

Test Paraflu (Sistem Panther Fusion™)

Instrucțiuni de utilizare
Pentru diagnosticare *in vitro*
Doar pentru export din S.U.A

Informații generale	2
Utilizare prevăzută	2
Rezumatul și explicarea testului	2
Principiile procedurii	2
Avertizări și precauții	3
Cerințe privind păstrarea și manipularea reactivilor	6
Prelevarea și păstrarea eșantioanelor	7
Transportul eșantioanelor	8
Sistemul Panther Fusion	9
Reactivi și materiale furnizate pentru testul Panther Fusion Paraflu	9
Materiale necesare, disponibile separat	10
Procedura de testare cu sistemul Panther Fusion	11
Note privind procedura	12
Controlul calității	13
Interpretarea rezultatelor	14
Limitări	15
Performanța testului în cadrul sistemului Panther Fusion	16
Performanțe clinice: Studiu retrospectiv	16
Performanțe clinice: Studiu prospectiv	17
Sensibilitate analitică	19
Specificitate analitică	19
Interferență concurențială	21
Interferență	22
Transfer (Carryover)/Contaminare	23
Precizia testului	23
Reproductibilitate	25
Bibliografie	28
Date de contact și istoricul versiunilor	29

Informații generale

Utilizare prevăzută

Testul Panther Fusion™ Paraflu este un test PCR (RT-PCR) multiplex în timp real de diagnosticare *in vitro* pentru detectare rapidă și calitativă și diferențiere a virusului Paragripei de tip 1, a virusului Paragripei de tip 2, a virusului Paragripei de tip 3 și a virusului Paragripei de tip 4 (HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 și HPIV-4). Acizii nucleici sunt izolați și purificați din probe prelevate pe tampon nazofaringian (NP), de la persoane cu semne și simptome de infecție a tractului respirator.

Acest test este destinat să ajute la diagnosticarea diferențială a infecțiilor cu HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 și HPIV-4 la om. Rezultatele negative nu exclud infecțiile cu HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 și HPIV-4 și nu trebuie utilizate ca bază unică pentru tratament sau alte decizii terapeutice. Acest test este destinat utilizării pe sistemul Panther Fusion.

Rezumatul și explicarea testului

Virusurile paragripei umane (HPIV) aparțin familiei *Paramyxoviridae*. Acestea sunt virusuri ARN cu sens negativ, monocatenare, învelite. Există patru tipuri (de la 1 la 4). Caracteristicile clinice și epidemiologice pentru fiecare tip de HPIV pot varia. În SUA, infecțiile asociate cu HPIV-1 sunt întâlnite mai frecvent în anii impari, iar cele asociate cu HPIV-2 și HPIV-3 sunt întâlnite anual. HPIV infectează frecvent sugarii și copiii mici, însă oricine poate contracta infecția cu HPIV. HPIV-1 și HPIV-2 cauzează ambele crup, HPIV-1 fiind cel mai adesea identificat ca fiind cauza la copii. Ambele pot provoca, de asemenea, boli ale căilor respiratorii superioare și inferioare și simptome asemănătoare răcelii. HPIV-3 este asociat mai des cu bronșiolită, bronșită și pneumonie. HPIV-4 nu este recunoscut la fel de frecvent, dar poate provoca boli ușoare până la severe ale tractului respirator. Perioada de incubație, adică timpul scurs de la expunerea la HPIV până la apariția simptomelor, este în general de 2 până la 7 zile.¹

Principiile procedurii

Testul Panther Fusion Paraflu implică trei pași: lizarea probei, capturarea acidului nucleic și transferul prin eluție și RT-PCR multiplex când analiții sunt simultan amplificați, detectați și diferențiați. Capturarea și eluția acidului nucleic are loc într-un singur tub pe sistemul Panther Fusion. Eluatul este transferat în tubul de reacție Panther Fusion care conține reactivii de analiză. Se efectuează apoi RT-PCR multiplex pentru acidul nucleic eluat pe sistemul Panther Fusion.

Capturarea și eluția acidului nucleic: Înainte de procesare și testare pe sistemul Panther Fusion, eșantioanele sunt transferate într-un tub de liză pentru eșantioane care conține mediu de transport pentru eșantioane (STM) care lizează celulele, eliberează acidul nucleic țintă și le protejează împotriva degradării în timpul păstrării.

Controlul intern-S (IC-S) se adaugă la fiecare eșantion de testare și la controale prin intermediul reactivului de captură-S Panther Fusion (wFCR-S). IC-S din reactiv monitorizează procesarea, amplificarea și detectarea eșantionului.

Oligonucleotidele de captare hibridizează cu acidul nucleic din eșantionul de testare. Acidul nucleic hibridizat este apoi separat de eșantion într-un câmp magnetic.

Etapele de spălare îndepărtează componentele străine din eprubeta de reacție. Etapa de eluție eluează acidul nucleic purificat. În timpul etapei de captare și eluare a acidului nucleic, acidul nucleic total este izolat din eșantioane.

Transfer de eluție și RT-PCR: În timpul pasului de transfer al eluției, acidul nucleic eluat este transferat într-un tub de reacție Panther Fusion care conține deja ulei și mastermix reconstituit.

Amplificarea țintei are loc prin RT-PCR. Este utilizată o transcriptază inversă pentru a genera o copie ADN a secvenței țintă. Amorserile și sondele directe și inverse specifice țintei amplifică apoi țintele, detectând și discriminând simultan mai multe tipuri de ținte prin RT-PCR multiplex.

Sistemul Panther Fusion compară semnalul de fluorescență cu un prag predeterminat pentru a produce un rezultat calitativ pentru prezența sau absența analitului.

Analizii și canalul utilizat pentru detectarea lor pe sistemul Panther Fusion sunt rezumate în tabelul de mai jos.

Analit	Genă țintită	Canal instrument
HPIV-1	Hemagglutinin neuraminidase	FAM
HPIV-2	Hemagglutinin neuraminidase	HEX
HPIV-3	Hemagglutinin neuraminidase	ROX
HPIV-4	Nucleocapsidă	RED647
Control intern	Nu se aplică	RED677

Avertizări și precauții

- A. Pentru diagnosticare *in vitro*.
- B. Pentru uz profesional.

În legătură cu laboratorul

- C. Citiți cu atenție și în întregime acest prospect și *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manualul de utilizare pentru sistemul Panther/Panther Fusion).
- D. Reactivul de amplificare-S (FER-S) Panther Fusion este coroziv, nociv în caz de înghițire și provoacă arsuri grave ale pielii și leziuni oculare.
- E. Numai personalul instruit corespunzător în utilizarea acestui test și în manipularea materialelor potențial infecțioase pot efectua aceste proceduri. Dacă se produce o scurgere, dezinfectați imediat, respectând procedurile adecvate ale unității.
- F. Manipulați toate probele ca și cum ar fi infecțioase, utilizând proceduri de laborator sigure, cum ar fi cele descrise în CDC/NIH Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories⁸ și în CLSI Document M29 Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections.⁹
- G. Utilizați numai articolele de laborator de unică folosință furnizate sau specificate.

- H. Purtați mănuși de unică folosință fără pudră, ochelari de protecție și halate de laborator atunci când manipulați eșantioanele și reactivii. Spălați-vă bine mâinile după manipularea probelor sau a reactivilor.
- I. Eliminați toate materialele care au intrat în contact cu probele și reactivii în conformitate cu reglementările naționale, internaționale și regionale aplicabile.

În legătură cu eșantioanele

- J. Datele de expirare menționate pe tuburile de liză pentru eșantioane Panther Fusion se referă la transferul probei în tub și nu la testarea probei. Eșantioanele prelevate/transferate în orice moment anterior acestor date de expirare sunt valide pentru testare cu condiția ca acestea să fie transportate și depozitate conform prospectului din ambalaj, chiar dacă aceste date de expirare au fost depășite.
- K. Mențineți condiții de păstrare adecvate în timpul expedierii eșantionului pentru a asigura integritatea acestuia. Stabilitatea probei în timpul expedierii în alte condiții decât cele recomandate nu a fost evaluată.

În legătură cu testul

- L. Evitați contaminarea încrucișată pe parcursul pașilor de manipulare a probelor. Eșantioanele pot conține niveluri extrem de ridicate de virusuri sau alte organisme. Asigurați-vă că recipientele cu probe nu intră în contact unul cu celălalt și eliminați materialele utilizate, fără a le trece pe deasupra vreunui recipient deschis. Schimbați mănușile dacă acestea intră în contact cu probele.
- M. Nu utilizați reactivii și substanțele de control după data expirării.
- N. Depozitați componentele testului conform condițiilor de păstrare recomandate. Consultați *Cerințe privind păstrarea și manipularea reactivilor și Procedura de testare cu sistemul Panther Fusion* pentru mai multe informații.
- O. Nu combinați reactivi sau lichide ale testului. Nu umpleți până la refuz cu reactivi sau lichide; sistemul Panther Fusion verifică nivelurile de reactiv.
- P. Evitați contaminarea microbiană și ribonucleică a reactivilor.
- Q. Cerințele privind controlul calității trebuie să fie îndeplinite în conformitate cu reglementările locale/regionale sau cu cerințele de acreditare și procedurile standard de control al calității ale laboratorului dvs.
- R. Nu utilizați cartușul de testare dacă punga de depozitare a acestuia a fost desigilată sau dacă folia cartușului de testare nu este intactă. Contactați Hologic dacă intervine oricare dintre cele două probleme.
- S. Nu utilizați pachetele de lichid dacă sigiliul din folie prezintă scurgeri. Contactați Hologic dacă se întâmplă acest lucru.
- T. Manipulați cartușele de testare cu atenție. Nu scăpați pe jos și nu răsturnați cartușele de testare. Evitați expunerea prelungită la lumina ambientală.

Notă: Declarația privind pericolele reflectă clasificările conform Safety Data Sheets (SDS) (Fișe tehnice de securitate (SDS)) la nivelul UE. Pentru informații privind comunicarea pericolelor specifice regiunii dvs., consultați Biblioteca fișelor tehnice de securitate la www.hologicsds.com. Pentru informații suplimentare referitoare la simboluri, consultați legenda simbolurilor la www.hologic.com/package-inserts.

Informații pericole UE	
	Ulei Panther Fusion POLIDIMETILSILOXAN 100% AVERTIZARE H315 – Provoacă iritarea pielii H319 – Provoacă iritarea gravă a ochilor
	Reactiv de amplificare-S (FER-S) Panther Fusion HIDROXID DE LITIU, MONOHIDRAT 5%-10%
	PERICOL H302 – Nociv în caz de înghițire H314 – Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor P260 – Nu inspirați praful/fumul/gazul/ceața/vaporii/spray-ul P280 – Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței P303 + P361 + P353 - ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA (sau cu părul): Îndepărtați imediat toată îmbrăcămintea contaminată. Clătiți pielea cu apă/faceți duș P305 + P351 + P338 - ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți P310 – Sunați imediat la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ/un medic P280 – Purtați echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței

Cerințe privind păstrarea și manipularea reactivilor

A. Tabelul următor furnizează cerințele privind depozitarea și manipularea pentru acest test.

Reactiv	Păstrare în stare nedeschisă	Stabilitate în sistem/ în stare deschisă ¹	Păstrare în stare deschisă
Cartușe de teste Panther Fusion Paraflu	2 °C și 8 °C	60 de zile	2 °C și 8 °C ²
Reactiv de captură-S (FCR-S) Panther Fusion	15 °C și 30 °C	30 de zile	15 °C și 30 °C
Reactiv de amplificare-S (FER-S) Panther Fusion	15 °C și 30 °C	30 de zile	15 °C și 30 °C
Control intern-S (IC-S) Panther Fusion	2 °C și 8 °C	(În wFCR-S)	Nu se aplică
Soluție-tampon de eluție Panther Fusion	15 °C și 30 °C	60 de zile	15 °C și 30 °C
Ulei Panther Fusion	15 °C și 30 °C	60 de zile	15 °C și 30 °C
Soluție-tampon pentru reconstituire I Panther Fusion	15 °C și 30 °C	60 de zile	15 °C și 30 °C
Control pozitiv pentru testul Panther Fusion Paraflu	2 °C și 8 °C	Flacon de unică folosință	Nu se aplică. De unică folosință
Control negativ Panther Fusion	2 °C și 8 °C	Flacon de unică folosință	Nu se aplică. De unică folosință

La scoaterea reactivilor din sistemul Panther Fusion, aceștia trebuie readuși imediat la temperaturile corespunzătoare de depozitare.

¹ Stabilitatea în sistem se calculează din momentul în care reactivul este introdus în sistemul Panther Fusion pentru cartușul de teste Panther Fusion Paraflu, FCR-X, FER-S și IC-S. Stabilitatea în sistem pentru soluția-tampon pentru reconstituire I Panther Fusion, soluția-tampon de eluție Panther Fusion și reactivul ulei Panther Fusion începe la prima utilizare a pachetului de reactivi.

² Dacă este îndepărtat din sistemul Panther Fusion, păstrați cartușul de teste într-un recipient închis ermetic, cu desicant, la temperatura de păstrare recomandată.

B. Reactivii de lucru Reactiv de captură-S (FCR-S) Panther Fusion și Reactiv de amplificare-S (FER-S) Panther Fusion sunt stabili timp de 60 de zile atunci când sunt închiși cu capac și păstrați la o temperatură cuprinsă între 15 °C și 30 °C. Eliminați toți reactivii neutilizați care și-au depășit termenul de stabilitate în sistem.

C. Controalele sunt stabile până la data indicată pe flacoane.

D. Evitați contaminarea încrucișată în timpul manipulării și depozitării reactivilor.

E. **Nu congelați reactivii.**

Prelevarea și păstrarea eșantioanelor

Eșantioane – Material clinic prelevat de la pacient, introdus într-un sistem de transport adecvat. Pentru testul Panther Fusion Paraflu, acesta include probe pe tampon NP în mediu de transport viral (VTM).

Probe – Reprezintă un termen mai generic pentru a descrie orice material destinat testării pe sistemul Panther Fusion, inclusiv eșantioane, eșantioane transferate într-un tub de liză pentru eșantioane Panther Fusion și controale.

Notă: Manipulați toate eșantioanele ca și cum ar conține agenți potențial infecțioși. Utilizați precauțiile universale.

Notă: Evitați contaminarea încrucișată pe parcursul etapelor de manipulare a eșantionului. De exemplu, eliminați materialul utilizat fără a-l trece pe deasupra tuburilor deschise.

A. Tipurile de eșantioane includ eșantioane pe tampon NP.

Prelevați eșantioane pe tampon NP conform tehnicii standard, folosind un tampon cu aplicator din poliester, viscoză sau nailon. Introduceți imediat tamponul în 3 ml de VTM.

Au fost verificate pentru utilizare următoarele tipuri de VTM.

- Formulele Remel MicroTest M4, M4RT, M5 sau M6
- Mediul de transport universal Copan
- Mediul de transport viral BD

B. Procesarea eșantioanelor

1. Înainte de testarea pe sistemul Panther Fusion, transferați eșantionul* în tubul de liză pentru eșantioane Panther Fusion.

- Transferați 500 µL din eșantioanele pe tampon NP într-un tub de liză pentru eșantioane Panther Fusion.

***Note:** Dacă testați eșantioane congelate, lăsați-le să atingă temperatura camerei înainte de procesare. Nu permiteți ca eșantionul să depășească 3 cicluri de congelare/decongelare.

2. Păstrarea specimenelor înainte de testare

- a. După prelevare, eșantioanele pot fi păstrate la 2 °C și 8 °C până la 96 de ore înainte de a fi transferate în tubul de liză pentru eșantioane Panther Fusion. Volumele de eșantioane rămase pot fi păstrate la ≤ -70 °C timp de până la 24 de luni.
- b. Eșantioanele din tuburi de liză pentru eșantioane Panther Fusion pot fi păstrate în una dintre următoarele condiții:
 - 15 °C și 30 °C, până la 6 zile sau
 - 2 °C și 8 °C, până la 3 luni.

Notă: Se recomandă ca eșantioanele transferate în tubul de liză pentru eșantioane Panther Fusion să fie păstrate cu capac, în poziție verticală, într-un stativ.

C. Probele de pe sistemul Panther Fusion pot fi arhivate pentru testare suplimentară ulterioară.

D. Depozitarea probelor după testare

1. Probele care au fost testate trebuie păstrate în poziție verticală, în stativ, într-una dintre următoarele condiții:
 - 15 °C și 30 °C, până la 6 zile sau
 - 2 °C și 8 °C, până la 3 luni.
2. Probele trebuie acoperite cu o protecție nouă, curată, dintr-o peliculă de plastic sau folie.
3. În cazul în care probele testate trebuie să fie congelate sau expediate, scoateți capacele penetrabile și înlocuiți-le cu capace noi, nepenetrabile pe tuburile de eșantioane. Dacă probele trebuie expediate pentru testare într-o altă unitate, trebuie menținute temperaturile recomandate. Înainte de a înlătura capacele probelor testate anterior și ale căror capace au fost puse din nou, tuburile pentru eșantioane trebuie centrifugate timp de 5 minute cu o forță centrifugală relativă (RCF) de 420 pentru a aduce tot lichidul la fundul tubului. Evitați stropirea și contaminarea încrucișată.

Transportul eșantioanelor

Mențineți condițiile de păstrare a eșantioanelor descrise în *Prelevarea și păstrarea eșantioanelor*.

Notă: *Eșantioanele trebuie expediate în conformitate cu reglementările naționale, internaționale și regionale aplicabile privind transporturile.*

Sistemul Panther Fusion

Sistemul Panther Fusion este un sistem integrat de testare a acidului nucleic care automatizează complet toți pașii necesari pentru efectuarea diverselor teste Panther Fusion, începând de la procesarea probelor și continuând cu amplificarea, detecția și reducerea datelor.

Reactivi și materiale furnizate pentru testul Panther Fusion Paraflu

Ambalajul testului

Componente ¹	Nr. piesă	Păstrare
Cartuș de teste Panther Fusion Paraflu, 96 teste Cartuș de teste Panther Fusion Paraflu, 12 teste, 8 per cutie	PRD-04329	2 °C și 8 °C
Control intern-S Panther Fusion, 960 teste Control intern-S Panther Fusion, 4 per cutie	PRD-04332	2 °C și 8 °C
Controale pentru testul Panther Fusion Paraflu Tub pentru control pozitiv Panther Fusion Paraflu, 5 per cutie Tub pentru control negativ Panther Fusion, 5 per cutie	PRD-04337	2 °C și 8 °C
Reactiv de extracție-S Panther Fusion, 960 teste Sticlă de reactiv de captură-S Panther Fusion, 240 teste, 4 per cutie Sticlă de reactiv de amplificare-S Panther Fusion, 240 teste, 4 per cutie	PRD-04331	15 °C și 30 °C
Soluție-tampon de eluție Panther Fusion, 2400 teste Pachet de soluție-tampon de eluție Panther Fusion, 1200 teste, 2 per cutie	PRD-04334	15 °C și 30 °C
Soluție-tampon de eluție Panther Fusion, 1920 teste Soluție-tampon de reconstituire II Panther Fusion, 960 teste, 2 per cutie	PRD-04333	15 °C și 30 °C
Reactiv ulei Panther Fusion, 1920 teste Reactiv ulei Panther Fusion, 960 teste, 2 per cutie	PRD-04335	15 °C și 30 °C

¹ Componentele pot fi comandate, de asemenea, în următoarele pachete:

Trusă de lichide universale Panther Fusion, PRD-04430, conține câte 1 recipient cu ulei Panther Fusion și soluție-tampon de eluție Panther Fusion.

Lichidele de testare I-S Panther Fusion, PRD-04431, conțin 2 reactivi de extracție-S Panther Fusion, 2 controale interne-S Panther Fusion și 1 soluție-tampon pentru reconstituire I Panther Fusion.

Articole ambalate individual

Articole	Nr. piesă
Tuburi de liză pentru probe Panther Fusion, 100 per pungă	PRD-04339

Materiale necesare, disponibile separat

Notă: Materialele disponibile de la Hologic au numerele de catalog enumerate, dacă nu se specifică altfel.

Material	Nr. cat.
Sistem Panther	303095
Modul Panther Fusion	PRD-04173
Sistem Panther Fusion	PRD-04172
Unități multitub (MTU-uri)	104772-02
Trusă de pungi pentru reziduuri Panther	902731
Capac pentru coș de reziduuri Panther	504405
sau trusă de rulare pentru sistemul Panther pentru teste în timp real conține MTU-uri, pungi de reziduuri, capace pentru coșuri de reziduuri și lichide de testare	PRD-03455 (5000 teste)
sau trusă de rulare pentru sistemul Panther (la rularea de teste TMA în paralel cu teste TMA în timp real) conține MTU-uri, pungi de reziduuri, capace pentru coșuri de reziduuri, auto detect* și lichide de testare	303096 (5000 teste)
Tăvi pentru tuburi Panther Fusion, 1008 teste, 18 tăvi per cutie	PRD-04000
Vârfuri, 1000 µl, cu filtru, conductive, detectoare de lichid și de unică folosință. <i>Este posibil ca unele produse să nu fie disponibile în toate regiunile. Pentru informații specifice regiunii, contactați reprezentantul.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Trusă cu lichide de testare Aptima (Soluție de spălare Aptima, soluție-tampon Aptima pentru lichidul de dezactivare și reactiv ulei Aptima)	303014 (1000 teste)
Capace penetrabile Aptima (opțional)	105668
Capace înlocuitoare nepenetrabile (opțional)	103036A
Capace înlocuitoare pentru recipiente cu reactivi de extracție	CL0040
Pipetor P1000 și vârfuri cu dopuri hidrofobe	-
Înălbitor, soluție hipoclorit de sodiu între 5% și 8,25% (0,7 M și 1,16 M)	-
Mănuși de unică folosință fără pudră	-
Huse câptușite cu plastic pentru masa de lucru din laborator	-
Șervețele fără fibre	-

* Necesar numai pentru testele TMA Panther Aptima TMA.

Procedura de testare cu sistemul Panther Fusion

Notă: Consultați *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manualul de utilizare a sistemului Panther/Panther Fusion) pentru informații suplimentare privind procedura.

A. Pregătirea zonei de lucru

1. Ștergeți suprafețele de lucru cu soluție de hipoclorit de sodiu între 2,5% și 3,5% (între 0,35 M și 0,5 M). Lăsați soluția de hipoclorit de sodiu să intre în contact cu suprafețele timp de cel puțin 1 minut, iar apoi clătiți cu apă deionizată (DI). Nu lăsați soluția de hipoclorit de sodiu să se usuce. Acoperiți suprafața mesei de lucru din laborator cu huse curate, absorbante, căptușite cu plastic.
2. Curățați o suprafață de lucru separată pe care vor fi pregătite probele folosind procedura descrisă la Pasul A.1.
3. Curățați toate pipetoarele. Utilizați procedura de curățare descrisă mai sus (Pasul A.1).

B. Pregătirea reactivilor

1. Scoateți sticlele de IC-S, FCR-S și FER-S din locul de păstrare.
2. Deschideți sticlele de IC-S, FCR-S și FER-S și aruncați capacele. Deschideți ușa TCR a compartimentului superior al sistemului Panther Fusion.
3. Plasați sticlele de IC-S, FCR-S, FER-S în pozițiile corespunzătoare pe caruselul TCR.
4. Închideți ușa TCR.

Notă: Sistemul Panther Fusion adaugă IC-S la FCR-S. După ce IC-S este adăugat la FCR-S, acesta este denumit wFCR-S (FCR-S de lucru). Dacă FCR-S și FER-S sunt îndepărtate din sistem, utilizați capace noi și depozitați imediat conform condițiilor de păstrare adecvate.

C. Manipularea eșantioanelor

Notă: Pregătiți eșantioanele conform instrucțiunilor de procesare a eșantioanelor din secțiunea *Prelevarea și păstrarea eșantioanelor înainte de a le încărca pe sistemul Panther Fusion*.

1. **Nu vortexați probele.**
2. Inspectați tuburile pentru probe înainte de a le încărca în stativ. Dacă un tub pentru probă conține bule sau are un volum mai mic decât cel tipic, loviți ușor baza tubului pentru a aduce conținutul în partea de jos a acestuia.

Notă: Pentru a evita o eroare de procesare, asigurați-vă că în tubul de liză pentru eșantioane Panther Fusion este adăugat un volum adecvat de eșantion. Când se adaugă 500 µl de eșantion de tampon NP în tubul de liză pentru eșantioane Panther Fusion, există suficient volum pentru a efectua 3 extracții de acid nucleic.

D. Pregătirea sistemului

Pentru instrucțiuni privind configurarea sistemului Panther Fusion, inclusiv încărcarea probelor, reactivilor, cartuşelor de teste și lichidelor universale, consultați *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manualul de utilizare a sistemului Panther/Panther Fusion).

Note privind procedura**A. Controale**

1. Controlul pozitiv Panther Fusion Paraflu și controlul negativ Panther Fusion pot fi încărcate în orice poziție de pe stativ, în orice bandă a oricărui compartiment de probe din sistemul Panther Fusion.
2. După ce tuburile cu substanțe de control au fost pipetate și procesate pentru testul Panther Fusion Paraflu, ele sunt active timp de până la 30 de zile (frecvența controlului fiind configurată de către un administrator) cu excepția cazului în care rezultatele controalelor sunt nevalide sau nu este încărcat un lot nou de cartușe de teste.
3. Fiecare tub cu control poate fi testat o singură dată.
4. Pipetarea eșantionului prelevat de la pacient începe în momentul în care este îndeplinită una dintre cele două condiții de mai jos:
 - a. Sistemul înregistrează rezultate valide pentru substanțele de control.
 - b. O pereche de controale este în curs de prelucrare pe sistem.

Controlul calității

O procesare sau un rezultat pentru o probă pot fi invalidate de sistemul Panther Fusion dacă apar probleme în timpul efectuării testului. Eșantioanele cu rezultate nevalide trebuie retestate.

Controale negative și pozitive

Pentru generarea unor rezultate valide, trebuie testat un set de controale ale testului. O replicare al controlului negativ al testului și al controlului pozitiv al testului trebuie testată de fiecare dată când este încărcat un lot nou de cartușe de teste pe sistemul Panther Fusion sau dacă setul curent de controale valide a expirat.

Sistemul Panther Fusion este configurat pentru a solicita procesarea controalelor testului, la un interval specificat de administrator de până la 30 de zile. Software-ul sistemului Panther Fusion alertează operatorul atunci când sunt necesare controale ale testului și nu inițiază testările noi decât după ce controalele testului sunt încărcate și în curs de procesare.

În timpul procesării, criteriile de acceptare a controalelor testului sunt verificate automat de sistemul Panther Fusion. Pentru generarea unor rezultate valide, controalele testului trebuie să parcurgă o serie de verificări de validitate efectuate de sistemul Panther Fusion.

În cazul în care controalele testului trec toate verificările de validitate, acestea sunt considerate valide pentru intervalul de timp specificat de administrator. După acest interval de timp, controalele testului sunt considerate expirate de către sistemul Panther Fusion și solicită testarea unui set de controale ale testului înainte de procesarea oricăror probe noi.

Dacă oricare dintre controalele testului nu trece verificările de validitate, sistemul Panther Fusion invalidează automat probele afectate și solicită testarea unui nou set de controale ale testului înainte de procesarea oricăror probe noi.

Control intern

Un control intern este adăugat la fiecare probă în timpul procesului de extracție. În timpul procesării, criteriile de acceptare a controlului intern sunt verificate automat de software-ul sistemului Panther Fusion. Detectarea controlului intern nu este necesară pentru probele pozitive pentru HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 și/sau HPIV-4. Controlul intern trebuie să fie detectat pe toate probele care sunt negative pentru țintele HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 și HPIV-4; probele care nu îndeplinesc acele criterii sunt raportate drept nevalide. Fiecare probă cu un rezultat nevalid trebuie retestată.

Sistemul Panther Fusion este conceput pentru a verifica cu exactitate procesele, atunci când procedurile sunt efectuate în conformitate cu instrucțiunile din acest prospect și din *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manualul operatorului sistemului Panther/Panther Fusion).

Interpretarea rezultatelor

Sistemul Panther Fusion determină automat rezultatele testărilor pentru probe și controale. Rezultatele pentru detectarea HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 și HPIV-4 sunt raportate separat. Rezultatul unei testări poate fi negativ, pozitiv sau nevalid.

Tabelul 1 prezintă rezultatele posibile raportate într-o procesare validă cu interpretările rezultatelor.

Tabelul 1: Interpretare rezultat

Rezultat HPIV-1	Rezultat HPIV-2	Rezultat HPIV-3	Rezultat HPIV-4	Rezultat IC	Interpretare
Neg	Neg	Neg	Neg	Valid	HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 și HPIV-4 nedetectate.
POS	Neg	Neg	Neg	Valid	HPIV-1 detectat. HPIV-2, HPIV-3 și HPIV-4 nedetectate.
Neg	POS	Neg	Neg	Valid	HPIV-2 detectat. HPIV-1, HPIV-3 și HPIV-4 nedetectate.
Neg	Neg	POS	Neg	Valid	HPIV-3 detectat. HPIV-1, HPIV-2 și HPIV-4 nedetectate.
Neg	Neg	Neg	POS	Valid	HPIV-4 detectat. HPIV-1, HPIV-2 și HPIV-3 nedetectate
POS	POS	Neg	Neg	Valid	HPIV-1 și HPIV-2 detectate. HPIV-3 și HPIV-4 nedetectate.
POS	Neg	POS	Neg	Valid	HPIV-1 și HPIV-3 detectate. HPIV-2 și HPIV-4 nedetectate.
POS	Neg	Neg	POS	Valid	HPIV-1 și HPIV-4 detectate. HPIV-2 și HPIV-3 nedetectate.
Neg	POS	POS	Neg	Valid	HPIV-2 și HPIV-3 detectate. HPIV-1 și HPIV-4 nedetectate.
Neg	POS	Neg	POS	Valid	HPIV-2 și HPIV-4 detectate. HPIV-1 și HPIV-3 nedetectate.
Neg	Neg	POS	POS	Valid	HPIV-3 și HPIV-4 detectate. HPIV-1 și HPIV-2 nedetectate.
POS	POS	POS	Neg	Valid	HPIV-1, HPIV-2 și HPIV-3 detectate. HPIV-4 nedetectat. Infecțiile triple sunt rare. Repetați testarea pentru a confirma rezultatul.
POS	POS	Neg	POS	Valid	HPIV-1, HPIV-2 și HPIV-4 detectate. HPIV-3 nedetectat. Infecțiile triple sunt rare. Repetați testarea pentru a confirma rezultatul.
POS	Neg	POS	POS	Valid	HPIV-1, HPIV-3, HPIV-4 detectate. HPIV-2 nedetectat. Infecțiile triple sunt rare. Repetați testarea pentru a confirma rezultatul.

Tabelul 1: Interpretare rezultat (continuare)

Rezultat HPIV-1	Rezultat HPIV-2	Rezultat HPIV-3	Rezultat HPIV-4	Rezultat IC	Interpretare
Neg	POS	POS	POS	Valid	HPIV-2, HPIV-3 și HPIV-4 detectate. HPIV-1 nedetectat. Infecțiile triple sunt rare. Repetați testarea pentru a confirma rezultatul.
POS	POS	POS	POS	Valid	HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 și HPIV-4 detectate. Infecțiile cvadruple sunt rare. Repetați testarea pentru a confirma rezultatul.
Nevalid	Nevalid	Nevalid	Nevalid	Nevalid	Nevalid. A apărut o eroare la generarea rezultatului; retestați proba.

Notă: Rezultatul POS va fi însoțit de valorile pragului de ciclu (Ct).

Limitări

- A. Utilizarea acestui test este limitată la personalul care este instruit cu privire la procedura specifică. Nerespectarea acestor instrucțiuni poate genera rezultate eronate.
- B. Rezultatele sigure depind de prelevarea, transportul, păstrarea și procesarea adecvată a probelor.
- C. Evitați contaminarea, respectând bunele practici de laborator și procedurile specificate în acest prospect.
- D. Rezultatele negative nu exclud infecțiile cu HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 sau HPIV-4 și nu trebuie utilizate ca bază unică pentru tratament sau alte decizii terapeutice.
- E. Un rezultat pozitiv indică detectarea acidului nucleic din virusul relevant. Acidul nucleic poate persista chiar și după ce virusul nu mai este viabil.

Performanța testului în cadrul sistemului Panther Fusion

Performanțe clinice: Studiu retrospectiv

Un total de 877 de probe pe tampon NP prelevate retrospectiv de la pacienți din SUA au fost utilizate pentru evaluarea cu testul Panther Fusion Paraflu. Rezultatele sunt arătate în Tabelul 2, Tabelul 3, Tabelul 4 și Tabelul 5.

Pentru eșantioanele pe tampon NP, 500 µl au fost diluate într-un tub de liză pentru eșantioane Panther Fusion conținând 780 µl de mediu de transport pentru eșantioane (STM) și o singură replică a fost testată cu testul Panther Fusion Paraflu. Rezultatul pentru fiecare eșantion a fost comparat cu testul de referință utilizând un test de acid nucleic (NAT) comercial. Au fost determinate sensibilitatea și specificitatea pentru detectarea acidului nucleic al HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 și HPIV-4 în comparație cu rezultatele NAT de referință.

Tabelul 2: Rezultat HPIV-1

Tip eșantion	N	HPIV-1+		HPIV-1-		Sensibilitate cu CI 95%	Specificitate cu CI 95%	Concordanță globală cu CI 95%
		Fusion HPIV-1 +	Fusion HPIV-1 -	Fusion HPIV-1 +	Fusion HPIV-1 -			
Tampon nazofaringian	877	20	0	0	857	100,0% 83,9% – 100,0%	100,0% 99,6% – 100,0%	100,0% 99,6% – 100,0%

Tabelul 3: Rezultat HPIV-2

Tip eșantion	N	HPIV-2+		HPIV-2-		Sensibilitate cu CI 95%	Specificitate cu CI 95%	Concordanță globală cu CI 95%
		Fusion HPIV-2 +	Fusion HPIV-2 -	Fusion HPIV-2 +	Fusion HPIV-2 -			
Tampon nazofaringian	877	43	0	0	834	100,0% 91,8% – 100,0%	100,0% 99,5% – 100,0%	100,0% 99,6% – 100,0%

Tabelul 4: Rezultat HPIV-3

Tip eșantion	N	HPIV-3+		HPIV-3-		Sensibilitate cu CI 95%	Specificitate cu CI 95%	Concordanță globală cu CI 95%
		Fusion HPIV-3 +	Fusion HPIV-3 -	Fusion HPIV-3 +	Fusion HPIV-3 -			
Tampon nazofaringian	877	45	0	3*	829	100,0% 92,1% – 100,0%	99,6% 98,9% – 99,9%	99,7% 99,0% – 99,9%

* Două din trei eșantioane discordante au fost testate cu un test RT-PCR dezvoltat și validat intern. HPIV-3 a fost detectat în unul dintre eșantioane. Eșantionul discordant netestat avea volum insuficient.

Tabelul 5: Rezultat HPIV-4

Tip eșantion	N	HPIV-4+		HPIV-4-		Sensibilitate cu CI 95%	Specificitate cu CI 95%	Concordanță globală cu CI 95%
		Fusion HPIV-4	Fusion HPIV-4	Fusion HPIV-4	Fusion HPIV-4			
		+	-	+	-			
Tampon nazofaringian	877	52	1*	0	824	98,1% 90,1% – 99,7%	100,0% 99,5% – 100,0%	99,9% 99,4% – 100,0%

* Eșantion discordant netestat din cauza volumului insuficient.

Performanțe clinice: Studiu prospectiv

Acest studiu a fost realizat pentru a demonstra caracteristicile de performanță clinică ale testului Panther Fusion Paraflu. A fost efectuat un studiu prospectiv multicentric cu eșantioane pe tampon nazofaringian (NP) rămase de la bărbați și femei de toate vârstele care prezentau semne și/sau simptome ale unei infecții a tractului respirator. Patru spitale pediatrice/pentru adolescenți, private și/sau universitare participante din SUA au obținut 2961 de eșantioane pe tampon NP rămase. Probele au fost testate cu testul Panther Fusion Paraflu, cu o cultură virală de referință urmată de identificarea anticorpilor fluorescenți direcți (DFA) (pentru HPIV-1, HPIV-2 și HPIV-3) și cu 2 teste PCR cu transcriptază inversă, urmate de secvențiere bidirecțională (PCR/secvențiere pentru HPIV-4). Un test PCR validat a fost utilizat pentru testarea rezoluției discordante pentru HPIV-1, HPIV-2 și HPIV-3; nu s-a efectuat nicio testare a rezoluției discordante pentru HPIV-4.

Caracteristicile de performanță au fost estimate în raport cu rezultatele valide ale culturii/DFA sau ale PCR/secvențierii pentru fiecare probă. Sensibilitatea și specificitatea (pentru HPIV-1, HPIV-2 și HPIV-3) și concordanța procentuală negativă și pozitivă (pentru HPIV-4) au fost estimate cu CI-uri de scor 95% bilaterale. Analizele au fost efectuate separat pentru fiecare analit țintă (HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 și HPIV-4).

Din cele 2.961 de eșantioane, 31 de eșantioane/probe au fost retrase (din cauza rezultatelor incomplete ale testelor de referință, a volumelor insuficiente pentru testare, a expirării înainte de testare sau a manipulării necorespunzătoare), 2.930 de probe au fost prelucrate în rulări Panther Fusion Paraflu, 2.877 (98,2%) au avut rezultate finale valide (inclusiv 7 probe cu rezultate de referință nevalide) și 53 (1,8%) au avut rezultate finale nevalide. Din cele 2.877 de probe cu rezultate Panther Fusion valide, 1.359 de probe proveneau de la femei și 1.518 de la bărbați (consultați Tabelul 6). Dintre probele cu rezultate Panther Fusion Paraflu valide, 7 probe cu rezultate nevalide ale culturii/DFA și 7 probe cu rezultate nevalide ale PCR/ secvențierii au fost excluse din analizele de performanță, rămânând 2.870 de probe evaluabile pentru analize pentru fiecare analit.

Tabelul 6: Rezumatul datelor demografice ale subiecților pentru eșantioanele prospective în cadrul evaluării testului Panther Fusion Paraflu

		N (%)
Total		2877 (100)
Sex	Femeie	1359 (47,2)
	Bărbat	1518 (52,8)
Grup de vârstă	0 – 28 zile	82 (2,9)
	29 zile – <2 ani	758 (26,3)
	2 – 5 ani	407 (14,1)
	6 – 11 ani	259 (9,0)
	12 – 17 ani	184 (6,4)
	18 – 21 ani	73 (2,5)
	22 – 64 ani	694 (24,1)
	≥ 65 ani	420 (14,6)

Din cele 2.870 de probe evaluabile testate cu ajutorul testului Panther Fusion Paraflu, 1,5% (43/2.870) au fost pozitive pentru HPIV-1, 1,3% (37/2.870) au fost pozitive pentru HPIV-2, 2,8% (80/2.870) au fost pozitive pentru HPIV-3 și 1,2% (34/2.870) au fost pozitive pentru HPIV-4. Tabelul 7 arată pozitivitatea pentru fiecare analit în funcție de grupa de vârstă.

Tabelul 7: Test Panther Fusion Paraflu – Pozitivitate în funcție de analit și grupa de vârstă

Analit	% pozitivitate (n/N)			
	HPIV-1	HPIV-2	HPIV-3	HPIV-4
Tot	1,5% (43/2870)	1,3% (37/2870)	2,8% (80/2870)	1,2% (34/2870)
0 – 28 zile	0,0% (0/82)	0,0% (0/82)	1,2% (1/82)	0,0% (0/82)
29 zile – <2 ani	2,1% (16/758)	2,4% (18/758)	4,4% (33/758)	1,7% (13/758)
2 – 5 ani	2,5% (10/407)	2,2% (9/407)	3,4% (14/407)	2,2% (9/406)
6 – 11 ani	1,6% (4/258)	0,8% (2/258)	0,4% (1/258)	2,3% (6/256)
12 – 17 ani	1,7% (3/181)	3,3% (6/181)	1,1% (2/181)	0,5% (1/184)
18 – 21 ani	0,0% (0/73)	0,0% (0/73)	2,7% (2/73)	0,0% (0/73)
22 – 64 ani	0,7% (5/692)	0,0% (0/692)	2,2% (15/692)	0,4% (3/692)
≥ 65 ani	1,2% (5/419)	0,5% (2/419)	2,9% (12/419)	0,5% (2/419)

S-au calculat caracteristicile de performanță pentru detectarea HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 și HPIV-4 în probe prospective NP (consultați Tabelul 8).

Tabelul 8: Test Panther Fusion Paraflu – Performanță în raport cu testarea de referință

Analit	N	TP	FP	TN	FN	Prevalență ¹ (CI 95%) ²	Sensibilitate/ PPA ³ (CI 95%) ²	Specificitate/ NPA ³ (CI 95%) ²
HPIV-1	2870	33	10 ⁴	2826	1 ⁴	1,2 (0,8 – 1,7)	97,1 (85,1 – 99,5)	99,6 (99,4 – 99,8)
HPIV-2	2870	22	15 ⁵	2831	2 ⁵	0,8 (0,6 – 1,2)	91,7 (74,2 – 97,7)	99,5 (99,1 – 99,7)
HPIV-3	2870	52	28 ⁶	2788	2 ⁶	1,9 (1,4 – 2,4)	96,3 (87,5 – 99,0)	99,0 (98,6 – 99,3)
HPIV-4	2870	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 = fals negativ, FP = fals pozitiv, NPA = procent de concordanță negativ, PPA = procent de concordanță pozitiv, TP = adevărat pozitiv, TN = adevărat negativ.

¹ Prevalența studiului raportată.

² Interval de încredere scor.

³ PPA și NPA se aplică la HPIV-4.

⁴ 8/10 rezultate fals pozitive au fost confirmate pozitive și 1/1 rezultat fals negativ a fost confirmat negativ pentru HPIV-1 prin PCR.

⁵ 4/15 rezultate fals pozitive au fost confirmate pozitive și 2/2 rezultate fals negative au fost confirmate negative pentru HPIV-2 prin PCR.

⁶ 26/28 rezultate fals pozitive au fost confirmate pozitive și 2/2 rezultate fals negative au fost confirmate negative pentru HPIV-4 prin PCR.

⁷ Nu au fost efectuate teste de rezoluție discordantă pentru cele 5 rezultate fals pozitive și 1 rezultat fals negativ pentru HPIV-4.

Sensibilitate analitică

Sensibilitatea analitică (limita de detecție sau LoD) a testului Panther Fusion Paraflu pentru tipul de eșantion pe tampon NP a fost determinată prin testarea unor eșantioane clinice negative pentru Paragripă grupate îmbogățite cu următoarele culturi virale la diferite concentrații: HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 și HPIV-4. Cel puțin douăsprezece replicări au fost testate cu fiecare dintre cele trei loturi de reactivi pentru un total combinat de 36 de replicări. Concentrațiile LoD specifice țintei au fost verificate prin testarea a 20 de replicări suplimentare cu un lot de reactivi. Sensibilitatea analitică (LoD) este definită ca cea mai mică concentrație la care 95% din toate replicările au fost pozitive, astfel cum se rezumă în Tabelul 9.

Tabelul 9: Sensibilitate la tampoane NP

Tulpină virală	Concentrație LoD
HPIV-1	1x10 ⁻² TCID ₅₀ /ml
HPIV-2	1x10 ² TCID ₅₀ /ml
HPIV-3	1x10 ¹ TCID ₅₀ /ml
HPIV-4	1x10 ^{0,5} TCID ₅₀ /ml

Specificitate analitică

Specificitatea analitică a testului Panther Fusion Paraflu a fost evaluată prin testarea unui panel de 58 de organisme, format din 31 de tulpini virale, 26 de tulpini bacteriene și 1 tulpină de levură, reprezentând agenți patogeni respiratori comuni sau flora frecvent prezentă în nazofaringe. Bacteriile și levura au fost testate la concentrații de 10⁵ până la 10⁸ CFU/ml sau IFU/ml, cu excepția cazurilor menționate. Virusurile au fost testate la concentrații de 10³ până la 10⁷ TCID₅₀/ml. HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 și HPIV-4 au fost testate la 1x10² TCID₅₀/ml.

Specificitatea analitică a testului Panther Fusion Paraflu a fost de 100% pentru HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 și HPIV-4, după cum se arată în Tabelul 10.

Tabelul 10: Rezultate privind specificitatea

Organism	Concentrație	HPIV-1	HPIV-2	HPIV-3	HPIV-4
Adenovirus 1	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Adenovirus 7a	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1x10 ⁷ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Bordetella pertussis</i>	1x10 ⁸ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁷ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 ⁵ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> (anterior <i>Chlamydia pneumoniae</i>)	1x10 ⁵ IFU/ml	-	-	-	-
CMV Strain AD 169	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Coronavirus 229E	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Corynebacterium diphtheria</i>	1x10 ⁷ CFU/ml	-	-	-	-
Coxsackie B4	1x10 ⁶ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Coxsackie B5/10/2006	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	1x10 ⁷ CFU/ml	-	-	-	-
EBV	1x10 ⁷ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Ecovirus 2	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Ecovirus 3	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Ecovirus 6	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Ecovirus 11	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Enterovirus 68	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Enterovirus 70	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Haemophilus Influenzae</i>	1x10 ⁷ CFU/ml	-	-	-	-
HPIV-1, C35	1x10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-	-
HPIV-2, Greer	1x10 ² TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
HPIV-3, C243	1x10 ² TCID ₅₀ /ml	-	-	+	-
HPIV-4a, M25	1x10 ² TCID ₅₀ /ml	-	-	-	+
HPIV-4b, CH19503	1x10 ² TCID ₅₀ /ml	-	-	-	+
hMPV Subtype A2	1x10 ⁶ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
HSV-1 Macintyre Strain	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
HSV-2 Type 2G Strain	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Gripă de tip A (H1N1)	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Gripă de tip A (H3N2)	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-

Tabelul 10: Rezultate privind specificitatea (continuare)

Organism	Concentrație	HPIV-1	HPIV-2	HPIV-3	HPIV-4
Gripă de tip B	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumonia</i>	1x10 ⁷ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1x10 ⁷ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	1x10 ⁷ CFU/ml	-	-	-	-
Rujeolă/7/2000	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
Virus urlian	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1x10 ¹⁰ copii ARNr/ml	-	-	-	-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1x10 ¹⁰ copii ARNr/ml	-	-	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria gonorrhea</i>	1x10 ⁷ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁷ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria mucosa</i>	1x10 ⁷ CFU/ml	-	-	-	-
Virus poliomieltic	1x10 ⁶ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	1x10 ⁷ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁷ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁷ CFU/ml	-	-	-	-
Rinovirus 1A	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
RSV A	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
RSV B	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁷ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁷ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁷ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	1x10 ⁶ CFU/ml	-	-	-	-
<i>Tatlockia micdadei</i> (anterior <i>Legionella micdadei</i>)	1x10 ⁷ CFU/ml	-	-	-	-
Virus varicelo-zosterian	1x10 ³ TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-

Interferență concurențială

Interferența concurențială a testului Panther Fusion Paraflu a fost evaluată utilizând o matrice clinică simulată cu perechi de virusuri țintă la două concentrații diferite. Una dintre concentrații a fost aproape de limita de detecție (3 – 5X LoD), în timp ce cealaltă concentrație a fost ridicată (1000X LoD). Prezența a două virusuri la concentrații diferite într-o singură probă nu a avut

niciun efect asupra sensibilității analitice (dectție de 100% pentru ambele ținte) la concentrația menționată în Tabelul 11.

Tabelul 11: Interferență concurențială

Condiție	Țintă 1		Țintă 2		Rezultat HPIV-1	Rezultat HPIV-2	Rezultat HPIV-3	Rezultat HPIV-4
	Descriere	Concentrație	Descriere	Concentrație				
1	HPIV-1	3X LoD	HPIV-2	1000X LoD	+	+	-	-
2	HPIV-1	3X LoD	HPIV-3	1000X LoD	+	-	+	-
3*	HPIV-1	5X LoD	HPIV-4	1000X LoD	+	-	-	+
4	HPIV-2	3X LoD	HPIV-1	1000X LoD	+	+	-	-
5	HPIV-2	3X LoD	HPIV-3	1000X LoD	-	+	+	-
6	HPIV-2	3X LoD	HPIV-4	1000X LoD	-	+	-	+
7	HPIV-3	3X LoD	HPIV-1	1000X LoD	+	-	+	-
8	HPIV-3	3X LoD	HPIV-2	1000X LoD	-	+	+	-
9	HPIV-3	3X LoD	HPIV-4	1000X LoD	-	-	+	+
10	HPIV-4	3X LoD	HPIV-1	1000X LoD	+	-	-	+
11	HPIV-4	3X LoD	HPIV-2	1000X LoD	-	+	-	+
12	HPIV-4	3X LoD	HPIV-3	1000X LoD	-	-	+	+

* Când această combinație a fost testată cu HPIV-1 la 3X LoD, rata de detecție a HPIV-1 a fost de 50,0%.

Interferență

Mucină, sânge integral și alte substanțe cu potențial de interferență (medicamente și produse fără prescripție medicală sau OTC) care pot fi prezente în probe au fost evaluate în testul Panther Fusion Paraflu. Cantități relevante din punct de vedere clinic de substanțe cu potențial de interferență au fost adăugate la o matrice clinică simulată și au fost testate neîmbogățite sau îmbogățite cu HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 și HPIV-4 cultivate la concentrațiile lor 3X LoD respective. Substanțele au constat în spray-uri nazale (lichide și pudră), pastile ingerabile, pastile de supt, substanțe injectabile și endogene, după cum se arată în Tabelul 12.

S-a constatat că toate substanțele testate nu au niciun impact asupra performanței testului Panther Fusion Paraflu.

Tabelul 12: Substanțe cu potențial de interferență

Tip	Nume substanță	Ingredient(e) activ(e)	Concentrație
Endogen	Mucină	Proteină de mucină purificată	60 µg/ml
	Sânge uman	Sânge	2% v/v
Spray-uri sau picături nazale	Neo-Synephrine®	Fenilefrină	15% v/v
	Anefrină	Oximetazolină	15% v/v
	Soluție salină	Clorură de sodiu	15% v/v
	Ventolin® HFA	Albuterol	15% v/v

Tabelul 12: Substanțe cu potențial de interferență (continuare)

Tip	Nume substanță	Ingredient(e) activ(e)	Concentrație
Corticosteroizi nazali	QVAR®, Beconase AQ	Beclometazonă	5% v/v
	Dexacort	Dexametazonă	5% v/v
	AEROSPAN®	Flunizolidă	5% v/v
	Nasacort	Triamcinolon	5% v/v
	Rhinocort	Budesonidă	5% v/v
	Nasonex	Mometazonă	5% v/v
	Flonase	Fluticazonă	5% v/v
Gel nazal	Zicam® (Allergy Relief)	Luffa operculata, Galphimia, Glauca, Histaminum hydrochloricum, sulf	5% v/v
Pastile de supt pentru gât	Pastile de supt cloraspetică pentru gât	Benzocaină Mentol	0,63 mg/ml
Medicamente antivirale	Relenza®	Zanamivir	3,3 mg/ml
	TamiFlu	Oseltamivir	25 mg/ml
	Rebitol	Ribavirină	20 mg/ml
Antibiotic, unguent nazal	Bactroban cremă	Mupirocin	10 mg/ml
Antibiotic, sistemic	Tobramicină	Tobramicină	4,0 µg/ml

Transfer (Carryover)/Contaminare

Studiul de transfer (carryover)/contaminare încrucișată a fost efectuat cu probe negative plasate alternativ între probe puternic pozitive și testate. Probele puternic pozitive au fost preparate prin îmbogățire (peste 10.000X LoD). Nouă rulări separate cu probe negative și probe pozitive plasate într-un model de tip „tablă de șah” au fost testate pe trei instrumente diferite pentru un total combinat de 450 de probe pozitive și 450 de probe negative. Rata de transfer a fost de 0,0%.

Precizia testului

Precizia testului Panther Fusion Paraflu a fost evaluată cu un panel format din 9 membri. Panelul a fost testat de trei operatori în două rulări separate pe zi, folosind trei loturi de reactivi pe trei sisteme Panther Fusion timp de 45 de zile.

Membrii panelului sunt descriși în Tabelul 13, împreună cu un rezumat al concordanței cu rezultatele prevăzute pentru fiecare țintă. Tabelul 14 prezintă analiza mediei și a variabilității între instrumente, între loturi de reactivi, între operatori, între zile, între rulări și în cadrul rulărilor, precum și global (total) pentru Ct.

Tabelul 13: Descrierea panelului și % concordanță

Analit	Membru panel	% rezultate pozitive	% concordanță (CI 95%)
HPIV-1	HPIV-1 3x LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97.7 - 100%)
	HPIV-1 1x LoD	100,0% (160/160)	100,0% (97.7 - 100%)
	HPIV-1 0,01x LoD	3,1% (5/161)	96,9% (92.9 - 98.7%)
	Negativ	0,0% (0/162)	100,0% (97.7 - 100%)
HPIV-2	HPIV-2 3x LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97.7 - 100%)
	HPIV-2 1x LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97.7 - 100%)
	HPIV-2 0,01x LoD	27,8% (45/162)	72,2% (64.9 - 78.5%)
	Negativ	0,0% (0/162)	100,0% (97.7 - 100%)
HPIV-3	HPIV-3 3x LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97.7 - 100%)
	HPIV-3 1x LoD	97,5% (158/162)	97,5% (93.8 - 99.0%)
	HPIV-3 0,01x LoD	4,9% (8/162)	95,1% (90.6 - 97.5%)
	Negativ	0,6% (1/162)	99,4% (96.6 - 99.9%)
HPIV-4	HPIV-4 3x LoD	100,0% (161/161)	100,0% (97.7 - 100%)
	HPIV-4 1x LoD	98,1% (159/162)	98,1% (94.7 - 99.4%)
	HPIV-4 0,01x LoD	4,3% (7/162)	95,7% (91.4 - 97.9%)
	Negativ	0,0% (0/162)	100,0% (97.7 - 100%)

Tabelul 14: Variabilitatea semnalului

Țintă	Membru panel	Medie Ct	Între instrumente		Între loturile de reactivi		Între operatori		Între zile		Între rulări		În cadrul rulărilor		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPIV-1	HPIV-1 3x 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 1x 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 0,01x 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 3x 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 1x 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 0,01x 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 3x 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 1x 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 0,01x 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 3x 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 1x 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 0,01x 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	Negativ	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

Reproductibilitate

Reproductibilitatea testului Panther Fusion Paraflu a fost evaluată la trei centre din SUA, utilizând nouă membri ai panelului. Testarea a fost efectuată utilizând un lot de reactivi pentru test și șase operatori (câte doi în fiecare centru). La fiecare centru, testele au fost efectuate timp de cel puțin cinci zile. Fiecare procesare a conținut trei replicări ale fiecărui membru al panelului.

Un membru negativ al panelului a fost creat folosind o matrice de eșantioane pe tampon nazal simulate în mediu de transport viral (VTM). Membrii pozitivi ai panelului au fost creați prin injectarea unor concentrații de 1 – 2X LoD (scăzut pozitivi) sau 2 – 3X LoD (moderat pozitivi) ale analitului țintă într-o matrice de eșantioane pe tampon nazal simulate, compusă din celule umane cultivate suspendate în VTM.

Concordanța cu rezultatele prevăzute a fost de 100% în cazul membrilor negativi și moderat pozitivi ai panelului și $\geq 96,6\%$ în cazul membrilor scăzut pozitivi ai panelului pentru HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 și HPIV-4, așa cum se arată în Tabelul 15.

Tabelul 15: Concordanța rezultatelor testului Panther Fusion Paraflu cu rezultatele prevăzute

Paneluri			Rezultate prevăzute HPIV-				Concordanță cu rezultatul prevăzut							
							HPIV-1		HPIV-2		HPIV-3		HPIV-4	
Desc.	Comp	Conc. (TCID ₅₀ /ml)	1	2	3	4	N ¹	(%) CI 95%	N ¹	(%) CI 95%	N ¹	(%) CI 95%	N ¹	(%) 95%CI
HPIV-1 Low Pos	1-2X 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	2-3X 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 Low Pos	1-2X 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	2-3X 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 Low Pos	1-2X 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	2-3X 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 Low Pos	1-2X 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	2-3X 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)
Neg	N/A	N/A	-	-	-	-	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. = descriere, Comp. = compoziție, Conc. = concentrație, CI = interval de încredere al scorului, Mod = moderat, N/A = nu se aplică, Neg = negativ, Pos = pozitiv, TCID₅₀/ml = 50% doză infecțioasă de cultură tisulară (măsură a titrului de virus).

¹ Un total de 19 probe au avut rezultate finale nevalide și nu au fost incluse în calculul concordanței globale.

Variabilitatea totală a semnalului de HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 și HPIV-4, măsurată ca %CV, a variat de la 1,11% la 5,88% în cazul membrilor panelului cu rezultate scăzut pozitive și moderat pozitive. Pentru sursele de variație, cu excepția factorului „în cadrul rulării”, valorile %CV au fost $\leq 1,40\%$, așa cum se arată în Tabelul 16.

Tabelul 16: Variabilitatea semnalului testului Panther Fusion Paraflu în funcție de membrul panelului

			Între centre		Între operatori		Între zile		Între rulări		În cadrul rulărilor		Total	
Panel Descriere	N	Medie Ct	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
HPIV-1 Low 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 Low 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 Low 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 Low 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 = prag ciclu, CV = coeficient de variație, Mod = moderat, Pos = pozitiv, SD = deviație standard.

Notă: În cazul în care variabilitatea anumitor factori poate fi negativă din punct de vedere numeric, SD și CV sunt indicate ca 0,0.

Variabilitatea semnalului măsurată ca %CV a fost $\leq 3,01\%$ între centre, între operatori, între zile sau global pentru controalele pozitive ale testului Panther Fusion Paraflu (consultați Tabelul 17).

Tabelul 17: Variabilitatea controalelor testului Panther Fusion Paraflu

				Între centre		Între operatori		Între zile		Între rulări		În cadrul rulărilor		Total	
Control	Analit	N	Medie Ct	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	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 = prag ciclu, CV = coeficient de variație, Pos= pozitiv, SD = deviație standard.

Notă: În cazul în care variabilitatea anumitor factori poate fi negativă din punct de vedere numeric, SD și CV sunt indicate ca 0,0.

Bibliografie

1. Centers for Disease Control and Prevention. Human Parainfluenza Viruses (HPIVs). <http://www.cdc.gov/parainfluenza/index.html>. Accessed November 2015.
2. Bousse, T., and 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/>. Accessed February, 6, 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) 6th Edition; Web site. <https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>. November, 2020.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Document M29. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. CLSI Web site <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/> (April 4, 2022).

Date de contact și istoricul versiunilor



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



Adresa sponsorului australian:
Hologic (Australia și Noua Zeelandă) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Pentru adresa de e-mail și numărul de telefon ale Serviciului de asistență tehnică și de asistență pentru clienți specifice fiecărei țări, accesați www.hologic.com/support.

Acest produs este destinat exclusiv utilizării în diagnosticarea in vitro la pacienți umani.

Accidentele grave petrecute în raport cu dispozitivul în Uniunea Europeană trebuie raportate producătorului și autorității competente a Statului Membru în care este stabilit utilizatorul și/sau pacientul.

Hologic și Panther Fusion sunt mărci comerciale și/sau mărci comerciale înregistrate ale companiei Hologic, Inc. și/sau ale filialelor sale în Statele Unite și/sau în alte țări.

Toate celelalte mărci comerciale care apar în acest prospect aparțin proprietarilor respectivi.

Este posibil ca acest produs să fie acoperit de unul sau mai multe brevete SUA identificate la www.hologic.com/patents.

©2017–2025 Hologic, Inc. Toate drepturile rezervate.

AW-23708-3101 Rev. 001
2025-01

Istoric revizuiți	Data	Descriere
AW-23708 Rev. 001	Ianuarie 2025	- Au fost create instrucțiuni de utilizare (IU) pentru testul Panther Fusion Paraflu AW-23708 Rev. 001 pe baza AW-16163 Rev. 003 pentru conformitatea de reglementare cu IVDR. - A fost actualizată secțiunea Informații privind pericolele – UE. - Au fost actualizate secțiunile privind performanțele clinice: Informații privind studiile retrospective, prospective și de reproductibilitate, materiale necesare și disponibile separat și secțiunea Bibliografie. - Au fost adăugate informații privind stabilitatea eșantioanelor. - Au fost actualizate informațiile de contact, inclusiv: Reprezentant CE, marcaj CE, reprezentant Australia și asistență tehnică. - Diferite actualizări de stil și formatare.