

Flu A/B/RSV Assay (Panther Fusion™ System)

Per uso diagnostico *in vitro*.

Solo per l'esportazione dagli U.S.A.

SOMMARIO

Informazioni generali **2**

 Usato previsto 2

 Riepilogo e spiegazione del test 2

 Principi della procedura 3

 Avvertenze e precauzioni 4

 Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti 7

 Raccolta e conservazione dei campioni biologici 8

 Trasporto dei campioni biologici 9

Panther Fusion System **10**

 Reagenti e materiali forniti per il test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay 10

 Materiali richiesti e disponibili separatamente 11

 Procedura di analisi del Panther Fusion System 12

 Note procedurali 13

Controllo della qualità **13**

Interpretazione dei risultati **14**

Limiti **15**

Prestazioni del test Panther Fusion System **16**

 Prestazioni cliniche 16

 Sensibilità analitica 17

 Reattività 17

 Specificità analitica 19

 Interferenza competitiva 21

 Interferenza 22

 Contaminazione/Contaminazione crociata 23

 Precisione del test 23

Bibliografia **25**

Informazioni generali

Uso previsto

Panther Fusion™ Flu A/B/RSV Assay (test per i virus dell'influenza A/B/VRS di Panther Fusion™) è un test diagnostico *in vitro* PCR (RT-PCR) multiplex in tempo reale per il rilevamento rapido e qualitativo e la differenziazione del virus dell'influenza A, del virus dell'influenza B e del virus respiratorio sinciziale (VRS). Gli acidi nucleici vengono isolati e purificati da campioni di tampone nasofaringeo (NP, Nasopharyngeal) ottenuti da soggetti con segni e sintomi di un'infezione delle vie respiratorie.

Questo test è realizzato per essere utilizzato come ausilio nella diagnosi differenziale di infezioni da virus dell'influenza A, virus dell'influenza B e VRS nell'uomo e non è destinato all'utilizzo per il rilevamento delle infezioni da virus dell'influenza C. Risultati negativi non precludono la presenza di infezioni da virus dell'influenza A, virus dell'influenza B o VRS e non devono essere utilizzati come unica base per i trattamenti o per prendere altre decisioni sulla gestione. Questo test è destinato all'utilizzo sul Panther Fusion System.

Riepilogo e spiegazione del test

I virus respiratori sono responsabili di un'ampia gamma di infezioni acute delle vie respiratorie, tra cui il comune raffreddore, l'influenza e il croup e rappresentano la causa più comune di patologie acute negli Stati Uniti. La gravità del disturbo può essere particolarmente elevata nei pazienti giovani, anziani e immunocompromessi. Una diagnosi accurata e tempestiva della causa delle infezioni delle vie respiratorie presenta diversi vantaggi. Tra questi vi sono un migliore trattamento del paziente garantendo un'adeguata cura antivirale (ad es. oseltamivir per l'influenza), la riduzione del costo totale della cura e della selezione di organismi resistenti agli antimicrobici a causa dell'impiego eccessivo e inadeguato di antibiotici,¹ assistenza di personale specializzato nel controllo delle infezioni che fornisca adeguate misure per minimizzare la diffusione delle infezioni a livello nosocomiale e fornitura di importanti informazioni alle autorità sanitarie pubbliche relativamente ai virus in circolazione nella comunità.²

L'influenza è una patologia respiratoria acuta causata dall'infezione con il virus influenzale, i cui tipi principali sono A e B.³ I virus dell'influenza A sono ulteriormente classificati in sottotipi a seconda dei due principali antigeni della proteina di superficie: emoagglutinina (H) e neuraminidasi (N).⁴ I virus dell'influenza B non sono classificati in sottotipi.⁴ I virus dell'influenza subiscono continuamente mutazioni genetiche, tra cui deriva genetica (mutazione casuale) e variazione (riassortimento genomico), che generano nuovi ceppi di virus ogni anno, lasciando la popolazione vulnerabile a tali cambiamenti stagionali. Le epidemie si verificano ogni anno (generalmente in inverno) e sebbene sia il tipo A sia il tipo B circolino nella popolazione, di solito il tipo A è quello dominante. La trasmissione dell'influenza avviene principalmente tramite goccioline aerodisperse (tramite tosse o starnuti). I sintomi insorgono in media 1-2 giorni dopo l'esposizione e includono febbre, brividi, cefalea, malessere generale, tosse e rinite.

Le complicanze dovute all'influenza includono la polmonite che causa un incremento di morbilità e mortalità nella popolazione pediatrica, geriatrica e immunocompromessa. L'influenza si verifica a livello globale con un tasso di epidemia annuale stimato al 5% – 10% negli adulti e al 20% – 30% nei bambini. Le infezioni possono comportare il ricovero ospedaliero e il decesso principalmente nei gruppi ad alto rischio (pazienti molto giovani, anziani o i malati cronici). In tutto il mondo, si stima che tali epidemie annuali evolvano in circa 3 – 5 milioni di casi di infezioni gravi e circa 250.000 – 500.000 decessi.⁵

Il virus respiratorio sinciziale (VRS) è una delle cause principali delle infezioni respiratorie di neonati e bambini. Esistono 2 tipi di VRS (A e B) in base alle variazioni delle proteine antigeniche e di superficie.

La maggior parte delle epidemie annuali (generalmente durante l'inverno) contiene sia il virus A sia il virus B ma durante la stagione può prevalere un unico sottogruppo. L'infezione da VRS può causare gravi patologie respiratorie a tutte le età che, tuttavia, prevalgono maggiormente nella popolazione pediatrica, geriatrica e immunocompromessa. Ogni anno negli Stati Uniti, l'infezione da VRS viene associata a circa 57.527 ricoveri ospedalieri e 2,1 milioni di visite ambulatoriali tra bambini di età inferiore ai 5 anni, nonché 177.000 ricoveri ospedalieri e 14.000 decessi tra gli adulti di età superiore a 65 anni.⁶

Principi della procedura

Il test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay prevede le seguenti fasi: lisi del campione, cattura dell'acido nucleico e trasferimento dell'eluizione, nonché RT-PCR multiplex quando gli analiti vengono amplificati, rilevati e differenziati contemporaneamente. La cattura dell'acido nucleico e l'eluizione avvengono in una singola provetta sul Panther Fusion System. L'eluato viene trasferito sulla provetta di reazione del Panther Fusion System contenente i reagenti del test. L'RT-PCR multiplex viene quindi eseguito per l'acido nucleico eluito sul Panther Fusion System.

Cattura ed eluizione dell'acido nucleico: prima di procedere con il trattamento e l'analisi sul Panther Fusion System, i campioni biologici vengono trasferiti su una provetta per la lisi del campione contenente un terreno di trasporto per i campioni (STM) che lisa le cellule, rilascia l'acido nucleico target e li protegge dalla degradazione durante la conservazione.

Il controllo interno S (IC-S) viene aggiunto a ciascun campione da analizzare e ai controlli tramite il reagente di cattura S di lavoro Panther Fusion (wFCR-S). L'IC-S all'interno del reagente monitora il trattamento, l'amplificazione e il rilevamento dei campioni biologici.

Gli oligonucleotidi di cattura ibridizzano sull'acido nucleico nel campione biologico da analizzare. L'acido nucleico ibridizzato viene quindi separato dal campione biologico in un campo magnetico.

Le fasi di lavaggio servono a rimuovere i componenti esterni dalla provetta di reazione. La fase di eluizione eluisce l'acido nucleico purificato. Durante la fase di cattura ed eluizione dell'acido nucleico, l'acido nucleico totale viene isolato dai campioni biologici.

Trasferimento dell'eluizione e RT-PCR: durante la fase di trasferimento dell'eluizione, l'acido nucleico eluito viene trasferito su una provetta di reazione Panther Fusion contenente olio e Master Mix ricostituito.

L'amplificazione del target avviene mediante RT-PCR. Una trascrittasi inversa genera una copia di DNA della sequenza target. I primer diretto e inverso specifici del target e le sonde amplificano quindi i target durante il rilevamento e la discriminazione simultanei di diversi tipi di target tramite RT-PCR multiplex.

Il Panther Fusion System confronta il segnale di fluorescenza con un cutoff predeterminato per produrre un risultato qualitativo per la presenza o l'assenza dell'analita.

Gli analiti e il canale utilizzati per il relativo rilevamento sul Panther Fusion System sono riepilogati nella seguente tabella.

Analita	Gene interessato	Canale dello strumento
Virus dell'influenza A	Matrice	FAM
Virus respiratorio sinciziale A/B	Matrice	HEX
Virus dell'influenza B	Matrice	ROX
Controllo interno	Non applicabile	RED677




Avvertenze e precauzioni

- A. Per uso diagnostico *in vitro*.
- B. Leggere attentamente il foglietto illustrativo e il *Panther Fusion System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther Fusion System).
- C. Il reagente S di potenziamento Panther Fusion (FER-S) è corrosivo, pericoloso se ingerito e provoca gravi ustioni alla pelle e lesioni agli occhi.
- D. Solo il personale adeguatamente formato nell'utilizzo di questo test e nella manipolazione di materiali potenzialmente infettivi deve eseguire queste procedure. Se si verifica un versamento, disinfettare immediatamente seguendo le procedure del centro appropriate.
- E. Manipolare tutti i campioni come se fossero infetti, utilizzando procedure di laboratorio sicure come quelle indicate nella CDC/NIH Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e nel CLSI Document M29 Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections.

Nota: se si sospetta un'infezione con un nuovo virus dell'influenza A sulla base di criteri di screening clinici ed epidemiologici attuali raccomandati dalle autorità sanitarie pubbliche, raccogliere dei campioni seguendo le adeguate precauzioni per il controllo delle infezioni per nuovi virus dell'influenza virulenta e inviarli alle autorità sanitarie pubbliche o locali per effettuare un'analisi. Non tentare una coltura virale in questi casi, a meno che non sia disponibile una struttura BSL 3+ che riceva ed esegua una coltura dei campioni.

- F. Utilizzare solo contenitori da laboratorio monouso forniti o indicati in modo specifico come monouso.
- G. Quando si maneggiano campioni e reagenti, indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio. Lavarsi accuratamente le mani dopo aver maneggiato campioni e reagenti.
- H. Smaltire tutto il materiale che è entrato in contatto con campioni e reagenti in conformità alle normative nazionali, internazionali e regionali in vigore.
- I. Le date di scadenza elencate sulle provette per la lisi del campione Panther Fusion si riferiscono al trasferimento del campione nella provetta e non all'analisi del campione. I campioni raccolti/trasferiti in qualsiasi momento precedente a queste date di scadenza sono validi per l'analisi purché siano trasportati e conservati secondo le istruzioni incluse nel rispettivo foglietto illustrativo, anche se queste date di scadenza sono state superate.

- J. Mantenere le corrette condizioni di conservazione durante la spedizione del campione per assicurarne l'integrità. La stabilità del campione in condizioni di spedizione diverse da quelle raccomandate non è stata determinata.
- K. Evitare la contaminazione crociata durante i procedimenti di manipolazione dei campioni. I campioni biologici possono contenere livelli di virus o altri organismi estremamente alti. Assicurarsi che i contenitori dei campioni non vengano in contatto tra di loro ed eliminare i materiali usati senza farli passare sopra i contenitori aperti. Cambiare i guanti se vengono a contatto con i campioni biologici.
- L. Non utilizzare i reagenti e i controlli dopo la data di scadenza.
- M. Conservare i componenti dei test alle condizioni di conservazione raccomandate. Per ulteriori informazioni consultare *Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti* (pagina 7) e *Procedura di analisi con Panther Fusion System* (pagina 12).
- N. Non combinare liquidi o reagenti del test. Non rabboccare reagenti o liquidi: il Panther Fusion System verifica i livelli dei reagenti.
- O. Evitare la contaminazione microbica e da ribonucleasi dei reagenti.
- P. I requisiti del controllo di qualità devono essere analizzati in conformità alle normative nazionali, internazionali e/o regionali in vigore o ai requisiti di accreditamento e le procedure di controllo di qualità standard del proprio laboratorio. Fare riferimento al documento CLSI C24-A3, *Statistical Quality Control for Quantitative Measurements: Principles and Definitions*: (Controllo statistico di qualità per le misurazioni quantitative: principi e definizioni [Linee guida approvate – Terza edizione]) o altre linee guida pubblicate per il controllo generale della qualità. Per ulteriori istruzioni su adeguate prassi di controllo della qualità, fare riferimento a 42 CFR 493.1205.
- Q. Non utilizzare la cartuccia del test se il sacchetto di conservazione non presenta più il sigillo o se la pellicola della cartuccia del test non è integra. In tali casi contattare Hologic.
- R. Non utilizzare le confezioni di liquido se il sigillo della pellicola presenta delle perdite. In tal caso contattare Hologic.
- S. Manipolare con cura le cartucce del test. Non far cadere o capovolgere le cartucce del test. Evitare un'esposizione prolungata alla luce ambientale.

	<p>Panther Fusion Oil <i>Polydimethylsiloxane 100%</i></p>
<p>Avvertenza</p>	<p>H315 - Provoca irritazione cutanea H319 - Provoca grave irritazione oculare</p>
	<p>Panther Fusion Enhancer Reagent-S <i>Lithium Hydroxide Monohydrate 5-10%</i></p>
	<p>Pericolo H302 - Nocivo se ingerito H314 - Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari P280 - Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso P260 - Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol P303 + P361 + P353 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gliindumenti contaminati. Sciacquare la pelle/fare una doccia P280 - Proteggere gli occhi/il viso P305 + P351 + P338 - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare P310 - Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico</p>

Nota: per informazioni sulle dichiarazioni relative a pericoli e precauzioni che potrebbero essere associate ai reagenti, consultare la libreria delle schede di sicurezza reperibile sul sito www.hologic.com/sds.

Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

A. La seguente tabella indica i requisiti di conservazione e manipolazione per questo test.

Reagente	Conservazione a confezione chiusa	Stabilità a bordo/aperta ¹	Conservazione a confezione aperta
Cartuccia del test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay	Da 2 °C a 8 °C	60 giorni	Da 2 °C a 8 °C ²
Reagente S di cattura Panther Fusion (FCR-S)	Da 15 °C a 30 °C	30 giorni	Da 15 °C a 30 °C
Reagente S di potenziamento Panther Fusion (FER-S)	Da 15 °C a 30 °C	30 giorni	Da 15 °C a 30 °C
Controllo interno S Panther Fusion (IC-S)	Da 2 °C a 8 °C	(In wFCR-S)	Non applicabile
Tampone di eluizione Panther Fusion	Da 15 °C a 30 °C	60 giorni	Da 15 °C a 30 °C
Olio Panther Fusion	Da 15 °C a 30 °C	60 giorni	Da 15 °C a 30 °C
Tampone di ricostituzione I Panther Fusion	Da 15 °C a 30 °C	60 giorni	Da 15 °C a 30 °C
Controllo positivo Panther Fusion Flu A/B/RSV	Da 2 °C a 8 °C	Fiala monouso	Non applicabile - monouso
Controllo negativo Panther Fusion	Da 2 °C a 8 °C	Fiala monouso	Non applicabile - monouso

Quando i reagenti vengono rimossi dal Panther Fusion System, riportarli immediatamente alle loro temperature di conservazione appropriate.

¹ La stabilità a bordo inizia nel momento in cui il reagente viene collocato sul Panther Fusion System per la cartuccia del test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay, FCR-S, FER-S e IC-S. La stabilità a bordo inizia per il tampone di ricostituzione I Panther Fusion, il tampone di eluizione Panther Fusion e il reagente oleoso Panther Fusion quando la confezione di reagente viene utilizzata per la prima volta.

² Se rimossa dal Panther Fusion System, conservare la cartuccia del test in un contenitore ermetico con essiccante alla temperatura di conservazione raccomandata.

- B. Il reagente S di cattura di lavoro Panther Fusion e il reagente S di potenziamento Panther Fusion sono stabili per 60 giorni se tappati e conservati a una temperatura di 15 °C – 30 °C. Non refrigerare.
- C. Scartare eventuali reagenti inutilizzati che hanno superato la relativa stabilità a bordo.
- D. I controlli sono stabili fino alla data indicata sulle fiale.
- E. Evitare la contaminazione crociata durante la manipolazione e la conservazione del reagente.
- F. **Non congelare i reagenti.**

Raccolta e conservazione dei campioni biologici

Campioni biologici - Materiale clinico raccolto dal paziente e collocato in un apposito sistema di trasporto. Per il test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay, include i campioni di tampone NP nel terreno di trasporto virale (VTM).

Campioni - Rappresenta un termine più generico per descrivere qualsiasi materiale da analizzare sul Panther Fusion System tra cui campioni biologici, campioni biologici trasferiti in una provetta per la lisi del campione Panther Fusion, nonché i controlli.

Nota: *maneggiare tutti i campioni come se contenessero agenti potenzialmente infettivi. Adottare le precauzioni universali.*

Nota: *prestare attenzione a evitare la contaminazione crociata durante le fasi di manipolazione dei campioni biologici. Ad esempio, smaltire il materiale utilizzato senza farlo passare sulle provette aperte.*

A. Raccolta dei campioni biologici

Raccogliere i campioni di tampone NP in conformità alla tecnica standard utilizzando un tampone con punta in poliestere, rayon o nylon. Collocare immediatamente il campione di tampone in 3 ml di VTM.

I seguenti tipi di VTM sono stati verificati per l'utilizzo.

- Formulazioni Remel MicroTest M4, M4RT, M5 o M6
- Terreno di trasporto universale Copan
- Terreno di trasporto virale universale BD

B. Trattamento dei campioni biologici

1. Prima di eseguire un'analisi sul Panther Fusion System, trasferire il campione biologico* in una provetta per la lisi del campione Panther Fusion.

- Trasferire 500 µl dei campioni di tampone NP in una provetta per la lisi del campione Panther Fusion.

***Nota:** *quando si analizza un campione congelato, lasciare che quest'ultimo raggiunga la temperatura ambiente prima del trattamento.*

2. Conservazione dei campioni biologici prima dell'analisi

- a. Dopo la raccolta, i campioni biologici possono essere conservati a una temperatura di 2 °C – 8 °C fino a 96 ore prima di essere trasferiti nella provetta per la lisi del campione Panther Fusion. I volumi dei campioni biologici rimanenti possono essere conservati a una temperatura di ≤-70 °C.
- b. Il campione biologico contenuto nella provetta per la lisi del campione Panther Fusion può essere conservato a una delle seguenti condizioni:
 - a una temperatura di 15 °C – 30 °C fino a 6 giorni
 - a una temperatura di 2 °C – 8 °C fino a 3 mesi

Nota: *si raccomanda di trasferire la provetta per la lisi del campione Panther Fusion tappata e in posizione verticale all'interno di una rastrelliera.*

C. I campioni a bordo del Panther Fusion System possono essere archiviati per ulteriori analisi in un secondo momento.

D. Conservazione dei campioni dopo l'analisi

1. I campioni analizzati devono essere conservati in posizione verticale all'interno della rastrelliera a una delle seguenti condizioni:
 - a una temperatura di 15 °C – 30 °C fino a 6 giorni
 - a una temperatura di 2 °C – 8 °C fino a 3 mesi
2. I campioni devono essere coperti con una nuova barriera pulita di pellicola di plastica o di alluminio.
3. Se i campioni analizzati devono essere congelati o spediti, rimuovere i tappi penetrabili dalle provette dei campioni e sostituirli con nuovi tappi non penetrabili. Se i campioni devono essere spediti per essere sottoposti ad analisi in un'altra struttura, occorre mantenere le temperature consigliate. Prima di rimuovere i tappi dalle provette di campioni precedentemente analizzati che sono state richiuse, occorre sottoporre a centrifuga le provette di trasporto dei campioni per 5 minuti a una forza centrifuga relativa (RCF) di 420 per portare tutto il liquido verso il basso sul fondo della provetta. Evitare schizzi e contaminazione crociata.

Trasporto dei campioni biologici

Mantenere le condizioni di conservazione dei campioni biologici come descritto nella sezione *Raccolta e conservazione dei campioni biologici* a pagina 8.

Nota: *i campioni devono essere spediti in conformità alle normative sul trasporto nazionali, internazionali e regionali applicabili.*

Panther Fusion System

Il Panther Fusion System è un sistema integrato di test dell'acido nucleico che automatizza completamente tutti i passaggi necessari per eseguire i vari test Panther Fusion, dal trattamento dei campioni alle operazioni di amplificazione, rilevamento e riduzione dei dati.

Reagenti e materiali forniti per il test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay

Confezioni dei test

Componenti ¹	Codice	Conservazione
Cartucce del test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay - 96 test Cartuccia del test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay, 12 test, 8 per confezione	PRD-04328	Da 2 °C a 8 °C
Controllo interno S Panther Fusion - 960 test Provetta di controllo interno S Panther Fusion, 4 per confezione	PRD-04332	Da 2 °C a 8 °C
Controlli del test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay Provetta di controllo positivo Panther Fusion Flu A/B/RSV, 5 per confezione Provetta di controllo negativo Panther Fusion, 5 per confezione	PRD-04336	Da 2 °C a 8 °C
Reagente S di estrazione Panther Fusion - 960 test Flacone di reagente S di acquisizione Panther Fusion, 240 test, 4 per confezione Flacone di reagente S di potenziamento Panther Fusion, 240 test, 4 per confezione	PRD-04331	Da 15 °C a 30 °C
Tampone di eluizione Panther Fusion - 2400 test Confezione di tamponi di eluizione Panther Fusion, 1200 test, 2 per confezione	PRD-04334	Da 15 °C a 30 °C
Tampone di ricostituzione I Panther Fusion - 1920 test Confezione di tamponi di ricostituzione I Panther Fusion, 960 test, 2 per confezione	PRD-04333	Da 15 °C a 30 °C
Reagente oleoso Panther Fusion - 1920 test Confezione di reagenti oleosi Panther Fusion, 960 test, 2 per confezione	PRD-04335	Da 15 °C a 30 °C

¹ I componenti possono essere ordinati anche nei seguenti gruppi:

Kit dei liquidi universali Panther Fusion, PRD-04430, contiene 1 olio Panther Fusion e 1 tampone di eluizione Panther Fusion ciascuno.

Liquidi per test I-S Panther Fusion, PRD-04431, contiene 2 reagenti S di estrazione Panther Fusion, 2 controlli interni S Panther Fusion e 1 tampone di ricostituzione I Panther Fusion.

Articoli confezionati singolarmente

Articoli	Codice
Provette per la lisi del campione Panther Fusion, 100 per sacchetto	PRD-04339

Materiali richiesti e disponibili separatamente

Nota: salvo altrimenti specificato, per i materiali resi disponibili da Hologic sono indicati i rispettivi numeri di catalogo.

Materiale	N. di cat.
Panther System	303095
Modulo Panther Fusion	ASY-09600
Kit di liquidi per test Aptima (soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente oleoso Aptima)	303014 (1000 test)
Unità multiprovetta (MTU)	104772-02
Kit dei sacchetti di rifiuti Panther	902731
Coperchio del contenitore per rifiuti Panther	504405
Oppure kit procedurale Panther System per test in tempo reale contiene MTU, sacchetti per rifiuti, coperchi del contenitore per i rifiuti, liquidi del test	PRD-03455 (5000 test)
Oppure kit procedurale Panther System (quando si eseguono test TMA parallelamente a test TMA in tempo reale) contiene MTU, sacchetti per rifiuti, coperchi del contenitore per i rifiuti, rilevamenti automatici* e liquidi del test	303096 (5000 test)
Cassette di provette Panther Fusion, 1008 test, 18 cassette per confezione	PRD-04000
Puntali monouso per gestione dei liquidi (LiHa), 1000 µl	10612513 (Tecan)
Tappi penetrabili Aptima (facoltativi)	105668
Tappi non penetrabili di ricambio (facoltativi)	103036A
Tappi di sostituzione del flacone di reagente di estrazione	CL0040
Pipettatore e puntali P1000 con tappi idrofobi	-
Candeggina, soluzione di ipoclorito di sodio al 5% – 7% (0,7 M – 1,0 M) Nota: miscelare una parte di candeggina con una parte di acqua deionizzata per creare una soluzione candeggiante diluita [soluzione di ipoclorito di sodio 2,5% – 3,5% (0,35 M – 0,5 M)].	-
Guanti monouso senza talco	-

*Necessario solo per i test Panther Aptima TMA.

Procedura di analisi del Panther Fusion System

Nota: per ulteriori informazioni procedurali, consultare il *Panther Fusion System Operator's Manual*.

A. Preparazione dell'area di lavoro

1. Passare sulle superfici di lavoro una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5% – 3,5% (0,35 M – 0,5 M). Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici per almeno 1 minuto e risciacquare con acqua deionizzata (DI). Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco con teli da banco di laboratorio puliti, assorbenti e plastificati.
2. Pulire una superficie di lavoro separata in cui saranno preparati i campioni utilizzando la procedura descritta nella fase A.1.

B. Preparazione del reagente

1. Rimuovere i flaconi di IC-S, FCR-S e FER-S dal luogo di conservazione.
2. Aprire i flaconi di IC-S, FCR-S e FER-S e gettare i tappi. Aprire lo sportello del TCR sullo scomparto superiore del Panther Fusion System.
3. Collocare i flaconi di IC-S, FCR-S e FER-S nelle posizioni appropriate sul carosello del TCR.
4. Chiudere lo sportello del TCR.

Nota: il Panther Fusion System aggiunge l'IC-S sul FCR-S. Dopo l'aggiunta di IC-S a FCR-S, vi si fa riferimento come wFCR-S (FCR-S di lavoro). Se FCR-S e FER-S vengono rimossi dal sistema, utilizzare nuovi tappi e conservare immediatamente in conformità alle corrette condizioni di conservazione.

C. Manipolazione dei campioni

Nota: preparare i campioni in base alle istruzioni di trattamento dei campioni contenute nella sezione *Raccolta e conservazione dei campioni prima di caricare i campioni sul Panther Fusion System*.

1. **Non miscelare i campioni con vortex.**
2. Ispezionare le provette del campione prima di caricarle nella rastrelliera. Se una provetta del campione contiene bolle o ha un volume inferiore rispetto a quello osservato normalmente, battere delicatamente sul fondo della provetta per favorire il deposito del contenuto sulla parte inferiore.

Nota: per evitare un errore di trattamento, garantire che venga aggiunto un adeguato volume di campione alla provetta per la lisi del campione Panther Fusion. Quando si aggiungono 500 µl di campione di tampone NP alla provetta per la lisi del campione Panther Fusion, il volume è sufficiente per eseguire 3 estrazioni dell'acido nucleico.

D. Preparazione del sistema

Per istruzioni sulla configurazione del Panther Fusion System, tra cui il caricamento di campioni, reagenti, cartucce del test e liquidi universali, fare riferimento al *Panther Fusion System Operator's Manual*.

Note procedurali

A. Controlli

1. Il controllo positivo Panther Fusion Flu A/B/RSV e il controllo negativo Panther Fusion possono essere caricati in qualsiasi posizione della rastrelliera, in qualsiasi corsia dello scomparto dei campioni sul Panther Fusion System.
2. Quando le provette di controllo vengono pipettate e trattate per il test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay, sono attive fino a 30 giorni (frequenza del controllo configurata da un amministratore) a meno che i risultati del controllo risultino non validi o non venga caricata una nuova cartuccia del test.
3. Ciascuna provetta di controllo può essere analizzata una volta.
4. La pipettatura dei campioni del paziente inizia dopo che viene soddisfatta una delle due seguenti condizioni:
 - a. I risultati validi dei controlli sono stati registrati nel sistema.
 - b. Un paio di controlli è in fase di elaborazione da parte del sistema.

Controllo della qualità

Una sessione analitica o il risultato di un campione biologico possono essere invalidati dal Panther Fusion System se si verificano problemi durante l'esecuzione del test. I campioni biologici con risultati non validi devono essere rianalizzati.

Controlli positivi e negativi

Per generare risultati validi è necessario analizzare un set di controlli del test. Un replicato del controllo del test negativo e del controllo del test positivo deve essere analizzato ogni volta che un nuovo lotto di cartucce del test viene caricato sul Panther Fusion System o quando la serie corrente di controlli validi per un lotto di cartucce attive è scaduta.

Il Panther Fusion System è configurato in modo che richieda analisi di controlli del test a un intervallo specificato dall'amministratore di un massimo di 30 giorni. Il software sul Panther Fusion System avvisa l'operatore quando sono necessari controlli del test e non avvia nuove analisi finché i controlli del test non vengono caricati e non hanno iniziato il trattamento.

Durante il trattamento, i criteri per l'accettazione dei controlli del test vengono verificati automaticamente dal Panther Fusion System. Per generare risultati validi, i controlli del test devono superare una serie di verifiche di validità eseguite dal Panther Fusion System.

Se i controlli del test superano tutte le verifiche di validità, sono considerati validi per l'intervallo di tempo specificato dall'amministratore. Quando l'intervallo di tempo è trascorso, il Panther Fusion System contrassegna i controlli del test come scaduti e richiede una nuova serie di controlli del test prima di avviare analisi di qualsiasi nuovo campione.

Se uno qualunque dei controlli del test non supera le verifiche di validità, il Panther Fusion System annulla automaticamente i campioni interessati e richiede una nuova serie di controlli del test prima di avviare analisi di qualsiasi nuovo campione.

Controllo interno

Durante il processo di estrazione viene aggiunto un controllo interno a ciascun campione. Durante il trattamento, i criteri di accettabilità del controllo interno vengono verificati automaticamente dal software del Panther Fusion System. Il rilevamento del controllo interno non è richiesto per campioni positivi per Flu A, Flu B e/o VRS. Il controllo interno deve essere rilevato in tutti i campioni negativi per i target Flu A, Flu B e VRS; i campioni che non soddisfano tali criteri saranno segnalati come non validi. Ogni campione con un risultato non valido deve essere rianalizzato.

Il Panther Fusion System è progettato per verificare in maniera accurata i processi quando le procedure vengono eseguite rispettando le istruzioni fornite nel presente foglietto illustrativo e nel *Panther Fusion System Operator's Manual*.

Interpretazione dei risultati

Il Panther Fusion System determina automaticamente i risultati del test per campioni e controlli. I risultati per rilevamento di Flu A, Flu B e VRS sono riportati separatamente. Un risultato del test potrebbe essere negativo, positivo o non valido.

La Tabella 1 mostra i possibili risultati riportati in un'analisi valida con le interpretazioni dei risultati.

Tabella 1: Interpretazione dei risultati

Risultato Flu A	Risultato Flu B	Risultato VRS	Risultato IC	Interpretazione
Neg	Neg	Neg	Valido	Flu A, Flu B e VRS non rilevati.
POS	Neg	Neg	Valido	Flu A rilevato. Flu B e VRS non rilevati.
Neg	POS	Neg	Valido	Flu B rilevato. Flu A e VRS non rilevati.
Neg	Neg	POS	Valido	VRS rilevato. Flu A e Flu B non rilevati.
POS	POS	Neg	Valido	Flu A e Flu B rilevati. VRS non rilevato.
Neg	POS	POS	Valido	Flu B e VRS rilevati. Flu A non rilevato.
POS	Neg	POS	Valido	Flu A e VRS rilevati. Flu B non rilevato.
POS	POS	POS	Valido	Flu A, Flu B e VRS rilevati. Le infezioni triple sono rare. Rieseguire l'analisi per confermare il risultato.
Non valido	Non valido	Non valido	Non valido	Non valido. Si è verificato un errore nella generazione del risultato; rianalizzare il campione.

Nota: il risultato POS sarà accompagnato dai valori della soglia di ciclo (Ct).

Limiti

- A. L'utilizzo di questo test va limitato al personale addestrato nella relativa procedura. La mancata osservanza delle istruzioni fornite può determinare risultati erranei.
- B. L'affidabilità dei risultati è subordinata alla raccolta, al trasporto, alla conservazione e al trattamento adeguati del campione.
- C. Evitare la contaminazione aderendo alle buone pratiche di laboratorio e alle procedure specificate nel presente foglietto illustrativo.
- D. Risultati negativi non precludono la presenza di infezioni da virus dell'influenza A, virus dell'influenza B o VRS e non devono essere utilizzati come unica base per i trattamenti o per prendere altre decisioni sulla gestione.
- E. Questo test non distingue i sottotipi di influenza A (ossia H1N1, H3N2) o i sottogruppi di VRS (ossia A o B); è necessaria una nuova analisi per differenziare qualsiasi sottotipo specifico dell'influenza A oppure ceppi o sottogruppi specifici di VRS, consultando le autorità sanitarie pubbliche locali.
- F. Un risultato positivo indica il rilevamento di acido nucleico dal virus pertinente. L'acido nucleico potrebbe persistere anche dopo che il virus non è più trattabile.

Prestazioni del test Panther Fusion System

Prestazioni cliniche

Per la valutazione sono stati utilizzati campioni di tampone NP raccolti in maniera retrospettiva da pazienti statunitensi con riferimento ai risultati del test. I risultati sono riassunti nelle tabelle 2, 3 e 4.

Per i campioni di tampone NP, 500 microlitri (µl) sono stati diluiti in una provetta per la lisi del campione contenente 780 µl di terreno di trasporto dei campioni (STM) e un singolo replicato è stato analizzato con il test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay. Il risultato è stato confrontato con un risultato del test dell'acido nucleico (NAT) approvato dall'FDA. Sono state determinate la sensibilità e la specificità per il rilevamento degli acidi nucleici di Flu A, Flu B e VRS.

È stato analizzato un totale di 716 campioni di tampone NP con il test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay e con Luminex xTAG® Respiratory Viral Panel o Luminex xTAG® Respiratory Viral Panel FAST v2 o GenMark Dx eSensor Respiratory Viral Panel. La sensibilità e la specificità per il rilevamento degli acidi nucleici di Flu A, Flu B e VRS sono mostrate di seguito.

Tabella 2: Risultati per Flu A

Tipo di campione	N	Flu A+		Flu A-		Sensibilità o concordanza positiva IC 95%	Specificità o concordanza negativa IC 95%	Concordanza complessiva IC 95%
		Fusion Flu A +	Fusion Flu A -	Fusion Flu A +	Fusion Flu A -			
Tampone nasofaringeo	716	331	4*	4**	377	98,8%	99,0%	98,9%
						97,0% – 99,5%	97,3% – 99,6%	97,8% – 99,4%

* Due campioni discordanti su 4 analizzati con un test RT-PCR sviluppato e convalidato in sede. Flu A non è stato rilevato in nessuno dei campioni biologici. I campioni discordanti non analizzati presentavano volumi insufficienti.

** Tutti i 4 campioni discordanti sono stati analizzati con un test RT-PCR sviluppato e convalidato in sede. Flu A è stato rilevato in 3 campioni biologici su 4.

Tabella 3: Risultati per Flu B

Tipo di campione	N	Flu B+		Flu B-		Sensibilità o concordanza positiva IC 95%	Specificità o concordanza negativa IC 95%	Concordanza complessiva IC 95%
		Fusion Flu B +	Fusion Flu B -	Fusion Flu B +	Fusion Flu B -			
Tampone nasofaringeo	716	74	0	1*	641	100,0%	99,8%	99,9%
						95,1% – 100,0%	99,1% – 100,0%	99,2% – 100,0%

* Flu B è stato rilevato quando è stato analizzato con un test RT-PCR sviluppato e convalidato in sede.

Tabella 4: Risultati per VRS

Tipo di campione	N	VRS+		VRS-		Sensibilità o concordanza positiva IC 95%	Specificità o concordanza negativa IC 95%	Concordanza complessiva IC 95%
		Fusion VRS +	Fusion VRS -	Fusion VRS +	Fusion FSV -			
Tampone nasofaringeo	716	305	2*	4**	405	99,3% 97,7% – 99,8%	99,0% 97,5% – 99,6%	99,2% 98,2% – 99,6%

* Entrambi i campioni discordanti sono stati analizzati con un test RT-PCR sviluppato e convalidato in sede. VRS non è stato rilevato.

** Due campioni discordanti su 4 sono stati analizzati con un test RT-PCR sviluppato e convalidato in sede. VRS è stato rilevato in entrambi i campioni biologici. I campioni discordanti non analizzati presentavano volumi insufficienti.

Sensibilità analitica

La sensibilità analitica (limite di rilevamento o LoD) del test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay è stata determinata mediante un'analisi in pool dei campioni clinici negativi Flu A/B/VRS corretti con le seguenti colture di virus a varie concentrazioni: 4 ceppi di Flu A, 2 ceppi di Flu B, 1 ceppo per ciascun VRS A e VRS B. Dodici replicati sono stati analizzati con ognuno dei tre lotti di reagente per un totale combinato di 36 replicati. Le concentrazioni LoD specifiche del target sono state verificate mediante l'analisi di ulteriori 20 replicati con un unico lotto di reagente. La sensibilità analitica (LoD) è definita come la concentrazione minore a cui $\geq 95\%$ di tutti i replicati analizzati sono risultati positivi, come riepilogato nella Tabella 5.

Tabella 5: Sensibilità del tampone NP

Ceppo virale	Concentrazione LoD
Influenza A/California/07/2009 (H1N1)	$1 \times 10^{-1,0}$ TCID ₅₀ /ml
Influenza A/Massachusetts/15/13 (H1N1)	$1 \times 10^{-1,5}$ TCID ₅₀ /ml
Influenza A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2)	$1 \times 10^{-1,5}$ TCID ₅₀ /ml
Influenza A/Victoria/361/2011 (H3N2)	$1 \times 10^{-1,5}$ TCID ₅₀ /ml
Influenza B/Brisbane/33/08	$1 \times 10^{-0,5}$ TCID ₅₀ /ml
Influenza B/Massachusetts/02/2012	$1 \times 10^{-2,0}$ TCID ₅₀ /ml
VRS A	$1 \times 10^{0,5}$ TCID ₅₀ /ml
VRS B	$1 \times 10^{0,0}$ TCID ₅₀ /ml

Reattività

La reattività del test Panther Fusion è stata valutata in base a diversi ceppi di virus di influenza A, influenza B e virus respiratorio sinciziale. I ceppi virali sono stati analizzati in triplicato con ognuno dei tre lotti di reagente per un totale combinato di 9 replicati. I virus presenti a concentrazioni inferiori rispetto a quelli analizzati per la reattività potrebbero non essere rilevati dal test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay.

Tabella 6: Riepilogo dei test di reattività analitica (inclusività)

Descrizione	Tipo	Concentrazione	Flu A	Flu B	VRS
A/Aichi/2/1968	Influenza A/H3N2	1 x 10 ² CEID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Brazil/02/1999	Influenza A/H3N2	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Brazil/1137/1999	Influenza A/H3N2	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Brisbane/59/2007	Influenza A/H1N1	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/California/07/2009	Influenza A/H1N1	1 x 10 ⁻¹ TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Costa Rica/07/1999	Influenza A/H3N2	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Denver/1/57	Influenza A/H1N1	1 x 10 ² CEID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Dominican Republic/7293/13	Influenza A/H1N1	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Fujian/156/2000	Influenza A/H1N1	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Georgia/F32551/12 2009	Influenza A/H1N1	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Hawaii/15/2001	Influenza A/H1N1	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Henan/8/2005	Influenza A/H1N1	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Hiroshima/52/2005	Influenza A/H3N2	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Hong Kong/218/2006	Influenza A/H3N2	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Hong Kong/4801/2014	Influenza A/H3N2	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Hong Kong/486/97 RNA	Influenza A/H5N1	16,4 ng/ml	+	-	-
A/Hong Kong/8/1968	Influenza A/H3N2	1 x 10 ² CEID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Indiana/08/2011	Influenza A/H3N2	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Japan/305/1957	Influenza A/H2N2	0,003 ug/ml	+	-	-
A/Jiangxi/160/2005	Influenza A/H1N1	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Kentucky/2/2006	Influenza A/H1N1	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Malaya/302/54	Influenza A/H1N1	1 x 10 ² CEID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Mexico/4108/2009	Influenza A/H1N1	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Minnesota/11/2010	Influenza A/H3N2	36 ng/ml	+	-	-
A/New Jersey/8/1976	Influenza A/H1N1	1 x 10 ³ TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Ohio/09SW1477/2009	Influenza A/H1N2	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Perth/16/2009	Influenza A/H3N2	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Port Chalmers/1/1973	Influenza A/H3N2	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Puerto Rico/8/34	Influenza A/H1N1	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Solomon Islands/03/2009	Influenza A/H1N1	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Switzerland/9715293/2013	Influenza A/H3N2	1 x 10 ^{-1.5} TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Taiwan/42/2006	Influenza A/H1N1	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Victoria/3/1975	Influenza A/H3N2	1 x 10 ² CEID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Vietnam/1203 RNA	Influenza A/H5N1	0,27 ug/ml	+	-	-
A/WS/33	Influenza A/H1N1	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
B/Brisbane/60/2008	Influenza B	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	-	+	-
B/Florida/2/2006 (Yamagata lineage)	Influenza B	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	-	+	-
B/Florida/7/2004	Influenza B	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	-	+	-
B/Hawaii/11/2005	Influenza B	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	-	+	-
B/Hawaii/33/2004	Influenza B	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	-	+	-

Tabella 6: Riepilogo dei test di reattività analitica (inclusività) (continua)

Descrizione	Tipo	Concentrazione	Flu A	Flu B	VRS
B/Lee/40	Influenza B	1 x 10 ² CEID ₅₀ /ml	-	+	-
B/Michigan/2/2006	Influenza B	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	-	+	-
B/Ohio/1/2005	Influenza B	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	-	+	-
B/Panama/45/90	Influenza B	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	-	+	-
B/Phuket/3073/2013 (Victoria Lineage)	Influenza B	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	-	+	-
B/St. Petersburg/04/2006	Influenza B	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	-	+	-
RSV A/A2	VRS	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	-	-	+
RSV A/Long	VRS	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	-	-	+
RSV A/Vero	VRS	1 x 10 ² CEID ₅₀ /ml	-	-	+
RSV B/9320	VRS	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	-	-	+
RSV B/Wash/18537/62	VRS	2 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	-	-	+

Tabella 7: Riepilogo dei test di reattività analitica (inclusività) aggiuntivo

Descrizione	Tipo	Concentrazione	Flu A	Flu B	VRS
A/Chicken/Germany/N/49	Influenza A/H10N7	68 ng/ml	+	-	-
A/Duck/Alberta/35/76	Influenza A/H1N1	1 ng/ml	+	-	-
A/Duck/Chabarovsk/1610/1972	Influenza A/H3N8	1 ng/ml	+	-	-
A/Duck/Czechoslovakia/1956	Influenza A/H4N6	2,6 ng/ml	+	-	-
A/Duck/Memphis/546/1974	Influenza A/H11N9	8 ng/ml	+	-	-
A/Duck/Pennsylvania/10218/1984	Influenza A/H5N2	3 ng/ml	+	-	-
A/Duck/Singapore/645/97	Influenza A/H5N3	2 ng/ml	+	-	-
A/Duck/Ukraine/1963	Influenza A/H3N8	3 ng/ml	+	-	-
A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014	Influenza A/H5N8	1 x 10 ³ TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Northern pintail/Washington/40964/2014	Influenza A/H5N2	1 x 10 ³ TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Swine/NY/01/2009	Influenza A/H1N1	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Swine/Iowa/2006	Influenza A/H1N1	1 x 10 ² CEID ₅₀ /ml	+	-	-
A/Turkey/Massachusetts/3740/1965	Influenza A/H6N2	1 ng/ml	+	-	-
A/Turkey/Ontario/6118/1968	Influenza A/H8N4	2 ng/ml	+	-	-
A/Turkey/Wisconsin/1/1966	Influenza A/H9N2	23 ng/ml	+	-	-

Specificità analitica

La specificità analitica del test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay è stata valutata mediante l'analisi di un pannello di 52 organismi comprendente 25 ceppi virali, 26 ceppi batterici e 1 ceppo di lieviti, indicanti comuni patogeni respiratori o germi comunemente presenti nelle vie respiratorie. Batteri e lieviti sono stati analizzati a concentrazioni di 10⁵ – 10⁸ CFU/ml o IFU/ml, tranne laddove annotato. I virus sono stati analizzati a concentrazioni di 10³ – 10⁷ TCID₅₀/ml.

La specificità analitica del test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay è risultata pari al 100% per Flu A, Flu B e VRS.

Tabella 8: Risultati relativi alla specificità

Organismo	Concentrazione	Flu A	Flu B	VRS
Adenovirus 1	1 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
Adenovirus 7a	1 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1 x 10 ⁷ CFU/ml	-	-	-
<i>Bordetella pertussis</i>	1 x 10 ⁸ CFU/ml	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 ⁷ CFU/ml	-	-	-
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 x 10 ⁵ CFU/ml	-	-	-
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> (in precedenza noto come <i>Chlamydia pneumoniae</i>)	1 x 10 ⁵ IFU/ml	-	-	-
Ceppo CMV AD 169	1 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
Coronavirus 229E	1 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
<i>Corynebacterium diphtheria</i>	1 x 10 ⁷ CFU/ml	-	-	-
Coxsackie B4	1 x 10 ⁶ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
Coxsackie B5/10/2006	1 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
<i>E. coli</i>	1 x 10 ⁷ CFU/ml	-	-	-
EBV	1 x 10 ⁷ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
Echovirus 2	1 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
Echovirus 3	1 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
Echovirus 6	1 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
Echovirus 11	1 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
Enterovirus 68	1 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
Enterovirus 70	1 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
<i>Haemophilus Influenzae</i>	1 x 10 ⁷ CFU/ml	-	-	-
hMPV sottotipo A2	1 x 10 ⁶ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
HPIV-1	1 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
HPIV-2	1 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
HPIV-3	1 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
HPIV-4	1 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
Ceppo HSV-1 Macinytre	1 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
Ceppo HSV-2 tipo 2G	1 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
<i>Klebsiella pneumonia</i>	1 x 10 ⁷ CFU/ml	-	-	-
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1 x 10 ⁷ CFU/ml	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	1 x 10 ⁷ CFU/ml	-	-	-
Morbillo/7/2000	1 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-

Tabella 8: Risultati relativi alla specificità (continua)

Organismo	Concentrazione	Flu A	Flu B	VRS
Virus parotitico	1 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1 x 10 ¹⁰ copie di rRNA/ml	-	-	-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1 x 10 ¹⁰ copie di rRNA/ml	-	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-
<i>Neisseria gonorrhoea</i>	1 x 10 ⁷ CFU/ml	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i>	1 x 10 ⁷ CFU/ml	-	-	-
<i>Neisseria mucosa</i>	1 x 10 ⁷ CFU/ml	-	-	-
Poliovirus	1 x 10 ⁶ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	1 x 10 ⁷ CFU/ml	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 ⁷ CFU/ml	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 ⁷ CFU/ml	-	-	-
Rhinovirus 1A	1 x 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁷ CFU/ml	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 ⁷ CFU/ml	-	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 x 10 ⁷ CFU/ml	-	-	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	1 x 10 ⁶ CFU/ml	-	-	-
<i>Tatlockia micdadei</i> (in precedenza noto come <i>Legionella micdadei</i>)	1 x 10 ⁷ CFU/ml	-	-	-
Virus varicella Zoster	1 x 10 ³ TCID ₅₀ /ml	-	-	-

Interferenza competitiva

L'interferenza competitiva del test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay è stata valutata utilizzando una matrice clinica simulata con coppie di virus target a due concentrazioni differenti. Una delle concentrazioni era vicina al limite di rilevamento (3 - 5X LoD) mentre l'altra concentrazione era elevata (1000X LoD). La presenza di due virus a concentrazioni variabili in un unico campione non ha avuto alcun effetto sulla sensibilità analitica (rilevamento al 100% per entrambi i target) alla concentrazione annotata nella Tabella 9.

Tabella 9: Interferenza competitiva

Situazione	Target 1		Target 2		Flu A	Flu B	VRS
	Descrizione	Concentrazione	Descrizione	Concentrazione			
1	FLU A	3X LoD	VRS	1000X LoD	+	-	+
2	FLU A	3X LoD	FLU B	1000X LoD	+	+	-
3*	FLU B	5X LoD	FLU A	1000X LoD	+	+	-
4	FLU B	3X LoD	VRS	1000X LoD	-	+	+
5	VRS	3X LoD	FLU A	1000X LoD	+	-	+
6	VRS	3X LoD	FLU B	1000X LoD	-	+	+

*Quando questa combinazione è stata analizzata con Flu B a 3X LoD, il tasso di rilevamento di Flu B è risultato pari al 92,3%.

Interferenza

La mucina, il sangue intero e altre sostanze potenzialmente interferenti (farmaci e prodotti da banco) che potrebbero essere presenti nei campioni, sono stati valutati nel test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay. La quantità clinicamente rilevante delle sostanze potenzialmente interferenti è stata aggiunta a una matrice clinica simulata ed è stata analizzata corretta o non corretta con i virus Flu A, Flu B e VRS in coltura alle rispettive concentrazioni LoD 3X. Le sostanze consistevano in spray nasali (liquidi e in polvere), pillole ingeribili, pastiglie, sostanze endogene e iniettabili, come mostrato nella Tabella 10.

È stato rilevato che tutte le sostanze analizzate non influiscono sulle prestazioni del test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay.

Tabella 10: Sostanze potenzialmente interferenti

Tipo	Nome sostanza	Ingredienti attivi	Concentrazione
Sostanza endogena	Mucina	Proteina mucina purificata	60 µg/ml
	Sangue umano	Sangue	v/v 2%
Gocce o spray nasali	Neo-Synephrine®	Fenilefrina	v/v 15%
	Anefrin	Ossimetazolina	v/v 15%
	Soluzione salina	Cloruro di sodio	v/v 15%
	Ventolin® HFA	Albuterolo	v/v 15%
Corticosteroidi nasali	QVAR®, Beconase AQ	Beclometasone	v/v 5%
	Dexacort	Desametasone	v/v 5%
	AEROSPAN®	Flunisolide	v/v 5%
	Nasacort	Triamcinolone	v/v 5%
	Rhinocort	Budesonide	v/v 5%
	Nasonex	Mometasone	v/v 5%
	Flonase	Fluticasone	v/v 5%
Gel nasale	Zicam® (solievo dalle allergie)	Luffa operculata, Galphimia, Glauca, Histaminum hydrochloricum, zolfo	v/v 5%
Pastiglie per la gola	Pastiglie per la gola Chloraseptic	Benzocaina Mentolo	0,63 mg/ml
Farmaci antivirali	Relenza®	Zanamivir	3,3 mg/ml
	TamiFlu	Oseltamivir	25 mg/ml
	Rebetol	Ribavirin	20 mg/ml
Antibiotico, unguento nasale	Bactroban Crema	Mupirocina	10 mg/ml
Antibiotico, sistemico	Tobramicina	Tobramicina	4,0 µg/ml

Contaminazione/Contaminazione crociata

L'analisi della contaminazione/contaminazione crociata è stata eseguita con campioni negativi collocati alternativamente tra campioni positivi alti e analizzati. I campioni positivi alti sono stati preparati mediante correzione (oltre 10.000X LoD). Un totale di nove sessioni analitiche separate con campioni negativi e campioni positivi collocati con una disposizione a scacchiera sono stati analizzati su tre strumenti differenti per un totale combinato di 449 campioni positivi e 449 campioni negativi. La contaminazione crociata è risultata pari allo 0,4%.

Precisione del test

La precisione del test Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay è stata valutata con un pannello di 7 membri. Il pannello è stato analizzato da tre operatori su due sessioni analitiche separate per giorno, utilizzando tre lotti di reagenti su tre Panther Fusion System nell'arco di 45 giorni.

Gli elementi del pannello sono descritti nella Tabella 11, insieme a un riepilogo della concordanza con i risultati previsti per ogni target. La Tabella 12 presenta l'analisi media e di variabilità tra strumenti, tra lotti di reagente, tra operatori, tra giorni, tra sessioni analitiche e durante queste ultime, nonché complessivamente (totale) per Ct.

Tabella 11: Percentuale di concordanza sul risultato previsto

Target	Elemento del pannello	% positivo	% concordanza (IC 95%)
Flu A	Flu A 3x LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97,7 – 100%)
	Flu A 1x LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97,7 – 100%)
	Flu A 0,01x LoD	8,6% (14/162)	91,4% (86,0 – 94,8%)
	Negativo	0,0% (0/162)	100,0% (97,7 – 100%)
Flu B	Flu B 3x LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97,7 – 100%)
	Flu B 1x LoD	94,4% (153/162)	94,4% (89,8 – 97,0%)
	Flu B 0,01x LoD	4,3% (7/162)	95,7% (91,4 – 97,9%)
	Negativo	0,6% (1/162)	99,4% (96,6 – 99,9%)
VRS	VRS 3x LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97,7 – 100%)
	VRS 1x LoD	99,4% (161/162)	99,4% (96,6 – 99,9%)
	VRS 0,01x LoD	4,9% (8/162)	95,1% (90,6 – 97,5%)
	Negativo	0,0% (0/162)	100,0% (97,7 – 100%)

Tabella 12: Variabilità del segnale

Target	Elemento del pannello	Media Ct	Tra strumenti		Tra lotti di reagente		Tra operatori diversi		Tra diversi giorni		Tra diverse sessioni analitiche		Durante le sessioni analitiche		Totale	
			DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
Flu A	Flu A 3x LoD	35,0	0,1	0,3	0,2	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,7	2,1	0,8	2,4
	Flu A 1x LoD	35,3	0,0	0,1	0,1	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,8	2,4	0,9	2,5
	Flu A 0,01x LoD	38,1	0,3	0,9	0,2	0,6	0,3	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	2,3	1,0	2,8
Flu B	Flu B 3x LoD	36,5	0,0	0,1	0,1	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,3	0,7	1,9	0,7	2,0
	Flu B 1x LoD	38,0	0,2	0,5	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,4	0,8	2,1	0,8	2,2
	Flu B 0,01x LoD	39,4	0,3	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,9	0,5	1,3
VRS	VRS 3x LoD	36,2	0,2	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	3,5	1,3	3,6
	VRS 1x LoD	38,2	0,3	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6	4,2	1,6	4,3
	VRS 0,01x LoD	40,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,4	1,0	0,0	0,0	0,2	0,5	0,5	1,3
CI	Negativo	33,1	0,1	0,3	0,2	0,6	0,0	0,0	0,1	0,3	0,2	0,6	0,3	1,1	0,5	1,5

Bibliografia

1. Centers for Disease Control and Prevention. National Respiratory and Enteric Virus Surveillance System. Centers for Disease Control and Prevention Web site. <http://www.cdc.gov/surveillance/nrevss/>. Accessed October, 2015.
2. Kahn, J.S. 2006. Epidemiology of human metapneumovirus. *Clin. Microbiol. Rev.* 19:546-557.
3. Couch, R.B. and Kasel, J.A. 1995. Influenza in *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial, and Chlamydial Infections*. 7th Edition. 431-446.
4. Harper, S.A., Fukuda, K., Uyeki, T.M., Cox, N.J., and Bridges, C.B. 2005. Prevention and Control of Influenza. *MMWR*. 54(RR08):1-40.
5. World Health Organization. Influenza (Seasonal) Fact Sheet N° 211 March 2014. Centers for Disease Control and Prevention Web site. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/>. Accessed October 2015.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Respiratory Syncytial Virus Circulation in the United States, July 2012-June 2014 *MMWR* 2014;62:141-4 Centers for Disease Control and Prevention Web site. www.cdc.gov/rsv/research/us-surveillance.html. Accessed October 2015.



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

Hologic N.V.
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Assistenza alla clientela: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Assistenza tecnica: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Altre informazioni di contatto su www.hologic.com.

Hologic e Panther Fusion sono marchi commerciali e/o marchi commerciali registrati di Hologic, Inc. e/o delle aziende consociate negli Stati Uniti e/o in altri Paesi.

Tutti gli altri marchi commerciali che possono apparire in questo foglietto illustrativo appartengono ai rispettivi proprietari.

Questo prodotto potrebbe essere protetto da uno o più brevetti statunitensi identificati nel sito www.hologic.com/patents.

©2017-2018 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-16162-701 Rev. 003
2018-11