube de lyse d'échantillon Panther Fusion bouché et en position verticale sur un portoir.

C. Les échantillons à bord du système Panther Fusion peuvent être archivés pour des tests supplémentaires à une date ultérieure.

D. Conservation des échantillons après le test

1. Les échantillons qui ont été testés doivent être conservés verticalement sur un portoir comme suit :
 - 15 °C à 30 °C jusqu'à 6 jours ou
 - 2 °C à 8 °C jusqu'à 3 mois.
2. Les échantillons doivent être recouverts avec un nouveau film propre en plastique ou en aluminium.
3. Si les échantillons testés doivent être congelés ou expédiés, retirer les bouchons pénétrables des tubes d'échantillon et les remplacer par des bouchons non pénétrables. Si les échantillons doivent être envoyés dans un autre établissement pour y être testés, les températures recommandées doivent être maintenues. Avant de déboucher des échantillons préalablement testés et rebouchés, centrifuger les tubes d'échantillon avec une force centrifuge relative (RCF) de 420 pendant 5 minutes pour faire descendre la totalité du liquide au fond des tubes. Éviter les éclaboussures et les contaminations croisées.

Transport des échantillons

Respecter les conditions de conservation des échantillons décrites dans la section *Prélèvement et conservation des échantillons*.

Remarque : *l'expédition des échantillons doit s'effectuer conformément aux réglementations locales, nationales et internationales en vigueur en matière de transport.*

Panther Fusion System

Le système Panther Fusion est un système de test de l'acide nucléique intégré permettant d'automatiser toutes les étapes de réalisation des tests Panther Fusion : le traitement de l'échantillon, l'amplification, la détection et la réduction des données.

Réactifs et matériels fournis pour le test Panther Fusion Paraflu Assay

Emballage du test

Composants ¹	Réf.	Stockage
Panther Fusion Paraflu Assay Cartridges 96 Tests Cartouche de Panther Fusion Paraflu assay, 12 tests, 8 par boîte	PRD-04329	2 °C à 8 °C
Panther Fusion Internal Control-S 960 Tests Tube de contrôle interne Internal Control-S Panther Fusion, 4 par boîte	PRD-04332	2 °C à 8 °C
Panther Fusion Paraflu Assay Controls Tube de contrôle positif Panther Fusion Paraflu Positive Control tube, 5 par boîte Tube de contrôle négatif Panther Fusion Negative Control tube, 5 par boîte	PRD-04337	2 °C à 8 °C
Panther Fusion Extraction Reagent-S 960 Tests Flacon de réactif de capture Panther Fusion Capture Reagent-S, 240 tests, 4 par boîte Flacon de réactif activateur Panther Fusion Enhancer Reagent-S, 240 tests, 4 par boîte	PRD-04331	15 °C à 30 °C
Panther Fusion Elution Buffer 2 400 Tests Pack de tampon d'élution Panther Fusion Elution Buffer, 1 200 tests, 2 par boîte	PRD-04334	15 °C à 30 °C
Panther Fusion Reconstitution Buffer I 1 920 Tests Tampon de reconstitution I Panther Fusion Reconstitution Buffer I, 960 tests, 2 par boîte	PRD-04333	15 °C à 30 °C
Panther Fusion Oil Reagent 1 920 Tests Réactif huileux Panther Fusion Oil Reagent, 960 tests, 2 par boîte	PRD-04335	15 °C à 30 °C

¹ Les composants peuvent également être commandés par lots :

Kit Panther Fusion Universal Fluids, PRD-04430, contient 1 huile Panther Fusion et 1 tampon d'élution Panther Fusion.

Le kit Panther Fusion Assay Fluids I-S, PRD-04431, contient 2 réactifs-S d'extraction Panther Fusion, 2 contrôles internes-S Panther Fusion et 1 tampon I de reconstitution Panther Fusion.

Articles emballés individuellement

Articles	Réf.
Tubes de lyse d'échantillon Panther Fusion Specimen Lysis Tubes, 100 par sachet	PRD-04339

Matériels requis et disponibles séparément

Remarque : le matériel disponible chez Hologic est référencé, sauf indication contraire.

Matériel	Réf. N°
Panther System	303095
Panther Fusion Module	PRD-04173
Panther Fusion System	PRD-04172
Unités multi-tube (MTU)	104772-02
Assortiment de sacs pour déchets Panther	902731
Couvre-déchets Panther	504405
Ou kit d'analyse pour tests en temps réel sur le Panther System contient des MTU, des sacs pour déchets, des couvre-déchets et des liquides pour tests	PRD-03455 (5 000 tests)
Ou kit d'analyse pour le Panther System (lors de la réalisation de tests TMA parallèlement à des tests TMA en temps réel) contient des MTU, des sacs pour déchets, des couvre-déchets, un dispositif de détection automatique* et des liquides pour tests	303096 (5 000 tests)
Portoirs pour tubes Panther Fusion, 1 008 tests, 18 portoirs par boîte	PRD-04000
Embouts, 1000 µL, avec filtre, conducteurs, détecteurs de liquide et jetables. <i>Tous les produits ne sont pas disponibles dans toutes les régions. Contacter un représentant pour obtenir des informations spécifiques à la région</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Kit de liquides de test Aptima (Solution de lavage Aptima, tampon pour solution de désactivation Aptima et réactif huileux Aptima)	303014 (1000 tests)
Bouchons pénétrables Aptima (facultatifs)	105668
Bouchons non pénétrables de rechange (facultatifs)	103036A
Bouchons pour flacon de réactif d'extraction de rechange	CL0040
Multipipette P1000 et embouts avec tampons hydrophobes	-
Eau de Javel, solution d'hypochlorite de sodium de 5 % à 8,25 % (0,7 M à 1,16 M)	-
Gants non poudrés jetables	-
Protection de paillasse de laboratoire à envers plastifié	-
Chiffons non pelucheux	-

*Nécessaire uniquement pour les tests Panther Aptima TMA.

Procédure de test pour le Panther Fusion System

Remarque : consulter le manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System pour plus d'informations sur la procédure.

A. Préparation de la zone de travail

1. Essuyer les plans de travail avec une solution d'hypochlorite de sodium de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laisser la solution d'hypochlorite de sodium en contact avec les surfaces pendant au moins 1 minute et rincer avec de l'eau désionisée. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrir la surface de travail avec des protections propres pour paillasse de laboratoire absorbantes, à envers plastifié.
2. Nettoyer une surface de travail distincte où les échantillons seront préparés en utilisant la procédure décrite à l'étape A.1.
3. Nettoyer toutes les pipettes. Utiliser la procédure de nettoyage décrite ci-dessus (étape A.1).

B. Préparation des réactifs

1. Enlever les flacons d'IC-S, FCR-S et FER-S de leur lieu de conservation.
2. Ouvrir les flacons d'IC-S, FCR-S et FER-S et jeter les bouchons. Ouvrir la porte du TCR du compartiment supérieur du système Panther Fusion.
3. Placer les flacons d'IC-S, FCR-S et FER-S dans les positions appropriées sur le carrousel de TCR.
4. Fermer la porte du TCR.

Remarque : le système Panther Fusion ajoute l'IC-S au FCR-S. Après ajout de l'IC-S au FCR-S, ce dernier est appelé wFCR-S (FCR-S de travail). Si le FCR-S et le FER-S sont retirés du système, utiliser de nouveaux bouchons et stocker les réactifs immédiatement selon les conditions de conservation appropriées.

C. Manipulation des échantillons

Remarque : préparer les échantillons conformément aux instructions de traitement des échantillons de la section Prélèvement et conservation des échantillons avant de les charger sur le système Panther Fusion.

1. Ne pas mélanger les échantillons au vortex.

2. Inspecter les tubes d'échantillon avant de les charger sur le portoir. Si un tube d'échantillon contient des bulles ou si son volume est inférieur à celui généralement observé, tapoter délicatement le fond du tube pour amener le contenu vers le fond.

Remarque : pour éviter une erreur de traitement, vérifier qu'un volume d'échantillon adéquat est ajouté au tube de lyse d'échantillon Panther Fusion. Lorsque 500 µL d'échantillon NP prélevé par écouvillonnage sont ajoutés au tube de lyse d'échantillon Panther Fusion, le volume est suffisant pour effectuer 3 extractions d'acide nucléique.

D. Préparation du système

Pour obtenir des instructions sur la configuration du système Panther Fusion, notamment le chargement des échantillons, réactifs, cartouches de test et liquides universels, consulter le Manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System.

Remarques concernant la procédure

A. Contrôles

1. Le contrôle positif et le contrôle négatif Panther Fusion Paraflu peuvent être chargés dans n'importe quelle position du portoir, sur n'importe quelle ligne du compartiment des échantillons du système Panther Fusion.
2. Lorsque les tubes de contrôle sont pipetés et traités pour le test Panther Fusion Paraflu, ils sont actifs jusqu'à 30 jours (fréquence de contrôle configurée par un administrateur) à moins que les résultats du contrôle ne soient pas valides ou qu'un nouveau lot de cartouche de test soit chargé.
3. Chaque tube de contrôle est prévu pour un seul test.
4. Le pipetage des échantillons du patient commence lorsque l'une des deux conditions suivantes est satisfaite :
 - a. Des résultats valides pour les contrôles sont enregistrés dans le système.
 - b. Une paire de contrôles est en cours de traitement par le système.

Contrôle de la qualité

Un résultat de série ou d'échantillon peut être invalidé par le système Panther Fusion si des problèmes surviennent lors de l'exécution du test. Les échantillons ayant des résultats de test non valides doivent être retestés.

Contrôles négatifs et positifs

Pour obtenir des résultats valides, un jeu de contrôles de test doit être analysé. Un réplicat du contrôle négatif et un réplicat du contrôle positif doivent être testés chaque fois qu'un nouveau lot de cartouches de test est chargé sur le système Panther Fusion ou lorsque le jeu de contrôles valides en cours d'utilisation pour un lot de cartouche active a expiré.

Le système Panther Fusion est configuré pour nécessiter l'amplification des contrôles de test à un intervalle spécifié par l'administrateur de 30 jours maximum. Le logiciel du système Panther Fusion avertit l'opérateur lorsque des contrôles de test sont nécessaires et ne démarre pas de nouveaux tests jusqu'à ce que les contrôles de test aient été chargés et aient commencé à être traités.

Le système Panther Fusion vérifie automatiquement les critères d'acceptation des contrôles de test lors du traitement. Pour obtenir des résultats valides, les contrôles de test doivent réussir une série de vérifications de leur validité effectuée par le système Panther Fusion.

Si les contrôles de test remplissent toutes les vérifications de validité, ils sont considérés comme valides pour la durée spécifiée par l'administrateur. Lorsque la durée est écoulée, le système Panther Fusion considère les contrôles de test comme expirés et requiert le test d'un nouveau jeu de contrôles de test avant de démarrer tout nouvel échantillon.

Si l'un des contrôles de test échoue aux vérifications de validité, le système Panther Fusion invalide automatiquement les échantillons affectés et requiert le test d'un nouveau jeu de contrôles de test avant de démarrer tout nouvel échantillon.

Contrôle interne

Un contrôle interne est ajouté à chaque échantillon au cours du processus d'extraction. Le logiciel du système Panther Fusion vérifie automatiquement les critères d'acceptation du contrôle interne lors du traitement. La détection du contrôle interne n'est pas nécessaire pour les échantillons qui sont positifs pour HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3, et/ou HPIV-4. Le contrôle interne doit être détecté dans tous les échantillons qui sont négatifs pour les cibles HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 et HPIV-4 ; les échantillons qui ne respectent pas ce critère seront signalés comme étant non valides. Chaque échantillon dont le résultat est non valide doit être analysé à nouveau.

Le système Panther Fusion est conçu pour vérifier avec précision les processus lorsque les procédures sont effectuées conformément aux instructions fournies dans cette notice et dans le *Manuel de l'opérateur du Panther/Panther Fusion System*.

Interprétation des résultats

Le système Panther Fusion détermine automatiquement les résultats de test des échantillons et des contrôles. Les résultats pour la détection de HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 et HPIV-4 sont présentés séparément. Un résultat de test peut être négatif, positif ou non valide.

Le Tableau 1 présente les résultats rapportés dans une série valide avec l'interprétation des résultats.

Tableau 1 : Interprétation des résultats

Résultat HPIV-1	Résultat HPIV-2	Résultat HPIV-3	Résultat HPIV-4	Résultat de l'IC	Interprétation
Nég.	Nég.	Nég.	Nég.	Valide	HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3, et HPIV-4 non détectés.
POS	Nég.	Nég.	Nég.	Valide	HPIV-1 détecté HPIV-2, HPIV-3, et HPIV-4 non détectés.
Nég.	POS	Nég.	Nég.	Valide	HPIV-2 détecté HPIV-1, HPIV-3, et HPIV-4 non détectés.
Nég.	Nég.	POS	Nég.	Valide	HPIV-3 détecté HPIV-1, HPIV-2, et HPIV-4 non détectés.
Nég.	Nég.	Nég.	POS	Valide	HPIV-4 détecté HPIV-1, HPIV-2, et HPIV-3 non détectés.
POS	POS	Nég.	Nég.	Valide	HPIV-1 et HPIV-2 détectés. HPIV-3 et HPIV-4 non détectés.
POS	Nég.	POS	Nég.	Valide	HPIV-1 et HPIV-3 détectés. HPIV-2 et HPIV-4 non détectés.
POS	Nég.	Nég.	POS	Valide	HPIV-1 et HPIV-4 détectés. HPIV-2 et HPIV-3 non détectés.
Nég.	POS	POS	Nég.	Valide	HPIV-2 et HPIV-3 détectés. HPIV-1 et HPIV-4 non détectés.
Nég.	POS	Nég.	POS	Valide	HPIV-2 et HPIV-4 détectés. HPIV-1 et HPIV-3 non détectés.
Nég.	Nég.	POS	POS	Valide	HPIV-3 et HPIV-4 détectés. HPIV-1 et HPIV-2 non détectés.
POS	POS	POS	Nég.	Valide	HPIV-1, HPIV-2, et HPIV-3 détectés. HPIV-4 non détecté Les infections triples sont rares. Refaire le test pour confirmer le résultat.
POS	POS	Nég.	POS	Valide	HPIV-1, HPIV-2, et HPIV-4 détectés. HPIV-3 non détecté Les infections triples sont rares. Refaire le test pour confirmer le résultat.
POS	Nég.	POS	POS	Valide	HPIV-1, HPIV-3, et HPIV-4 détectés. HPIV-2 non détecté Les infections triples sont rares. Refaire le test pour confirmer le résultat.

Tableau 1 : Interprétation des résultats (suite)

Résultat HPIV-1	Résultat HPIV-2	Résultat HPIV-3	Résultat HPIV-4	Résultat de l'IC	Interprétation
Nég.	POS	POS	POS	Valide	HPIV-2, HPIV-3, et HPIV-4 détectés. HPIV-1 non détecté Les infections triples sont rares. Refaire le test pour confirmer le résultat.
POS	POS	POS	POS	Valide	HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3, et HPIV-4 détectés. Les quadruples infections sont rares. Refaire le test pour confirmer le résultat.
Non valide	Non valide. Une erreur est survenue lors de la génération du résultat ; retester l'échantillon.				

Remarque : un résultat POS est accompagné des valeurs seuil de cycle (Ct).

Limites

- A. L'utilisation de ce test est limitée au personnel ayant été formé à la procédure. Le non-respect de ces instructions peut compromettre les résultats.
- B. L'obtention de résultats fiables repose sur le prélèvement, le transport, la conservation et le traitement appropriés des échantillons.
- C. Éviter la contamination en respectant les bonnes pratiques de laboratoire et les procédures décrites dans cette notice.
- D. Un résultat négatif n'exclut pas une infection au virus HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3, ou HPIV-4 et ne doit pas être utilisé comme seule base pour le traitement ou les autres décisions de prise en charge.
- E. Un résultat positif indique la détection de l'acide nucléique du virus en cause. L'acide nucléique peut persister même si le virus n'est plus viable.

Performances du test avec le système Panther Fusion

Performance clinique : étude rétrospective

Un total de 877 échantillons NP sur écouvillon prélevés rétrospectivement chez des patients aux États-Unis ont été utilisés pour l'évaluation avec le test Panther Fusion Paraflu assay. Les résultats sont présentés dans les Tableau 2, Tableau 3, Tableau 4 et Tableau 5.

Pour les échantillons recueillis par écouvillonnage NP, 500 µl ont été dilués dans un tube de lyse d'échantillon du système Panther Fusion contenant 780 µL de milieu de transport d'échantillon (STM) et un unique réplicat a été testé avec le test Panther Fusion™ Paraflu. Le résultat de chaque échantillon a été comparé à un test de référence à l'aide d'un test d'acide nucléique (NAT) commercial. La sensibilité et la spécificité de détection des acides nucléiques des HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 et HPIV-4 ont été déterminées par comparaison avec les résultats de tests NAT de référence.

Tableau 2 : Résultat HPIV-1

Type d'échantillon	N	HPIV-1+		HPIV-1-		Sensibilité IC à 95 %	Spécificité IC à 95 %	Concordance globale IC à 95 %
		Fusion HPIV-1 +	Fusion HPIV-1 -	Fusion HPIV-1 +	Fusion HPIV-1 -			
Écouvillon nasopharyngé	877	20	0	0	857	100,0 % 83,9-100,0 %	100,0 % 99,6-100,0 %	100,0 % 99,6-100,0 %

Tableau 3 : Résultat HPIV-2

Type d'échantillon	N	HPIV-2+		HPIV-2-		Sensibilité IC à 95 %	Spécificité IC à 95 %	Concordance globale IC à 95 %
		Fusion HPIV-2 +	Fusion HPIV-2 -	Fusion HPIV-2 +	Fusion HPIV-2 -			
Écouvillon nasopharyngé	877	43	0	0	834	100,0 % 91,8-100,0 %	100,0 % 99,5-100,0 %	100,0 % 99,6-100,0 %

Tableau 4 : Résultat HPIV-3

Type d'échantillon	N	HPIV-3+		HPIV-3-		Sensibilité IC à 95 %	Spécificité IC à 95 %	Concordance globale IC à 95 %
		Fusion HPIV-3 +	Fusion HPIV-3 -	Fusion HPIV-3 +	Fusion HPIV-3 -			
Écouvillon nasopharyngé	877	45	0	3*	829	100,0 % 92,1-100,0 %	99,6 % 98,9-99,9 %	99,7 % 99,0-99,9 %

*Deux des 3 échantillons discordants ont été testés avec un test de RT-PCR développé en interne et validé.

Le HPIV-3 a été détecté dans l'un des échantillons. Le volume des échantillons discordants non testés était insuffisant.

Tableau 5 : Résultat HPIV-4

Type d'échantillon	N	HPIV-4+		HPIV-4-		Sensibilité IC à 95 %	Spécificité IC à 95 %	Concordance globale IC à 95 %
		Fusion HPIV-4 +	Fusion HPIV-4 -	Fusion HPIV-4 +	Fusion HPIV-4 -			
		Écouvillon nasopharyngé	877	52	1*			

*Le volume des échantillons discordants non testés était insuffisant.

Performance clinique : étude prospective

Cette étude a été réalisée pour démontrer les caractéristiques des performances cliniques du test Panther Fusion Paraflu. Une étude multicentrique prospective a été menée avec des restes d'échantillons nasopharyngés (NP) prélevés par écouvillonnage chez des individus masculins et féminins de tous âges présentant des signes ou des symptômes d'infection des voies respiratoires. Quatre hôpitaux pour enfants ou adolescents, privés ou universitaires américains participants ont reçu 2961 échantillons NP prélevés par écouvillonnage. Les échantillons ont été testés avec le test Panther Fusion Paraflu assay ; la culture virale de référence a été suivie d'une identification directe des anticorps fluorescents (DFA) (pour les HPIV-1, HPIV-2 et HPIV-3), et de 2 tests PCR de transcriptase inverse suivis d'un séquençage bidirectionnel (PCR/séquençage, pour le HPIV-4). Un test PCR validé a été utilisé pour le test de résolution des discordances pour les HPIV-1, HPIV-2 et HPIV-3 ; aucun test de résolution des discordances n'a été effectué pour le HPIV-4.

Les caractéristiques de performance ont été estimées par rapport à la validité des résultats de culture/DFA ou PCR/séquençage de chaque échantillon. La sensibilité et la spécificité (pour les HPIV-1, HPIV-2 et HPIV-3) et les pourcentages de concordance négative et positive (pour le HPIV-4) ont été estimés avec les IC de score à 95 % bilatéraux correspondants. Les analyses ont été effectuées séparément pour chaque analyte cible (HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 et HPIV-4).

Sur les 2 961 échantillons, 31 spécimens ou échantillons ont été retirés (en raison de résultats de test de référence incomplets, de volumes insuffisants pour l'analyse, d'une péremption avant l'analyse ou d'une mauvaise manipulation) et 2 930 échantillons ont été traités par des analyses Panther Fusion Paraflu valides, 2 877 (98,2 %) présentaient des résultats finaux valides (dont 7 échantillons avec des résultats de référence non valides) et 53 (1,8 %) présentaient des résultats finaux non valides. Sur les 2 877 échantillons avec des résultats Panther Fusion valides, 1 359 échantillons provenaient de femmes et 1 518 d'hommes (voir le Tableau 6). Parmi les échantillons avec des résultats Panther Fusion Paraflu valides, 7 échantillons avec des résultats de culture/DFA non valides et 7 échantillons avec des résultats PCR/séquençage non valides ont été exclus des analyses de performance. Il reste 2 870 échantillons évaluables pour les analyses de chaque analyte.

Tableau 6 : Résumé des caractéristiques démographiques des sujets pour les échantillons prospectifs dans l'évaluation du test Panther Fusion Paraflu assay

		N (%)
Total		2 877 (100)
Sexe	Femme	1 359 (47,2)
	Homme	1 518 (52,8)
Tranche d'âge	0 à 28 jours	82 (2,9)
	29 jours à < 2 ans	758 (26,3)
	De 2 à 5 ans	407 (14,1)
	De 6 à 11 ans	259 (9,0)
	De 12 à 17 ans	184 (6,4)
	De 18 à 21 ans	73 (2,5)
	De 22 à 64 ans	694 (24,1)
	≥ 65 ans	420 (14,6)

Sur les 2 870 échantillons évaluables analysés avec le test Panther Fusion Paraflu assay, 1,5 % (43/2 870) étaient positifs au HPIV-1, 1,3 % (37/2 870) étaient positifs au HPIV-2, 2,8 % (80/2 870) étaient positifs au HPIV-3 et 1,2 % (34/2 870) étaient positifs au HPIV-4. Le Tableau 7 affiche la positivité à chaque analyte par tranche d'âge.

Tableau 7 : Positivité par analyte et tranche d'âge du test Panther Fusion Paraflu assay

Analyte	% positifs (n/N)			
	HPIV-1	HPIV-2	HPIV-3	HPIV-4
Tous	1,5 % (43/2 870)	1,3 % (37/2 870)	2,8 % (80/2 870)	1,2 % (34/2 870)
0 à 28 jours	0,0 % (0/82)	0,0 % (0/82)	1,2 % (1/82)	0,0 % (0/82)
29 jours à < 2 ans	2,1 % (16/758)	2,4 % (18/758)	4,4 % (33/758)	1,7 % (13/758)
De 2 à 5 ans	2,5 % (10/407)	2,2 % (9/407)	3,4 % (14/407)	2,2 % (9/406)
De 6 à 11 ans	1,6 % (4/258)	0,8 % (2/258)	0,4 % (1/258)	2,3 % (6/256)
De 12 à 17 ans	1,7 % (3/181)	3,3 % (6/181)	1,1 % (2/181)	0,5 % (1/184)
De 18 à 21 ans	0,0 % (0/73)	0,0 % (0/73)	2,7 % (2/73)	0,0 % (0/73)
De 22 à 64 ans	0,7 % (5/692)	0,0 % (0/692)	2,2 % (15/692)	0,4 % (3/692)
≥ 65 ans	1,2 % (5/419)	0,5 % (2/419)	2,9 % (12/419)	0,5 % (2/419)

Les caractéristiques des performances pour la détection des HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 et HPIV-4 dans des échantillons NP prospectifs ont été calculées (voir le Tableau 8).

Tableau 8 : Performances du test Paraflu Panther Fusion assay par rapport aux tests de référence

Analyte	N	VP	FP	VN	FN	Prévalence ¹ (IC de 95 %) ²	Sensibilité/ PCP ³ (IC de 95 %) ²	Spécificité/PCN ³ (IC de 95 %) ²
HPIV-1	2 870	33	10 ⁴	2 826	1 ⁴	1,2 (0,8-1,7)	97,1 (85,1-99,5)	99,6 (99,4-99,8)
HPIV-2	2 870	22	15 ⁵	2 831	2 ⁵	0,8 (0,6-1,2)	91,7 (74,2-97,7)	99,5 (99,1-99,7)
HPIV-3	2 870	52	28 ⁶	2 788	2 ⁶	1,9 (1,4-2,4)	96,3 (87,5-99,0)	99,0 (98,6-99,3)
HPIV-4	2 870	29	5 ⁷	2835	1 ⁷	1,0 (0,7-1,5)	96,7 (83,3-99,4)	99,8 (99,6 -> 99,9)

FN = faux négatif, FP = faux positif, PCN = pourcentage de concordance négative, PCP= pourcentage de concordance positive, VP = vrai positif, VN = vrai négatif.

¹Prévalence de l'étude signalée.

²Intervalle de confiance du score.

³les PCP et PCN s'appliquent au HPIV-4.

⁴8/10 résultats faussement positifs ont été confirmés positifs et 1/1 résultat faussement négatif a été confirmé négatif pour le HPV-1 par test PCR.

⁵4/15 résultats faussement positifs ont été confirmés positifs et 2/2 résultats faussement négatifs ont été confirmés négatifs pour le HPV-2 par test PCR.

⁶26/28 résultats faussement positifs ont été confirmés positifs et 2/2 résultats faussement négatifs ont été confirmés négatifs pour le HPV-4 par test PCR.

⁷aucun test de résolution des discordances n'a été effectué pour les 5 résultats faussement positifs et le résultat faussement négatif du HPIV-4.

Sensibilité analytique

La sensibilité analytique (seuil de détection ou LoD) du test Panther Fusion Paraflu pour les échantillons NP prélevés par écouvillonnage a été déterminée en testant des échantillons cliniques groupés négatifs au Paraflu, inoculés avec les cultures virales suivantes à différentes concentrations : HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 et HPIV-4. Au moins douze réplicats ont été testés avec chacun des trois lots de réactifs pour un total de 36 réplicats. Les concentrations au LoD de la cible spécifique ont été vérifiées en testant 20 réplicats supplémentaires avec un lot de réactifs. La sensibilité analytique (LoD) est définie comme la concentration la plus faible à laquelle ³95 % des réplicats sont testés positifs, comme résumé dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Sensibilité des écouvillons NP

Souche virale	Concentration au LoD
HPIV-1	1 x 10 ⁻² TCID ₅₀ /mL
HPIV-2	1 x 10 ² TCID ₅₀ /mL
HPIV-3	1 x 10 ¹ TCID ₅₀ /mL
HPIV-4	1 x 10 ^{0,5} TCID ₅₀ /mL

Spécificité analytique

La spécificité analytique du test Panther Fusio Paraflu a été évaluée en testant un panel de 58 organismes, composé de 31 souches virales, 26 souches bactériennes et 1 souche de levure, représentant les pathogènes respiratoires courants ou la flore généralement présente dans les voies respiratoires nasopharyngées. Les bactéries et les levures ont été testées à des concentrations comprises entre 10⁵ et 10⁸ UFC/mL ou UFI/mL, sauf indication spécifique. Les

virus ont été testés à des concentrations comprises entre 10^3 et 10^7 TCID₅₀/mL. HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3, et HPIV-4 ont été testés à 1×10^2 TCID₅₀/mL.

La spécificité analytique du test Panther Fusion Paraflu était de 100 % pour HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 et HPIV-4 comme indiqués dans le Tableau 10.

Tableau 10 : Résultats de spécificité

Organisme	Concentration	HPIV-1	HPIV-2	HPIV-3	HPIV-4
Adénovirus 1	1×10^5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Adénovirus 7a	1×10^5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1×10^7 UFC/mL	-	-	-	-
<i>Bordetella pertussis</i>	1×10^8 UFC/mL	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	1×10^7 UFC/mL	-	-	-	-
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1×10^5 UFC/mL	-	-	-	-
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> (antérieurement <i>Chlamydia pneumoniae</i>)	1×10^5 UFI/mL	-	-	-	-
CMV Souche AD 169	1×10^4 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Coronavirus 229E	1×10^4 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>Corynebacterium diphtheria</i>	1×10^7 UFC/mL	-	-	-	-
Coxsackie B4	1×10^6 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Coxsackie B5/10/2006	1×10^5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	1×10^7 UFC/mL	-	-	-	-
EBV	1×10^7 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Échovirus 2	1×10^4 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Échovirus 3	1×10^5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Échovirus 6	1×10^4 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Échovirus 11	1×10^5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Entérovirus 68	1×10^5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Entérovirus 70	1×10^4 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>Haemophilus Influenzae</i>	1×10^7 UFC/mL	-	-	-	-
HPIV-1, C35	1×10^2 TCID ₅₀ /mL	+	-	-	-
HPIV-2, Greer	1×10^2 TCID ₅₀ /mL	-	+	-	-
HPIV-3, C243	1×10^2 TCID ₅₀ /mL	-	-	+	-
HPIV-4a, M25	1×10^2 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	+
HPIV-4b, CH19503	1×10^2 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	+
hMPV Sous-type A2	1×10^6 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
HSV-1 souche Macinytre	1×10^5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
HSV-2 souche Type 2G	1×10^5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-

Tableau 10 : Résultats de spécificité (suite)

Organisme	Concentration	HPIV-1	HPIV-2	HPIV-3	HPIV-4
Influenza A (H1N1)	1 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Influenza A (H3N2)	1 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Influenza B	1 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumonia</i>	1 x 10 ⁷ UFC/mL	-	-	-	-
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1 x 10 ⁷ UFC/mL	-	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	1 x 10 ⁷ UFC/mL	-	-	-	-
Virus de la Rougeole/7/2000	1 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1 x 10 ⁶ UFC/mL	-	-	-	-
Virus ourlien	1 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1x10 ¹⁰ copies d'ARNr/mL	-	-	-	-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1x10 ¹⁰ copies d'ARNr/mL	-	-	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1 x 10 ⁶ UFC/mL	-	-	-	-
<i>Neisseria gonorrhoea</i>	1 x 10 ⁷ UFC/mL	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i>	1 x 10 ⁷ UFC/mL	-	-	-	-
<i>Neisseria mucosa</i>	1 x 10 ⁷ UFC/mL	-	-	-	-
Poliovirus	1 x 10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	1 x 10 ⁷ UFC/mL	-	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 ⁷ UFC/mL	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 ⁷ UFC/mL	-	-	-	-
Rhinovirus 1A	1 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
VRS A	1 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
VRS B	1 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁷ UFC/mL	-	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 ⁷ UFC/mL	-	-	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 x 10 ⁶ UFC/mL	-	-	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁷ UFC/mL	-	-	-	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	1 x 10 ⁶ UFC/mL	-	-	-	-
<i>Tatlockia micdadei</i> (précédemment <i>Legionella micdadei</i>)	1 x 10 ⁷ UFC/mL	-	-	-	-
Virus varicelle-zona	1 x 10 ³ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-

Interférence concurrentielle

L'interférence concurrentielle du test Panther Fusion Paraflu a été évaluée en utilisant une matrice clinique simulée avec des paires de virus cibles à deux concentrations différentes. Une des concentrations approchait le seuil de détection (3 à 5 x LoD) tandis que l'autre concentration était élevée (1 000 x LoD). La présence de deux virus à des concentrations variables dans un même échantillon n'a eu aucun effet sur la sensibilité analytique (détection de 100 % pour les deux cibles) à la concentration mentionnée comme indiqué dans le Tableau 11.

Tableau 11 : Interférence concurrentielle

Condition	Cible 1		Cible 2		Résultat HPIV-1	Résultat HPIV-2	Résultat HPIV-3	Résultat HPIV-4
	Description	Concentration	Description	Concentration				
1	HPIV-1	3 x LoD	HPIV-2	1 000 x LoD	+	+	-	-
2	HPIV-1	3 x LoD	HPIV-3	1 000 x LoD	+	-	+	-
3*	HPIV-1	5 x LoD	HPIV-4	1 000 x LoD	+	-	-	+
4	HPIV-2	3 x LoD	HPIV-1	1 000 x LoD	+	+	-	-
5	HPIV-2	3 x LoD	HPIV-3	1 000 x LoD	-	+	+	-
6	HPIV-2	3 x LoD	HPIV-4	1 000 x LoD	-	+	-	+
7	HPIV-3	3 x LoD	HPIV-1	1 000 x LoD	+	-	+	-
8	HPIV-3	3 x LoD	HPIV-2	1 000 x LoD	-	+	+	-
9	HPIV-3	3 x LoD	HPIV-4	1 000 x LoD	-	-	+	+
10	HPIV-4	3 x LoD	HPIV-1	1 000 x LoD	+	-	-	+
11	HPIV-4	3 x LoD	HPIV-2	1 000 x LoD	-	+	-	+
12	HPIV-4	3 x LoD	HPIV-3	1 000 x LoD	-	-	+	+

*Lorsque cette combinaison a été testée avec HPIV-1 à 3 x LoD, le taux de détection du HPIV-1 a été de 50,0 %.

Interférence

La mucine, le sang total et d'autres substances potentiellement interférentes (médicaments sur prescription et médicaments ou produits en vente libre) potentiellement présents dans les échantillons ont été évalués dans le test Panther Fusion Paraflu assay. Une quantité cliniquement importante des substances potentiellement interférentes a été ajoutée à la matrice clinique simulée et testée non-enrichie ou enrichie avec les virus HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 et HPIV-4 cultivés, à leurs concentrations respectives de 3 x LoD. Les substances provenaient de sprays nasaux (poudre et liquide), de comprimés ingérables, de pastilles, de substances injectables et endogènes, comme indiqué dans le Tableau 12.

Toutes les substances testées ont révélé n'avoir aucune incidence sur la performance du test Panther Fusion Paraflu assay.

Tableau 12 : Substances potentiellement interférentes

Type	Nom de la substance	Principes actifs	Concentration
Endogène	Mucine	Protéine mucine purifiée	60 µg/mL
	Sang humain	Sang	2 % v/v
Sprays nasaux ou gouttes nasales	Neo-Synéphrine®	Phényléphrine	15 % v/v
	Anefrin	Oxymétazoline	15 % v/v
	Solution saline	Chlorure de sodium	15 % v/v
	Ventolin® HFA	Albutérol	15 % v/v

Tableau 12 : Substances potentiellement interférentes (suite)

Type	Nom de la substance	Principes actifs	Concentration
Corticostéroïdes nasaux	QVAR®, Beconase AQ	Béclométasone	5 % v/v
	Dexacort	Dexaméthasone	5 % v/v
	AEROSPAN®	Flunisolide	5 % v/v
	Nasacort	Triamcinolone	5 % v/v
	Rhinocort	Budésonide	5 % v/v
	Nasonex	Mométasone	5 % v/v
	Flonase	Fluticasone	5 % v/v
Gel nasal	Zicam® (soulagement des allergies)	Luffa Operculata, Galphimia, Glauca, Histaminum hydrochloricum, soufre	5 % v/v
Pastilles pour la gorge	Pastilles pour la gorge Chloraseptic	Benzocaïne Menthol	0,63 mg/mL
Médicaments antiviraux	Relenza®	Zanamivir	3,3 mg/mL
	TamiFlu	Oséltamivir	25 mg/mL
	Rebetol	Ribavirine	20 mg/mL
Antibiotique, pommade nasale	Crème Bactroban	Mupirocine	10 mg/mL
Antibiotique, systémique	Tobramycine	Tobramycine	4,0 µg/mL

Contamination de transfert

L'étude sur les contaminations de transfert ou les contaminations croisées a été réalisée avec des échantillons négatifs placés en alternance entre les échantillons hautement positifs et testés. Les échantillons hautement positifs ont été préparés par inoculation (plus de 10 000 x LoD). Neuf amplifications séparées avec des échantillons négatifs et positifs placés en damier ont été testées sur trois appareils différents pour un total de 450 échantillons positifs et 450 échantillons négatifs. Le taux de contamination de transfert était de 0,0 %.

Précision du test

La précision du test Panther Fusion Paraflu a été évaluée avec un panel de 9 échantillons. Le panel a été testé par trois opérateurs sur deux amplifications séparées par jour, à l'aide de trois lots de réactifs sur trois systèmes Panther, sur une période de 45 jours.

Les échantillons du panel sont décrits dans le Tableau 13, avec un résumé de la concordance et des résultats attendus pour chaque cible. Le Tableau 14 présente l'analyse de la moyenne et de la variabilité entre les appareils, entre les lots de réactifs, entre les opérateurs, entre les jours, entre les séries et au sein des séries et globales (totales) pour la Ct.

Tableau 13 : Description du panel et % de concordance

Analyte	Echantillon du panel	% positifs	% de concordance (IC à 95 %)
HPIV-1	HPIV-1 3 x LoD	100,0 % (162/162)	100,0 % (97,7 - 100 %)
	HPIV-1 1 X LoD	100,0 % (160/160)	100,0 % (97,7 - 100 %)
	HPIV-1 0,01 X LoD	3,1 % (5/161)	96,9 % (92,9 - 98,7 %)
	Négatif	0,0 % (0/162)	100,0 % (97,7 - 100 %)
HPIV-2	HPIV-2 3 x LoD	100,0 % (162/162)	100,0 % (97,7 - 100 %)
	HPIV-2 1 X LoD	100,0 % (162/162)	100,0 % (97,7 - 100 %)
	HPIV-2 0,01 X LoD	27,8 % (45/162)	72,2 % (64,9 - 78,5 %)
	Négatif	0,0 % (0/162)	100,0 % (97,7 - 100 %)
HPIV-3	HPIV-3 3 x LoD	100,0 % (162/162)	100,0 % (97,7 - 100 %)
	HPIV-3 1 X LoD	97,5 % (158/162)	97,5 % (93,8 - 99,0 %)
	HPIV-3 0,01 X LoD	4,9 % (8/162)	95,1 % (90,6 - 97,5 %)
	Négatif	0,6 % (1/162)	99,4 % (96,6 - 99,9 %)
HPIV-4	HPIV-4 3 x LoD	100,0 % (161/161)	100,0 % (97,7 - 100 %)
	HPIV-4 1 X LoD	98,1 % (159/162)	98,1 % (94,7-99,4 %)
	HPIV-4 0,01 X LoD	4,3 % (7/162)	95,7 % (91,4 - 97,9 %)
	Négatif	0,0 % (0/162)	100,0 % (97,7 - 100 %)

Tableau 14 : Variabilité du signal

Cible	Échantillon du panel	Moyenne Ct	Entre les appareils		Entre les lots de réactifs		Entre les opérateurs		Entre les jours		Entre les séries		Au sein des séries		Total	
			ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)
HPIV-1	HPIV-1 3 x LoD	35,2	0,0	0,0	0,1	0,2	0,0	0,0	0,1	0,3	0,0	0,0	0,4	1,1	0,4	1,2
	HPIV-1 1 X LoD	37,0	0,0	0,0	0,1	0,4	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,6	1,7	0,6	1,8
	HPIV-1 0,01 X LoD	42,3	0,3	0,9	0,4	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	1,0	0,7	1,7
HPIV-2	HPIV-2 3 x LoD	32,8	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,3	0,3	0,9	0,3	1,0
	HPIV-2 1 X LoD	34,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	1,5	0,5	1,5
	HPIV-2 0,01 X LoD	40,7	0,1	0,3	0,0	0,1	0,0	0,0	0,3	0,8	0,0	0,0	1,1	2,8	1,2	3,0
HPIV-3	HPIV-3 3 x LoD	35,5	0,5	1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,7	0,0	0,0	1,5	4,4	1,6	4,7
	HPIV-3 1 X LoD	37,5	0,2	0,6	0,4	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	1,0	2,0	5,4	2,1	5,7
	HPIV-3 0,01 X LoD	40,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,3	8,3	0,7	1,7	3,4	8,5
HPIV-4	HPIV-4 3 x LoD	36,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,9	0,0	0,0	0,5	1,4	1,5	4,3	1,6	4,6
	HPIV-4 1 X LoD	38,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	1,9	5,0	1,9	5,1
	HPIV-4 0,01 X LoD	42,5	0,0	0,0	1,1	2,6	0,8	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	1,8	1,6	3,7
IC	Négatif	32,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,2	0,0	0,0	0,1	0,5	0,4	1,2	0,4	1,4

Reproductibilité

La reproductibilité du test Panther Fusion Paraflu a été évaluée auprès de trois sites américains à l'aide d'un panel de neuf échantillons. Les tests ont été effectués en utilisant un lot de réactifs de test et avec six opérateurs (deux sur chaque site). Sur chaque site, les tests ont été effectués pendant au moins cinq jours. Chaque série comportait trois réplicats de chaque échantillon du panel.

Un échantillon du panel négatif a été créé à l'aide d'une matrice d'échantillon d'écouvillon nasal simulé dans un milieu de transport viral (VTM). Les échantillons positifs du panel ont été créés en inoculant des concentrations de 1 à 2 x LoD (faiblement positives) ou 2 à 3 x LoD (modérément positives) de l'analyte cible dans une matrice d'échantillon d'écouvillon nasal simulé, composé de cellules humaines cultivées en suspension dans un milieu de transport viral.

La concordance avec les résultats attendus était de 100 % pour les échantillons du panel négatifs et modérément positifs et $\geq 96,6$ % pour les échantillons du panel faiblement positifs pour les HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 et HPIV-4, comme indiqué dans le Tableau 15.

Tableau 15 : Concordance des résultats du test Panther Fusion Paraflu Assay avec les résultats attendus

Panels			Résultats attendus HPIV-				Concordance avec les résultats attendus							
							HPIV-1		HPIV-2		HPIV-3		HPIV-4	
Desc.	Comp.	Conc. (TCID ₅₀ /mL)	1	2	3	4	N1	(%) IC à 95 %	N1	(%) IC à 95 %	N1	(%) IC à 95 %	N1	(%) IC à 95 %
HPIV-1 Faible Pos	1 à 2 x LoD	1,00E-02	+	-	-	-	88/88	100 (95,8-100)	88/88	100 (95,8-100)	88/88	100 (95,8-100)	88/88	100 (95,8-100)
HPIV-1 Mod. pos.	2 à 3 X LoD	3,00E-02	+	-	-	-	89/89	100 (95,9-100)	89/89	100 (95,9-100)	89/89	100 (95,9-100)	89/89	100 (95,9-100)
HPIV-2 Faible Pos	1 à 2 x LoD	1,00E+02	-	+	-	-	87/87	100 (95,8-100)	87/87	100 (95,8-100)	87/87	100 (95,8-100)	87/87	100 (95,8-100)
HPIV-2 Mod. pos.	2 à 3 X LoD	3,00E-02	-	+	-	-	89/89	100 (95,9-100)	89/89	100 (95,9-100)	89/89	100 (95,9-100)	89/89	100 (95,9-100)
HPIV-3 Faible Pos	1 à 2 x LoD	1,00E+01	-	-	+	-	87/87	100 (95,8-100)	87/87	100 (95,8-100)	86/87	98,9 (93,8-99,8)	87/87	100 (95,8-100)
HPIV-3 Mod. pos.	2 à 3 X LoD	3,00E+01	-	-	+	-	89/89	100 (95,9-100)	89/89	100 (95,9-100)	89/89	100 (95,9-100)	89/89	100 (95,9-100)
HPIV-4 Faible Pos	1 à 2 x LoD	3,16E+00	-	-	-	+	87/87	100 (95,8-100)	87/87	100 (95,8-100)	87/87	100 (95,8-100)	84/87	96,6 (90,3-98,8)
HPIV-4 Mod. pos.	2 à 3 X LoD	9,49E+00	-	-	-	+	88/88	100 (95,8-100)	88/88	100 (95,8-100)	88/88	100 (95,8-100)	88/88	100 (95,8-100)
Nég.	SO	SO	-	-	-	-	87/87	100 (95,8-100)	87/87	100 (95,8-100)	87/87	100 (95,8-100)	87/87	100 (95,8-100)

Desc. = description, Comp. = composition, Conc. = concentration, IC = Intervalle de confiance du score, Mod = modéré, N/A = non applicable, Nég = négatif, Pos = positif, TCID₅₀/mL=50 % dose infectieuse de la culture tissulaire (mesure du titre viral).

¹ Un total de 19 échantillons ont présenté des résultats finaux non valides et n'ont pas été inclus dans le calcul de la concordance globale.

La variabilité totale du signal des HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 et HPIV-4 mesurée en % CV allait de 1,11 % à 5,88 % pour les échantillons du panel aux résultats faiblement et modérément positifs. Concernant les sources de variation, excepté pour le facteur « intra-séries », les valeurs de % CV étaient ≤ 1,40 %, comme indiqué dans le Tableau 16.

Tableau 16 : Variabilité du signal du test Panther Fusion Paraflu Assay par échantillon du panel

Panel Description	N	Ct Moyenne	Entre les sites		Entre les opérateurs		Entre les jours		Entre les séries		Au sein des séries		Total	
			ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)
HPIV-1 faiblement pos.	88	37,2	0,0	0,0	< 0,1	0,26	< 0,1	0,21	< 0,1	< 0,1	0,79	2,13	0,80	2,16
HPIV-1 mod. pos.	89	35,3	0,18	0,52	0,0	0,0	0,11	0,31	< 0,1	< 0,1	0,54	1,54	0,59	1,66
HPIV-2 faiblement pos.	87	34,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,13	0,38	< 0,1	< 0,1	0,49	1,43	0,51	1,48
HPIV-2 mod. pos.	89	32,7	< 0,1	0,16	< 0,1	0,24	0,0	0,0	0,0	0,0	0,35	1,07	0,36	1,11
HPIV-3 faiblement pos.	86	37,8	0,14	0,37	0,31	0,81	0,0	0,0	0,0	0,0	1,81	4,78	1,84	4,87
HPIV-3 mod. pos.	89	35,5	0,0	0,0	0,49	1,40	0,0	0,0	0,0	0,0	1,83	5,17	1,90	5,36
HPIV-4 faiblement pos.	84	38,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,52	1,35	< 0,1	< 0,1	2,20	5,72	2,26	5,88
HPIV-4 mod. pos.	88	36,0	0,0	0,0	0,39	1,08	0,0	0,0	0,0	0,0	1,60	4,44	1,65	4,57

Ct = seuil de cycle, CV = coefficient de variation, Mod = modérément, Pos = positif, ET = écart-type.

Remarque : dans certains cas, la variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, l'ET et le CV sont alors indiqués comme 0,0.

La variabilité du signal mesurée en % CV était $\leq 3,01$ % entre les sites, entre les opérateurs, entre les jours ou globalement pour les contrôles positifs du test Panther Fusion Paraflu (voir le Tableau 17).

Tableau 17 : Variabilité du signal des contrôles du Panther Fusion Paraflu Assay

Contrôle	Analyte	N	Ct Moyenne	Entre les sites		Entre les opérateurs		Entre les jours		Entre les séries		Au sein des séries		Total	
				ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)	ET	CV (%)
Pos.	HPIV-1	30	34,0	0,0	0,0	< 0,1	< 0,1	0,21	0,62	0,0	0,0	0,43	1,28	0,48	1,42
	HPIV-2	30	32,2	0,0	0,0	0,0	0,0	< 0,1	0,26	0,0	0,0	0,28	0,88	0,30	0,92
	HPIV-3	30	32,8	0,21	0,64	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,34	1,05	0,40	1,23
	HPIV-4	30	36,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,81	2,24	0,0	0,0	0,73	2,01	1,09	3,01

Ct = seuil de cycle, CV = coefficient de variation, Pos = positif, ET = écart-type.

Remarque : dans certains cas, la variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, l'ET et le CV sont alors indiqués comme 0,0.

Bibliographie

1. Centers for Disease Control and Prevention. Human Parainfluenza Viruses (HPIVs). <http://www.cdc.gov/parainfluenza/index.html>. Consulté en novembre 2015.
2. Bousse, T. et Takimoto, T. 2006. Mutation at Residue 523 creates a second receptor binding site on Human Parainfluenza Virus Type 1 Hemagglutinin-Neuraminidase Protein. *J Vir.* 80(18): 9009-9016.
3. Osiowy, C. 1998. Direct Detection of Respiratory Syncytial Virus, Parainfluenza Virus and Adenovirus in Clinical Respiratory Specimens by a Multiplex Reverse Transcription-PCR Assay. *J Clin Micro.* 36(11): 3149-3154.
4. Centers for Disease Control and Prevention. National Respiratory and Enteric Virus Surveillance.
5. System. <http://www.cdc.gov/surveillance/nrevss/>. Consulté le 6 février 2013.
6. Lau SK, To WK, Tse PW, Chan AK, Woo PC, Tsoi HW, Leung AF, Li KS, Chan PK, Lim WW, Yung RW, Chan KH, Yuen KY. 2005. Human parainfluenza virus 4 outbreak and the role of diagnostic tests. *J Clin Micro.* 43(9):4515-21.
7. Henrickson, KJ. 2003. Parainfluenza Viruses. *Clin Microbiol Rev.* 16:242 – 264.
8. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 6e édition ; site Internet. <https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>. Novembre 2020.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Document M29. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Site Web CLSI <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/> (4 avril 2022).

Coordonnées et historique des révisions



Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 États-Unis



Adresse du représentant australien :

Hologic (Australie et Nouvelle-Zélande) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Hologic BV
Da Vinciiaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Pour obtenir l'adresse e-mail et le numéro de téléphone de l'assistance technique et du service client spécifiques à chaque pays, consulter le site www.hologic.com/support.

Ce produit est réservé aux diagnostics in vitro humains.

Les incidents graves survenant avec le dispositif dans l'Union européenne doivent être signalés au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur ou le patient est établi.

Hologic et Panther Fusion sont des marques commerciales ou déposées d'Hologic, Inc. ou de ses filiales aux États-Unis ou dans d'autres pays.

Toutes les autres marques commerciales citées dans cette notice sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.

Ce produit peut faire l'objet d'un ou plusieurs brevets américains décrits à l'adresse www.hologic.com/patents.

©2017-2022 Hologic, Inc. Tous droits réservés.

AW-23708-901 Rév. 001
2022-08

Historique des révisions	Date	Description
AW-23708 Rév. 001	Août 2022	<ul style="list-style-type: none"> Création du mode d'emploi pour le test Panther Fusion Paraflu assay AW-23708 Rév. 001 conformément à la version AW-16163 Rév. 003 pour la conformité réglementaire avec l'IVDR. Mise à jour des informations sur les dangers pour l'UE. Mise à jour des sections sur la performance clinique : informations sur les études rétrospectives, prospectives et sur la reproductibilité, matériel requis et disponible séparément, et mise à jour de la section Bibliographie. Ajout d'informations concernant la stabilité de l'échantillon. Mise à jour des coordonnées, notamment : informations sur le représentant CE, le marquage CE, le représentant australien et l'assistance technique. Diverses mises à jour de style et de mise en forme.