

**Test SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV (Panther Fusion™ System)**

Do diagnostyki *in vitro*.

Tylko na eksport poza USA.

**SPIS TREŚCI**

<b>Informacje ogólne</b> .....	<b>2</b>
Przeznaczenie .....	2
Podsumowanie i objaśnienie testu .....	2
Zasady procedury .....	3
Ostrzeżenia i środki ostrożności .....	4
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi .....	7
Pobieranie i przechowywanie próbek .....	8
Transport próbek .....	9
<b>Panther Fusion System</b> .....	<b>10</b>
Odczynniki i materiały dla testu Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV .....	10
Materiały wymagane i dostępne osobno .....	11
Procedura testu w systemie Panther Fusion .....	12
Uwagi dotyczące procedury .....	13
<b>Kontrola jakości</b> .....	<b>14</b>
<b>Interpretacja wyników</b> .....	<b>14</b>
<b>Ograniczenia</b> .....	<b>16</b>
<b>Skuteczność testu SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV</b> .....	<b>17</b>
Czułość analityczna .....	17
Testy reaktywności na mokro .....	18
Reaktywność analizy <i>in silico</i> .....	21
Swoistość analityczna i interferencje mikrobiologiczne .....	21
Zakłócenia konkurencyjne .....	23
Zakłócenia .....	23
Precyzja testu .....	25
Kontaminacja przez przenoszenie .....	26
Ekwiwalencja pomiędzy wyrobami do pobierania .....	26
<b>Charakterystyka kliniczna</b> .....	<b>27</b>
<b>Bibliografia</b> .....	<b>29</b>
<b>Dane kontaktowe</b> .....	<b>30</b>

## Informacje ogólne

### Przeznaczenie

Test Panther Fusion™ SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV jest w pełni zautomatyzowanym multipleksowym testem RT-PCR w czasie rzeczywistym do jakościowego wykrywania i różnicowania RNA z wirusa SARS-CoV-2, wirusa grypy typu A, wirusa grypy typu B oraz syncytialnego wirusa oddechowego (RSV), wyizolowanych i oczyszczonych z wymazu z jamy nosowo-gardłowej (NP), pobranego od osób, u których występują oznaki i objawy zakażenia dróg oddechowych. Oznaki i objawy kliniczne zakażenia dróg oddechowych wirusem SARS-CoV-2, grypy i RSV mogą być podobne. Celem tego testu jest wspomaganie rozpoznania różnicowego pomiędzy zakażeniem SARS-CoV-2, wirusem grypy typu A, wirusem grypy typu B i RSV u ludzi; test ten nie jest przeznaczony do wykrywania zakażeń wirusem grypy typu C.

Wyniki ujemne nie wykluczają zakażenia wirusem SARS-CoV-2, wirusem grypy typu A, wirusem grypy typu B lub RSV i nie powinny być stosowane jako jedyna podstawa do podejmowania decyzji dotyczących leczenia pacjenta i postępowania z pacjentem. Ten test przeznaczony jest do użytkowania z systemem Panther Fusion.

### Podsumowanie i objaśnienie testu

Wirusy dróg oddechowych odpowiedzialne są za szeroką gamę ostrych zakażeń dróg oddechowych, w tym za przeziębienia, grypę, zakażenie RSV, COVID-19 i ostre zapalenie krtani, tchawicy i oskrzeli i są najczęstszą przyczyną ostrych stanów chorobowych w Stanach Zjednoczonych. Niektóre objawy COVID-19, grypy i RSV są podobne, przez co dokonywanie diagnozy na podstawie samych objawów jest niemożliwe.<sup>1,2</sup>

Przebieg grypy i RSV może być szczególnie ostry u osób młodych, osób o obniżonej odporności i starszych pacjentów. Precyzyjna i wczesna diagnoza przyczyny zakażenia dróg oddechowych niesie ze sobą wiele korzyści. Takimi korzyściami są: sprawniejsze leczenie pacjenta poprzez zastosowanie odpowiedniego leczenia antywirusowego (np. oseltamiwiru w przypadku grypy),<sup>3</sup> obniżenie ogólnych kosztów opieki, ograniczenie potencjalnego dalszego rozwoju oporności przeciwdrobnoustrojowej z powodu nadmiernego i nieprawidłowego stosowania antybiotyków,<sup>4</sup> wspomaganie personelu odpowiedzialnego za kontrolę zakażeń poprzez zapewnienie odpowiednich środków do minimalizowania rozprzestrzeniania się zakażeń szpitalnych, a także dostarczanie cennych informacji dla władz publicznej służby zdrowia, dotyczących tego, jakie wirusy krążą w społeczeństwie.<sup>5</sup>

Grypa jest ostrą chorobą dróg oddechowych, wywoływaną przez zakażenie wirusem grypy, głównie typami A i B.<sup>6</sup> Wirusy grypy typu A są dzielone na dalsze podtypy w zależności od głównego źródła antygenów białek powierzchniowych: hemaglutyniny (H) i neuraminidazy (N).<sup>7</sup> Wirusów grypy typu B nie dzieli się na różne podtypy.<sup>7</sup> W wirusach grypy stale zachodzą zmiany genetyczne, w tym dryfty (losowe mutacje) i wariacje (rekombinacje genetyczne), w wyniku których każdego roku powstają nowe szczepy wirusa, w rezultacie czyniąc ludzi podatnymi na takie sezonowe zmiany. Epidemie występują każdego roku (zazwyczaj na zimę) i podczas gdy w populacji krążą wirusy zarówno typu A jak i typu B, typ A zazwyczaj jest dominujący. Grypa głównie przenosi się drogą kropelkową (poprzez kaszel lub kichanie). Objawy pojawiają się średnio w ciągu 1 do 2 dni po zakażeniu i obejmują gorączkę, dreszcze, bóle głowy, niemoc, kaszel i nieżyt śluzowy nosa.

Powikłania związane z grypą obejmują zapalenie płuc, powodujące zwiększoną zachorowalność i śmiertelność u pacjentów pediatrycznych, starszych osób i osób o obniżonej odporności. Grypa występuje na całym świecie i każdego roku zaraża się nią 5%–10% osób dorosłych i 20%–30% dzieci. Zachorowania mogą doprowadzić do hospitalizacji i śmierci – głównie w przypadku grup o wysokim ryzyku (osób bardzo młodych, starszych lub przewlekle chorych). Na całym świecie takie coroczne epidemie doprowadzają do około 3 do 5 poważnych zachorowań i do około od 250 000 do 500 000 zgonów.<sup>8</sup>

Syncytialny wirus oddechowy (RSV) jest jedną z głównych przyczyn zakażeń dróg oddechowych u noworodków i dzieci. RSV dzieli się na 2 typy (A i B) w zależności od rodzajów antygenów i białek powierzchniowych. W większości corocznych epidemii (występujących zazwyczaj w trakcie zimy) występuje zarówno typ A jak i typ B wirusa, ale jedna podgrupa może być dominującą w trakcie sezonu. Zakażenie RSV może wywołać poważną chorobę dróg oddechowych u osób w każdym wieku, ale częściej występuje u dzieci, osób starszych i osób o obniżonej odporności. Każdego roku w Stanach Zjednoczonych zakażenia RSV są przyczyną około 58 000 hospitalizacji i 2,1 miliona wizyt w trybie ambulatoryjnym w przypadku dzieci poniżej 5. roku życia, a także 177 000 hospitalizacji i 14 000 zgonów wśród osób dorosłych powyżej 65. roku życia.<sup>9</sup>

Koronawirusy to duża rodzina wirusów, które mogą wywoływać choroby u zwierząt lub ludzi. Wiadomo, że u ludzi kilka koronawirusów wywołuje infekcje układu oddechowego, począwszy od zwykłego przeziębienia, a skończywszy na poważniejszych chorobach, takich jak bliskowschodni zespół niewydolności oddechowej (MERS) i ciężki ostry zespół niewydolności oddechowej (SARS). Ostatnio odkryty koronawirus, SARS-CoV-2, powoduje powiązaną chorobę koronawirusową COVID-19. Ten nowy wirus i choroba nie były znane przed wybuchem epidemii w Wuhan, w Chinach, w grudniu 2019 r.<sup>9</sup>

U osób zakażonych COVID-19 występuje szereg objawów – od lekkich do poważnych zachorowań. Objawy mogą wystąpić 2-14 dni po zakażeniu wirusem. Objawy o osób zakażonych wirusem COVID-19 obejmują: gorączkę lub dreszcze, kaszel, płytki oddech lub trudności w oddychaniu, zmęczenie, bóle mięśni lub całego ciała, bóle głowy, utrata smaku lub zapachu, bóle gardła, zatkanie nosa lub katar, nudności lub wymioty, lub biegunkę.<sup>10</sup> 11 marca 2020 r. epidemia COVID-19 została uznana przez Światową Organizację Zdrowia (WHO) za pandemię.<sup>11</sup>

## Zasady procedury

Korzystanie z testu Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV obejmuje następujące kroki: liza próbki, pobranie kwasu nukleinowego i przeniesienie eluatu oraz multipleksowy test RT-PCR przy jednoczesnym wzmacnianiu, wykrywaniu i różnicowaniu analitów. Pobieranie kwasu nukleinowego i elucja odbywają się w jednej próbówce w systemie Panther Fusion. Eluat przenoszony jest do próbki reakcyjnej systemu Panther Fusion, zawierającej odczynnik testu. Następnie przeprowadzany jest test RT-PCR dla wymytego kwasu nukleinowego w systemie Panther Fusion.

**Pobieranie kwasu nukleinowego i elucja:** Przed obróbką i testem w systemie Panther Fusion próbki pobrane na uniwersalne podłoże transportowe (UTM) i podłoże do transportu wirusa (VTM) przenoszone są do próbki do lizy próbki, zawierającej podłoże do transportu próbek (STM). Próbkę można również pobrać za pomocą zestawu do pobierania RespDirect, który zawiera wzbogacone podłoże do transportu próbek (eSTM). Podłoża STM i eSTM powodują lizę komórek, uwalniając szukany kwas nukleinowy i chronią je przed degradacją podczas przechowywania.

Do każdej testowanej próbki dodawana jest kontrola wewnętrzna S (IC-S), która zapewnia kontrolę poprzez pracujący odczynnik przechwytyjący Panther Fusion S (wFCR-S). IC-S w odczynniku monitoruje przetwarzanie, wzmocnienie i wykrywanie.

Oligonukleotydy przechwytyjące krzyżują się z kwasem nukleinowym w próbce. Skrzyżowany kwas nukleinowy jest następnie oddzielany od próbki w polu magnetycznym.

W celu usunięcia zbędnych składników z próbki reakcyjnej wykonywane są kroki płukania. W ramach elucji oczyszczony kwas nukleinowy jest wymywany. W trakcie przechwytywania kwasu nukleinowego i elucji od próbek oddzielany jest cały kwas nukleinowy.

**Przeniesienie elucji i RT-PCR:** W trakcie przenoszenia elucji wymyty kwas nukleinowy przenoszony jest do próbki reakcyjnej system Panther Fusion, która zawiera już olej i odtworzoną mieszaninę główną.

Docelowe wzmocnienie odbywa się za pośrednictwem RT-PCR. Odwrotna transkryptaza tworzy kopię DNA docelowej sekwencji. Specyficzne dla celu startery przednie i wsteczne oraz sondy następnie wzmacniają cele przy jednoczesnym wykrywaniu i różnicowaniu wielu typów docelowych poprzez multipleksowy RT-PCR.

System Panther Fusion porównuje sygnał fluorescencyjny z określonym odcięciem, aby uzyskać jakościowy wynik obecności lub nieobecności analitu.

Anality i kanał użyty do ich wykrycia w systemie Panther Fusion są zestawione w tabeli poniżej.

Analit	Docelowy gen	Kanał przyrządu
Wirus grypy typu A	Macierz	FAM
Syncytialny wirus oddechowy typu A/B	Macierz	HEX
SARS-CoV-2	ORF1ab	ROX
Wirus grypy typu B	Macierz	RED647
Kontrola wewnętrzna	Nie dotyczy	RED677

## Ostrzeżenia i środki ostrożności




- A. Do diagnostyki *in vitro*. Należy uważnie przeczytać całą ulotkę załączoną do opakowania oraz *Podręcznik operatora systemu Panther/Panther Fusion*.
- B. Do użytku profesjonalnego.
- C. Odczynnik wzmacniający Panther Fusion S (FER-S) wywołuje korozję, jest szkodliwy po połknięciu i powoduje poważne oparzenia skóry i uszkodzenie oczu.
- D. Test ten powinien wykonywać jedynie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie stosowania tego testu oraz z zakresu postępowania z materiałem zakaźnym. Jeśli dojdzie do rozlania, natychmiast zdezynfekować, stosując odpowiednie procedury w miejscu pracy.
- E. Ze wszystkimi próbkami należy obchodzić się jak z zakaźnymi, stosując bezpieczne procedury laboratoryjne. Więcej informacji zawarto w Tymczasowych wytycznych laboratoryjnych dotyczących bezpieczeństwa biologicznego podczas obcowania z próbkami związanymi z 2019-nCoV oraz ich przetwarzania. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>.
- F. Próbki mogą być zakaźne. W czasie wykonywania tego testu przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności. Właściwe metody postępowania z próbkami oraz utylizacji próbek powinien określić kierownik laboratorium. Do wykonania opisywanej tutaj procedury diagnostycznej może być dopuszczony wyłącznie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie postępowania z materiałami zakaźnymi.<sup>7</sup>

**Uwaga:** Jeśli na podstawie aktualnych klinicznych kryteriów przesiewowych zalecanych przez organy zdrowia publicznego podejrzewane jest zakażenie wirusem grypy typu A, próbki należy pobierać z zachowaniem odpowiednich środków kontroli w zakresie zakażeń i wysłać je do stanowej lub lokalnej placówki służby zdrowia w celu ich zbadania. Nie należy w takich przypadkach podejmować prób hodowli wirusa, chyba że placówka BSL 3+ ma możliwość odbioru i hodowania próbek.

- G. Jeżeli podejrzewa się zakażenie SARS-CoV-2 na podstawie aktualnych klinicznych kryteriów przesiewowych zalecanych przez organy zdrowia publicznego, próbki należy pobierać z zastosowaniem odpowiednich środków ostrożności w zakresie kontroli zakażeń.
- H. Należy stosować odpowiednie środki ochrony indywidualnej podczas pobierania i przetwarzania próbek od osób podejrzanych o zakażenie SARS-CoV-2, jak określono w CDC Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with 2019 Novel Coronavirus (SARS-CoV-2).
- I. Stosować wyłącznie dostarczone lub określone jednorazowe wyposażenie laboratoryjne.
- J. W czasie pracy z próbkami i odczynnikami nosić jednorazowe rękawiczki bezpydrowe, osłonę oczu oraz odzież laboratoryjną. Po zakończeniu pracy z próbkami i odczynnikami należy umyć ręce. Wszystkie materiały, które miały kontakt z próbkami i odczynnikami należy usuwać zgodnie z obowiązującymi przepisami krajowymi, międzynarodowymi i regionalnymi.
- K. Terminy przydatności podane na zestawie do pobierania RespDirect i próbkówkach do lizy próbek Panther Fusion biegną od momentu przeniesienia próbki do próbkówki, a nie od rozpoczęcia badania próbki. Probki pobrane/przeniesione w dowolnym czasie przed upływem daty ważności mogą być badane, o ile były transportowane i przechowywane zgodnie z odpowiednią ulotką załączoną do opakowania, nawet jeżeli minęły daty ważności.
- L. W trakcie transportu próbek zapewnić prawidłowe warunki przechowywania; pozwoli to zachować prawidłowy stan próbek. Nie oceniono stabilności próbek w warunkach transportu innych niż zalecane.
- M. W czasie pracy z próbkami unikać zanieczyszczenia krzyżowego. W próbkach może występować niezwykle wysokie stężenie wirusów lub innych organizmów. Dopilnować, aby pojemniki na próbki nie wchodziły we wzajemny kontakt oraz utylizować zużyte materiały tak, aby nie przenosić ich nad otwartymi pojemnikami. Zmienić rękawiczki, jeżeli miały kontakt z próbkami.
- N. Nie używać odczynników lub kontroli po upływie daty ważności.
- O. Składniki testu należy przechowywać w zalecanych warunkach przechowywania. Więcej informacji znajduje się w *Wymaganiach dotyczących przechowywania odczynników i postępowania z nimi* (strona 7) oraz *Procedurze testu w systemie Panther Fusion* (strona 12).
- P. Nie należy łączyć żadnych odczynników analitycznych ani płynów. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami lub płynami; system Panther Fusion weryfikuje poziomy odczynników.
- Q. Unikać skażenia odczynników przez drobnoustroje i rybonukleazy.
- R. Wymagania dotyczące kontroli jakości muszą być zgodnie z przepisami lokalnymi, stanowymi lub federalnymi lub wymaganiami dotyczącymi akredytacji i standardowych procedur kontroli jakości laboratorium.

- S. Nie wolno używać wkładu testowego, jeśli torebka do przechowywania utraciła szczelność lub jeśli folia wkładu testowego jest naruszona. W powyższych przypadkach należy skontaktować się z firmą Hologic.
- T. Nie wolno używać pakietów płynu, jeśli folia jest nieszczelna. Jeśli do tego dojdzie, należy skontaktować się z firmą Hologic.
- U. Należy postępować z wkładami testowymi w sposób ostrożny. Nie upuszczać ani nie odwracać wkładów testowych. Unikać dłuższego wystawiania na światło otoczenia.
- V. W urządzeniu nie należy stosować materiałów, które mogą zawierać tiocyjanian guanidyny, ani żadnych materiałów zawierających guanidynę. W przypadku połączenia z podchlorynem sodu mogą powstać wysoce reaktywne i/lub toksyczne związki.
- W. Niektóre odczynniki w zestawie są opatrzone informacjami o zagrożeniach.

**Uwaga:** Stosowane informacje dotyczące zagrożeń są określone przez klasyfikacje karty charakterystyki substancji (Safety Data Sheet, SDS) obowiązujące w UE. Informacje dotyczące zagrożeń występujących w konkretnym regionie opisano w kartach SDS właściwych dla regionów. Dokumenty te znajdują się w bibliotece kart charakterystyki pod adresem [www.hologicsds.com](http://www.hologicsds.com). Więcej informacji na temat symboli zawiera legenda symboli dostępna pod adresem [www.hologic.com/package-inserts](http://www.hologic.com/package-inserts).

Informacje o zagrożeniach zgodne z wymogami UE	
	<p><b>Olej Panther Fusion</b>  <b>Poli(dimetylosiloksan) 100%</b></p> <p><b>OSTRZEŻENIE</b>            H315 – Działa drażniąco na skórę            H319 – Działa drażniąco na oczy</p>
	<p><b>Odczynnik wzmacniający Panther Fusion S</b>  <b>Wodorotlenek litu, monohydrat 5-10%</b></p> <p><b>NIEBEZPIECZEŃSTWO</b>            H302 – Działa szkodliwie po połknięciu            H314 – Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu            P260 – Nie wdychać pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy            P280 – Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy            P303 + P361 + P353 – W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Opłukać skórę wodą/pod prysznicem P305 + P351 + P338 – W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie.            P310 – Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem            P280 – Stosować ochronę oczu / ochronę twarzy</p>
	

## Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi

A. Poniższa tabela zawiera wymagania dotyczące przechowywania i użytkowania tego testu.

Odczynnik	Przechowywanie nieotwartych odczynników	Stabilność odczynnika w aparacie/ Stabilność po otwarcu <sup>1</sup>	Przechowywanie nie otwartych odczynników
Wkład testowy Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV	2°C do 8°C	60 dni	od 2°C do 8°C <sup>2</sup>
Odczynnik przechwytyjący Panther Fusion S (FCR-S)	15°C do 30°C	30 dni	15°C do 30°C
Odczynnik wzmacniający Panther Fusion S (FER-S)	15°C do 30°C	30 dni	15°C do 30°C
Kontrola wewnętrzna Panther Fusion S (IC-S)	2°C do 8°C	(W wFCR-S)	Nie dotyczy
Bufor elucyjny Panther Fusion	15°C do 30°C	60 dni	15°C do 30°C
Olej Panther Fusion	15°C do 30°C	60 dni	15°C do 30°C
Bufor do rekonstrukcji Panther Fusion I	15°C do 30°C	60 dni	15°C do 30°C
Kontrola dodatnia Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV	2°C do 8°C	Fiolka jednorazowego użytku	Nie dotyczy – do jednorazowego użytku
Kontrola ujemna Panther Fusion	2°C do 8°C	Fiolka jednorazowego użytku	Nie dotyczy – do jednorazowego użytku

Po wyjęciu odczynników z systemu Panther Fusion należy natychmiast ponownie umieścić je w miejscu o temperaturze odpowiedniej do ich przechowywania.

<sup>1</sup> Stabilność odczynnika w aparacie rozpoczyna się od momentu umieszczenia odczynnika w systemie Panther Fusion dla wkładu testowego Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV oraz odczynników FCR-S, FER-S and IC-S. Stabilność odczynnika w aparacie dla bufora do rekonstrukcji Panther Fusion I, bufora elucyjnego Panther Fusion i oleju Panther Fusion rozpoczyna się od momentu pierwszego użycia pakietu odczynnika.

<sup>2</sup> Po usunięciu z systemu Panther Fusion wkład testowy należy umieścić w szczelnym opakowaniu ze środkiem suszącym, w miejscu o zalecanej temperaturze dla przechowywania.

- B. Robocze odczynniki przechwytyjące Panther Fusion S i odczynniki wzmacniające Panther Fusion S są stabilne przez 60 dni, gdy są zamknięte korkiem i przechowywane w temperaturze od 15°C do 30°C. Nie zamrażać.
- C. Należy utylizować wszelkie nieużyte odczynniki, których termin stabilności w aparacie minął.
- D. Kontrole są stabilne do daty podanej na fiolkach.
- E. W trakcie obchodzenia się z odczynnikami i ich przechowywania unikać zanieczyszczenia krzyżowego.
- F. **Nie zamrażać odczynników.**

## Pobieranie i przechowywanie próbek

**Próbki** – Materiał kliniczny pobrany od pacjenta umieszczony w odpowiednim systemie transportowym. W przypadku testu Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV próbkami są również wymazy z jamy nosowo-gardłowej (NP) na podłożu do transportu wirusa (VTM), uniwersalnym podłożu transportowym (UTM) lub pobrane na podłoże eSTM za pomocą zestawu do pobierania RespDirect.

**Próbki** – Jest to bardziej ogólny termin opisujący każdy materiał przeznaczony do badań w systemie Panther Fusion, w tym materiał do badań, materiał przeniesiony do probówki do lizy próbek Panther Fusion oraz kontrole.

**Uwaga:** *Z wszystkimi próbkami należy obchodzić się tak, jak gdyby zawierały czynniki potencjalnie zakaźne. Przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności.*

**Uwaga:** *Starać się unikać zanieczyszczenia krzyżowego w czasie etapów pracy z materiałem. Przykładowo, wyrzucać zużyte materiały tak, aby nie przenosić ich nad otwartymi pojemnikami.*

## Pobieranie próbek

**Uwaga:** *Wymazy z jamy nosowo-gardłowej (NP) należy pobierać zgodnie ze standardową techniką za pomocą wymazówek z końcówką poliestrową, ze sztucznego jedwabiu lub nylonową. Natychmiast umieścić próbkę wymazu w 3 ml podłoża VTM lub UTM. Zestaw do pobierania Hologic RespDirect może być używany do pobierania próbek wymazów z jamy nosowo-gardłowej (NP).*

## Przetwarzanie próbek

### **Przetwarzanie próbek przy użyciu probówki do lizy próbek Panther Fusion**

- A. Przed badaniem w systemie Panther Fusion należy przenieść 500 µl próbki pobranej na podłoże UTM lub VTM do probówki do lizy próbek Panther Fusion.

**\*Uwaga:** *W przypadku badania próbki zamrożonej, przed obróbką należy doprowadzić próbkę do temperatury pokojowej.*

### **Obróbka próbek za pomocą probówki Enhanced Direct Load (zestaw do pobierania RespDirect)**

- A. Po pobraniu próbki do probówki Enhanced Direct Load (zestaw do pobierania RespDirect), próbkę można załadować do systemu Panther Fusion.

**Uwaga:** *W przypadku zaobserwowania skrzepów próbki można wytrząsać przez 5–10 minut przy 1800 obr./min w wortexie na wiele probówek (lub ustawieniu 5 w kat. nr 102160G).*

*W innym wypadku pojedyncze probówki można wytrząsać ręcznie przez 15 sekund przy maks. prędkości na standardowym wortexie nablutowym.*

*Jeśli probówki zostały przekłute, nałożyć nowe przebijalne zakrętki przed wytrząsaniem.*

*Jeśli podczas ponownego badania uzyskano wynik CLT, pobrać nową próbkę.*

**Uwaga:** *W przypadku badania próbki zamrożonej, przed załadowaniem do systemu Panther Fusion należy doprowadzić próbkę do temperatury pokojowej.*

**Uwaga:** *Jeśli laboratorium otrzyma probówkę Enhanced Direct Load (zestaw do pobierania RespDirect) bez wymazówki lub z dwiema wymazówkami, próbkę trzeba odrzucić.*



## Przechowywanie próbek

- A. Przechowywanie próbek przy użyciu probówki do lizy próbek Panther Fusion
1. Po pobraniu próbki można przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C przez maksymalnie 96 godzin przed przeniesieniem ich do probówki do lizy próbek Panther Fusion. Pozostałą objętość próbki można przechowywać w temperaturze  $\leq -70^{\circ}\text{C}$ .
  2. Próbki (w probówce do lizy próbek Panther Fusion) można przechowywać w następujących warunkach:
    - od 15°C do 30°C do 6 dni lub
    - od 2°C do 8°C, -20°C i -70°C do 3 miesięcy
  3. Wcześniej przetestowane próbki należy przykryć nowym, czystym parafilmem albo folią ochronną.
  4. Jeżeli konieczne jest zamrożenie lub przetransportowanie badanych próbek, należy zdjąć przenikalną nakrętkę i założyć nową nieprzenikalną nakrętkę na probówkę. Jeżeli konieczne jest wysłanie próbek do badania do innej placówki, należy zawsze przestrzegać zalecanych temperatur. Przed zdjęciem zatyczek z wcześniej badanych próbek, na które nałożono nowe zatyczki, probówki do transportu próbek należy wirować przez 5 minut przy 420 RCF (względna siła odśrodkowa), aby całość cieczy znalazła się na dnie probówki. Unikać rozpryskiwania i zanieczyszczenia krzyżowego.
- B. Przechowywanie próbek za pomocą probówki Enhanced Direct Load (Zestaw do pobierania RespDirect)
1. Próbki można przechowywać w następujących warunkach:
    - od 2°C do 30°C do 6 dni lub
    - od 2°C do 8°C, -20°C i -70°C do 3 miesięcy.
  2. Wcześniej przetestowane próbki należy przykryć nowym, czystym parafilmem albo folią ochronną.
  3. Jeżeli konieczne jest zamrożenie lub przetransportowanie badanych próbek, należy zdjąć przebijalną nakrętkę i założyć nową nieprzebijalną nakrętkę na probówkę. Jeżeli konieczne jest wysłanie próbek do badania do innej placówki, należy zawsze przestrzegać zalecanych temperatur. Przed zdjęciem zakrętek z wcześniej badanych próbek, na które nałożono nowe zakrętki, probówki na próbki można wirować przez 5 minut przy 420 RCF, aby całość płynu znalazła się na dnie probówki. Unikać rozpryskiwania i zanieczyszczenia krzyżowego.

## Transport próbek

Zachować warunki przechowywania próbek zgodnie z opisem w sekcji *Pobieranie i przechowywanie próbek*, strona 8.

**Uwaga:** *Próbki należy przesyłać zgodnie z odpowiednimi krajowymi, międzynarodowymi i regionalnymi przepisami transportowymi.*

## Panther Fusion System

Panther Fusion System jest zintegrowanym systemem do wykonywania testów kwasów nukleinowych, w którym wszystkie etapy niezbędne do wykonania różnych testów Panther Fusion są całkowicie zautomatyzowane, począwszy od przetwarzania próbki przez amplifikację do wykrywania i redukcji danych.

## Odczynniki i materiały dla testu Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV

### Opakowanie testu

Elementy <sup>1</sup>	Nr kat.	Przechowywanie
<b>Wkłady testowe Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV 96</b> Wkłady testowe Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV, 12 testów, pudełka po 8 szt.	PRD-07400	2°C do 8°C
<b>Kontrole wewnętrzne Panther Fusion S 960</b> Próbówka kontroli wewnętrznej Panther Fusion S, pudełka po 4 szt.	PRD-04332	2°C do 8°C
<b>Kontrole Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV</b> Próbówka z kontrolą dodatnią Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV, pudełka po 5 szt. Próbówka z kontrolą ujemną Panther Fusion, pudełka po 5 szt.	PRD-07401	2°C do 8°C
<b>Testy z odczynnikiem ekstrakcyjnym Panther Fusion S 960</b> Butelka odczynnika przechwytyjącego Panther Fusion S, 240 testów, pudełka po 4 szt. Butelka odczynnika wzmacniającego Panther Fusion S, 240 testów, pudełka po 4 szt.	PRD-04331	15°C do 30°C
<b>Testy z buforem elucyjnym Panther Fusion 2400</b> Opakowanie buforów elucyjnych Panther Fusion, 1200 testów, pudełka po 2 szt.	PRD-04334	15°C do 30°C
<b>Testy z buforem do rekonstrukcji Panther Fusion I 1920</b> Opakowanie buforów do rekonstrukcji Panther Fusion I, 960 testów, pudełka po 2 szt.	PRD-04333	15°C do 30°C
<b>Testy z olejem Panther Fusion 1920</b> Opakowanie olei Panther Fusion, 960 testów, pudełka po 2 szt.	PRD-04335	15°C do 30°C

<sup>1</sup> Elementy można również zamawiać w następujących pakietach:

Zestaw płynów uniwersalnych Panther Fusion, PRD-04430, zawiera 1 olej Panther Fusion i bufor elucyjny Panther Fusion.

Płyny do testów Panther Fusion I-S, PRD-04431, zawierają 2 odczynniki ekstrakcyjne Panther Fusion S, 2 kontrole wewnętrzne Panther Fusion S oraz 1 bufor do rekonstrukcji Panther Fusion I

### Pozycje pakowane indywidualnie

Pozycje	Nr kat.
Próbówki do lizy próbek Panther Fusion, 100 szt. w woreczku	PRD-04339
Zestaw do pobierania Hologic RespDirect, 50 szt. w opakowaniu	PRD-07403

**Materiały wymagane i dostępne osobno**

**Uwaga:** Dostarczane materiały Hologic są zaopatrzone w następujące numery katalogowe, chyba że podano inne dane.

<b>Materiał</b>	<b>Nr kat.</b>
Panther™ System	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Panther Fusion Module	PRD-04173
Panther System Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Zestaw płynów do testu Aptima™ (Roztwór do płukania Aptima, Bufor do płynu dezaktywującego Aptima oraz Odczynnik olejowy Aptima)	303014 (1000 testów)
Zestawy wieloprobówkowe (MTU)	104772-02
Zestaw torby na odpady Panther	902731
Ośłona worka na odpady Panther	504405
Albo zestaw wstępny do aparatu Panther System do testów wykonywanych w czasie rzeczywistym zawiera MTU, worki na odpady, osłonę worka na odpady, płyny do testu	PRD-03455 (5000 testów)
Lub zestaw wstępny do aparatu Panther System (w przypadku wykonywania testów TMA równoległe z testami TMA w czasie rzeczywistym) zawiera MTU, worki na odpady, osłonę worka na odpady, płyny do autodetekcji* i testu	303096 (5000 testów)
Tace na próbówki Panther Fusion, 1008 testów, 18 tac w pudełku	PRD-04000
Końcówki, 1000 µl, z filtrami, z detekcją cieczy, przewodzące, jednorazowego użytku.	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
Nie wszystkie produkty są dostępne we wszystkich regionach. W celu uzyskania dokładnych informacji dotyczących regionu należy skontaktować się ze swoim przedstawicielem.	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Pokryvky przepuszczalne Aptima (opcjonalne)	105668
Zapasy zatyczki nieprzepuszczalne (opcjonalne)	103036A
Zapasy zatyczki do butelek z odczynnikiem ekstrakcyjnym	CL0040
Pipetor P1000 i końcówki z zatyczkami hydrofobowymi	-
Roztwór podchlorynu sodu (wybielacz w stężeniu od 5% do 8,25% (od 0,7 M do 1,16 M)) <b>Uwaga:</b> Instrukcje dotyczące przygotowywania rozcieńczonego roztworu podchlorynu znajdują się w <i>Podręczniku operatora systemu Panther/Panther Fusion</i> .	-
Rękawiczki jednorazowe, bezpudrowe	-

\*Potrzebne jedynie dla testów Panther Aptima TMA.

**Materiały opcjonalne**

<b>Materiał</b>	<b>Nr Kat.</b>
Worteks dla wielu probówek	102160G
Worteks nablatowy	-

## Procedura testu w systemie Panther Fusion

**Uwaga:** Dodatkowe informacje na temat procedury przedstawiono w Podręczniku operatora systemu Panther/Panther Fusion.

### A. Przygotowanie obszaru roboczego

1. Przetrzeć powierzchnie robocze roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej minutę, a następnie powinien zostać spłukany wodą dejonizowaną. Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Zakryć powierzchnię stołu czystymi, wzmocnionymi plastikami, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.
2. Oczyszczyć oddzielną powierzchnię roboczą, na której przygotowywane będą próbki zgodnie z procedurą opisaną w kroku A.1.

### B. Przygotowanie odczynnika

1. Wyjąć butelki zawierające odczynniki IC-S, FCR-S i FER-S z miejsca przechowywania.
2. Otworzyć butelki zawierające odczynniki IC-S, FCR-S i FER-S i wyrzucić zatyczki. Otworzyć drzwi odczynników TCR na górnej wnęcie systemu Panther Fusion.
3. Umieścić butelki z odczynnikiem IC-S, FCR-S i FER-S na odpowiednich pozycjach karuzeli TCR.
4. Zamknąć drzwi odczynników TCR.

**Uwaga:** System Panther Fusion doda odczynnik IC-S do odczynnika FCR-S. Odczynnik powstały po dodaniu odczynnika IC-S do odczynnika FCR-S nazywany jest wFCR-S (roboczy FCR-S). Jeżeli odczynniki FCR-S i FER-S zostaną usunięte z systemu, należy zamknąć je za pomocą nowych zatyczek i natychmiast umieścić je w miejscu o odpowiednich warunkach do przechowywania.

### C. Obchodzenie się z próbkami

**Uwaga:** Przed załadowaniem próbek do systemu Panther Fusion należy przygotować je zgodnie z instrukcjami dotyczącymi przetwarzania próbek, zawartymi w rozdziale Pobieranie i przechowywanie próbek.

Przed włożeniem do statywu sprawdzić próbki. Jeśli próbka na próbki zawiera pęcherzyki powietrza lub ma mniejszą objętość niż zazwyczaj, należy delikatnie postukać w dno próbki, aby zawartość znalazła się na dnie.

**Uwaga:** Aby uniknąć błędów w trakcie przetwarzania, do próbki do lizy próbki Panther Fusion należy dodać odpowiednią ilość próbki. Po dodaniu 500 µl wymazu z jamy nosowo-gardłowej do próbki do lizy próbki Panther Fusion w próbówce będzie znajdowała się objętość wystarczająca do wykonania 3 ekstrakcji kwasu nukleinowego.

**Uwaga:** Uwaga: W przypadku próbki Enhanced Direct Load (zestaw do pobierania RespDirect) objętość jest wystarczająca do przeprowadzenia 4 ekstrakcji kwasów nukleinowych.

### D. Przygotowanie systemu

Instrukcje dotyczące ustawiania systemu Panther Fusion, w tym ładowania próbek, odczynników, wkładów testowych i płynów uniwersalnych, znajdują się w Podręczniku operatora systemu Panther/Panther Fusion.

## Uwagi dotyczące procedury

### A. Kontrole

1. Kontrolę dodatnią Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV i kontrolę ujemną Panther Fusion można załadować w dowolnej pozycji na statywie, w dowolnej wnęce na próbki systemu Panther Fusion.
2. Po przeprowadzeniu pipetowania próbek kontrolnych i przetworzeniu ich dla potrzeb testu Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV pozostaną aktywne przez maksymalnie 30 dni (częstotliwość kontroli konfigurowana jest przez administratora), chyba że wyniki kontroli będą nieprawidłowe lub załadowana zostanie nowa partia wkładów testowych.
3. Każdą próbkę kontroli można przetestować tylko raz.
4. Pipetowanie próbek pobranych od pacjentów rozpoczyna się po spełnieniu jednego z dwóch następujących warunków:
  - a. Zarejestrowano w systemie ważne wyniki dla kontroli.
  - b. Trwa przetwarzanie pary kontroli przez system.

## Kontrola jakości

Wynik badania lub próbki może zostać unieważniony przez system Panther Fusion, jeśli wystąpią problemy podczas przeprowadzania testu. Próbki z nieważnymi wynikami należy ponownie poddać badaniu.

### Kontrole dodatnie i ujemne

Aby uzyskać prawidłowe wyniki, należy zbadać zestaw kontroli testów. Za każdym razem po załadowaniu nowej partii wkładów testowych do systemu Panther Fusion lub po upływie terminu przydatności bieżącego zestawu prawidłowych kontroli dla aktywnej partii wkładów należy przeprowadzić test jednego replikatu ujemnej kontroli testu i jednego replikatu dodatniej kontroli testu.

System Panther Fusion jest skonfigurowany w taki sposób, aby kontrole testów były przeprowadzane w odstępach czasu określonych przez administratora, wynoszących maksymalnie 30 dni. Oprogramowanie systemu Panther Fusion ostrzega operatora, gdy wymagane są kontrole testów, i nie rozpoczyna nowych testów, dopóki kontrole testów nie zostaną załadowane i nie rozpoczną przetwarzania.

Podczas przetwarzania kryteria akceptacji kontroli testów są automatycznie weryfikowane przez system Panther Fusion. Aby wygenerować prawidłowe wyniki, kontrole testów muszą przejść serię kontroli ważności wykonywanych przez system Panther Fusion.

Jeśli kontrole testów przejdą wszystkie kontrole ważności, są uznawane za ważne przez określony przez administratora przedział czasu. Kiedy upłynie określony czas, system Panther Fusion wyłączy kontrole testów – wówczas konieczne będzie przetestowanie nowego zestawu kontroli testów przed rozpoczęciem pobierania jakichkolwiek nowych próbek.

Jeśli którakolwiek z kontroli testów nie przejdzie pomyślnie kontroli ważności, system Panther Fusion automatycznie unieważnia próbki, których to dotyczy – w takiej sytuacji konieczne będzie przetestowanie nowego zestawu kontroli testów przed rozpoczęciem pobierania jakichkolwiek nowych próbek.

### Kontrola wewnętrzna

W trakcie procesu ekstrakcji do każdej próbki dodawana jest kontrola wewnętrzna. Podczas przetwarzania kryteria akceptacji kontroli wewnętrznej są automatycznie weryfikowane przez oprogramowanie systemu Panther Fusion. Wykrywanie kontroli wewnętrznej nie jest wymagane dla próbek, które są dodatnie dla SARS-CoV-2, grypy typu A, grypy typu B i/lub RSV. Kontrola wewnętrzna musi być wykryta we wszystkich próbkach, które są ujemne dla wirusów SARS-CoV-2, grypy typu A, grypy typu B i RSV; próbki, które nie spełniają tych kryteriów, zostaną zgłoszone jako nieważne. Każda próbka z wynikiem Nieważnym musi zostać ponownie przebadana.

System Panther Fusion został zaprojektowany w taki sposób, aby zapewniał precyzyjną weryfikację procesów, gdy procedury są wykonywane zgodnie z instrukcjami zawartymi w niniejszej ulotce załączonej do opakowania oraz w *Podręczniku operatora systemu Panther/Panther Fusion*.

## Interpretacja wyników

System Panther Fusion automatycznie oznacza wyniki badań dla próbek i kontroli. Wyniki wykrywania wirusów SARS-CoV-2, grypy typu A, grypy typu B i RSV są zgłaszane oddzielnie. Wynik testu może być ujemny, dodatni lub nieważny.

Tabela 1 przedstawia możliwe wyniki, zgłaszane w przypadku prawidłowej próby, wraz z ich interpretacjami.

Tabela 1: Interpretacja wyniku

Wynik SARS-CoV-2	Wynik grypy typu A	Wynik grypy typu B	Wynik RSV	Wynik IC	Interpretacja
Ujem	Ujem	Ujem	Ujem	Ważny	Nie wykryto SARS-CoV-2, grypy typu A, grypy typu B ani RSV.
Ujem	DOD	Ujem	Ujem	Ważny	Wykryto grypę typu A. Nie wykryto SARS-CoV-2, grypy typu B ani RSV.
Ujem	Ujem	DOD	Ujem	Ważny	Wykryto grypę typu B. Nie wykryto SARS-CoV-2, grypy typu A ani RSV.
Ujem	Ujem	Ujem	DOD	Ważny	Wykryto RSV. Nie wykryto SARS-CoV-2, grypy typu A ani grypy typu B.
DOD	Ujem	Ujem	Ujem	Ważny	Wykryto SARS-CoV-2. Nie wykryto grypy typu A, grypy typu B ani RSV.
Ujem	DOD	DOD	Ujem	Ważny	Wykryto grypę typu A i grypę typu B. Nie wykryto SARS-CoV-2 ani RSV.
Ujem	Ujem	DOD	DOD	Ważny	Wykryto grypę typu B i RSV. Nie wykryto SARS-CoV-2 ani grypy typu A.
Ujem	DOD	Ujem	DOD	Ważny	Wykryto grypę typu A i RSV. Nie wykryto SARS-CoV-2 ani grypy typu B.
DOD	DOD	Ujem	Ujem	Ważny	Wykryto SARS-CoV-2 i grypę typu A. Nie wykryto grypy typu B ani RSV.
DOD	Ujem	DOD	Ujem	Ważny	Wykryto SARS-CoV-2 i grypę typu B. Nie wykryto grypy typu A ani RSV.
DOD	Ujem	Ujem	DOD	Ważny	Wykryto SARS-CoV-2 i RSV. Nie wykryto grypy typu A ani grypy typu B.
Ujem	DOD	DOD	DOD	Ważny	Wykryto grypę typu A, grypę typu B i RSV. Nie wykryto SARS-CoV-2. Potrójne zakażenia występują rzadko. Należy powtórzyć test, aby potwierdzić wynik.
DOD	Ujem	DOD	DOD	Ważny	Wykryto SARS-CoV-2, grypę typu B i RSV. Nie wykryto grypy typu A. Potrójne zakażenia występują rzadko. Należy powtórzyć test, aby potwierdzić wynik.
DOD	DOD	Ujem	DOD	Ważny	Wykryto SARS-CoV-2, grypę typu A i RSV. Nie wykryto grypy typu B. Potrójne zakażenia występują rzadko. Należy powtórzyć test, aby potwierdzić wynik.
DOD	DOD	DOD	Ujem	Ważny	Wykryto SARS-CoV-2, grypę typu A i grypę typu B. Nie wykryto RSV. Potrójne zakażenia występują rzadko. Należy powtórzyć test, aby potwierdzić wynik.
DOD	DOD	DOD	DOD	Ważny	Wykryto SARS-CoV-2, grypę typu A, grypę typu B i RSV. Potrójne zakażenia występują rzadko. Należy powtórzyć test, aby potwierdzić wynik.
Nieważny	Nieważny	Nieważny	Nieważny	Nieważny	Nieważny. Wystąpił błąd w czasie tworzenia wyniku, należy przebadac próbkę ponownie.

Uwaga: Wynikom DOD będą towarzyszyły wartości progowe cyklu (Ct).

Uwaga: Wykrywanie kontroli wewnętrznej nie jest wymagane dla próbek, które są dodatnie dla SARS-CoV-2, grypy typu A, grypy typu B lub RSV.

## Ograniczenia

- A. Ten produkt może być używany tylko z Panther Fusion System.
- B. Niniejszy test powinien być wykonywany wyłącznie przez osoby przeszkolone w zakresie procedury testowej. Nieprzestrzeganie tych instrukcji może spowodować uzyskanie błędnych wyników.
- C. Wiarygodne wyniki zależą od właściwego pobrania próbek, ich transportu, przechowywania i obróbki.
- D. Należy unikać skażenia, zachowując dobre praktyki laboratoryjne i przestrzegając procedur określonych w niniejszej ulotce załączonej do opakowania.
- E. Wyniki ujemne nie wykluczają zakażenia wirusem SARS-CoV-2, wirusem grypy typu A, wirusem grypy typu B lub RSV i nie powinny być stosowane jako jedyna podstawa do podejmowania decyzji dotyczących leczenia pacjenta i postępowania z pacjentem.
- F. Ten test nie rozróżnia pomiędzy podtypami grypy typu A (tzn. H1N1, H3N2) ani podgrupami RSV (tzn. A lub B); rozróżnienie pomiędzy konkretnymi podtypami lub szczepami grypy typu A lub podgrupami RSV wymaga przeprowadzenia dodatkowych testów w konsultacji z lokalnymi oddziałami służby zdrowia.
- G. Wynik dodatni wskazuje na wykrycie kwasu nukleinowego odpowiedniego wirusa. Kwas nukleinowy może pozostać nawet po wyeliminowaniu wirusa.



## Skuteczność testu SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV

### Czułość analityczna

Wrażliwość analityczna (granica wykrywania lub LoD) testu Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV została określona poprzez testowanie roztworów z poddanych obróbce ujemnych klinicznych wymazów z jamy nosowo-gardłowej (NP) na macierzy podłoża VTM/UTM z dodatkiem próbki wzorcowej WHO dla SARS-CoV-2, NIBSC (20/146) lub z zastosowaniem następujących hodowli wirusów SARS-CoV-2 (1 szczep), grypy typu A (2 szczepy), grypy typu B (2 szczepy), RSV A i RSV B (po 1 szczepie każdy). Przetestowano co najmniej 24 replikaty z każdą z trzech partii odczynników. LoD dla każdej z cząsteczek szukanych określono za pomocą analizy probitowej dla każdej partii odczynnika i potwierdzono dodatkowymi 24 replikatami z zastosowaniem jednej partii odczynnika. Czułość analityczna definiowana jest jako najniższe stężenie, przy którym  $\geq 95\%$  wszystkich replikatów dało wynik dodatni, jak podsumowano w Tabeli 2.

Badanie LoD przeprowadzono również z zastosowaniem zestawu do pobierania RespDirect. Do ujemnej macierzy podłoża eSTM dodano próbkę wzorcową WHO dla SARS-CoV-2 i po 1 szczepie dla wirusa grypy typu A, grypy typu B, RSV A i RSV B. Jedną serią odczynników przebadano trzydzieści replikatów. Najniższe stężenie, przy którym obserwowano wykrywalność  $\geq 95\%$ , wynosiło 98,6 j.m./ml dla próbki wzorcowej WHO dla SARS-CoV-2, 0,11 TCID<sub>50</sub>/ml dla wirusa grypy typu A/Kansas/14/17 (H3N2), 0,03 TCID<sub>50</sub>/ml dla wirusa grypy typu B/Washington/02/19 (linia Victoria), 0,03 TCID<sub>50</sub>/ml dla wirusa RSV A i 0,05 TCID<sub>50</sub>/ml dla wirusa RSV B.

**Uwaga:** Podane wartości LoD odnoszą się do stężeń w próbkach załadowanych do przyrządu. W przypadku próbek pobranych na podłoża VTM/UTM jest to stężenie w próbce poddanej obróbce w SLT. W przypadku próbek pobranych za pomocą zestawu do pobierania RespDirect jest to stężenie w próbce Enhanced Direct Load (zestaw do pobierania RespDirect).

Tabela 2: Czułość analityczna

Szczep wirusa/norma	Stężenie LoD w próbce poddanej obróbce*	Jednostki
Norma międzynarodowa WHO dla SARS-CoV-2, NIBSC (20/146)	47,20	IU/ml
SARS-CoV-2 USA-WA1/2020	0,03	TCID <sub>50</sub> /ml
Grypa typu A/Brisbane/02/18 (H1N1)	0,06	TCID <sub>50</sub> /ml
Grypa typu A/Kansas/14/17 (H3N2)	0,10	TCID <sub>50</sub> /ml
Grypa typu B/Washington/02/19 (linia hodowlana Victoria)	0,03	TCID <sub>50</sub> /ml
Grypa typu B/Phuket/3073/13 (linia hodowlana Yamagata)	0,003	TCID <sub>50</sub> /ml
RSV A	0,03	TCID <sub>50</sub> /ml
RSV B	0,03	TCID <sub>50</sub> /ml

\*Próbka poddana obróbce: Podstawowa próbka kliniczna 0,50 ml VTM/UTM + 0,71 ml STM w SLT

## Testy reaktywności na mokro

Reaktywność testu Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV została określona poprzez przetestowanie szczepów wirusów z poddanego obróbce ujemnego klinicznie wymazu z jamy nosowo-gardłowej (NP) na macierzy podłoża VTM/UTM. Każdy szczep był testowany potrójnie przy ~3x LoD z użyciem jednej partii odczynników. W przypadku szczepów niewykrytych przy 3x LoD przeprowadzono dodatkowe testy przy wyższych stężeniach, aż do zaobserwowania 100% dodatniości. Tabela 3 pokazuje najniższe stężenie każdego szczepu, w którym zaobserwowano 100% dodatniość.

Tabela 3: Podsumowanie reaktywności analitycznej dla szczepów SARS-CoV-2, grypy typu A i B oraz RSV

Opis	Podtyp	Stężenie	SARS-CoV-2	Grypa typu A	Grypa typu B	RSV
USA-WA1/2020*	SARS-CoV-2	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	+	-	-	-
USA-CA1/2020	SARS-CoV-2	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	+	-	-	-
USA-AZ1/2020	SARS-CoV-2	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	+	-	-	-
USA-WI1/2020	SARS-CoV-2	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	+	-	-	-
USA/OR-OHSU-PHL00037/ 2021 B.1.1.7	SARS-CoV-2	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	+	-	-	-
Uganda/MUWRP-20200195568/ 2020 A.23.1	SARS-CoV-2	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	+	-	-	-
USA/PHC658/2021 B.1.617.2	SARS-CoV-2	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	+	-	-	-
USA/MD-HP05285/2021 B.1.617.2	SARS-CoV-2	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	+	-	-	-
USA/CA/VRLC009/2021 B.1.427	SARS-CoV-2	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	+	-	-	-
USA/CA/VRLC012/2021 P.2	SARS-CoV-2	0,30 TCID <sub>50</sub> /ml	+	-	-	-
USA/MD-HP03056/2021 B.1.525	SARS-CoV-2	0,30 TCID <sub>50</sub> /ml	+	-	-	-
USA/CA-Stanford-16_S02/ 2021 B.1.617.1	SARS-CoV-2	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	+	-	-	-
Peru/un-CDC-2-4069945/ 2021 C.37	SARS-CoV-2	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	+	-	-	-
USA/MD-HP20874/2021 B.1.1.529	SARS-CoV-2	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	+	-	-	-
USA/GA-EHC-2811C/ 2021 B.1.1.529	SARS-CoV-2	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	+	-	-	-
A/Brisbane/02/18*	Grypa typu A (H1N1)	0,18 TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Michigan/45/2015	Grypa typu A (H1N1)	0,18 TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Christ Church/16/2010	Grypa typu A (H1N1)	180 <sup>1</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Kentucky/2/06	Grypa typu A (H1N1)	0,60 TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Wyspy Salomona/03/06	Grypa typu A (H1N1)	0,60 TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Guangdong-maonan/1536/2019	Grypa typu A (H1N1)	180 <sup>1</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-

Tabela 3: Podsumowanie reaktywności analitycznej dla szczepów SARS-CoV-2, grypy typu A i B oraz RSV (Ciąg dalszy)

Opis	Podtyp	Stężenie	SARS-CoV-2	Grypa typu A	Grypa typu B	RSV
A/Tajwan/42/2006	Grypa typu A (H1N1)	0,60 TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Henan/8/05	Grypa typu A (H1N1)	0,60 TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Hawaje/15/01	Grypa typu A (H1N1)	18 <sup>3</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Kalifornia/07/2009	Grypa typu A (H1N1)	0,18 TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Hawaje/66/2019	Grypa typu A (H1N1)	180 CEID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Indiana/02/2020	Grypa typu A (H1N1)	60 CEID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Michigan/45/2015 wirus pdm09-podobny	Grypa typu A (H1N1)	0,60 TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Kansas/14/17*	Grypa typu A (H3N2)	0,33 TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Arizona/45/2018	Grypa typu A (H3N2)	3,3 FFU/ml	-	+	-	-
A/Nowy Jork/21/2020	Grypa typu A (H3N2)	3,3 FFU/ml	-	+	-	-
A/Hong Kong/45/2019	Grypa typu A (H3N2)	3,3 FFU/ml	-	+	-	-
A/Singapur/INFIMH-16-0019/2016	Grypa typu A (H3N2)	110 CEID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Hong Kong/2671/2019	Grypa typu A (H3N2)	11 <sup>2</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Hiroshima/52/05	Grypa typu A (H3N2)	1,1 TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Kostaryka/07/99	Grypa typu A (H3N2)	11 <sup>3</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Port Chalmers/1/73	Grypa typu A (H3N2)	1,1 TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Brazylia/113/99	Grypa typu A (H3N2)	1,1 TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Perth/16/2009	Grypa typu A (H3N2)	0,33 TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Teksas/50/2012	Grypa typu A (H3N2)	0,33 TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Hong Kong/4801/2014	Grypa typu A (H3N2)	1,1 TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Indiana/08/2011	Grypa typu A (H3N2)	1,1 TCID <sub>50</sub> /ml	-	+	-	-
A/Hong Kong/486/97	Grypa typu A (H5N1)	0,01 ng/ml	-	+	-	-
B/Waszyngton/02/2019*	Grypa typu B (Victoria)	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	+	-
B/Kolorado/06/2017	Grypa typu B (Victoria)	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	+	-
B/Floryda/78/2015	Grypa typu B (Victoria)	0,30 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	+	-
B/Alabama/2/17	Grypa typu B (Victoria)	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	+	-
B/Ohio/1/2005	Grypa typu B (Victoria)	0,30 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	+	-
B/Michigan/09/2011	Grypa typu B (Victoria)	3 <sup>3</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	+	-
B/Hawaje/01/2018 (NA D197N)	Grypa typu B (Victoria)	0,90 <sup>1</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	+	-

Tabela 3: Podsumowanie reaktywności analitycznej dla szczepów SARS-CoV-2, grypy typu A i B oraz RSV (Ciąg dalszy)

Opis	Podtyp	Stężenie	SARS-CoV-2	Grypa typu A	Grypa typu B	RSV
B/Brisbane/33/08	Grypa typu B (Victoria)	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	+	-
B/Phuket/3073/2013*	Grypa typu B (Yamagata)	0,006 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	+	-
B/Wisconsin/1/2010	Grypa typu B (Yamagata)	2 <sup>1</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	+	-
B/Utah/9/14	Grypa typu B (Yamagata)	0,006 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	+	-
B/Sankt Petersburg/04/06	Grypa typu B (Yamagata)	0,06 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	+	-
B/Teksas/81/2016	Grypa typu B (Yamagata)	2 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	+	-
B/Indiana/17/2017	Grypa typu B (Yamagata)	0,60 <sup>1</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	+	-
B/Oklahoma/10/2018	Grypa typu B (Yamagata)	2 <sup>1</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	+	-
B/Massachusetts/02/2012	Grypa typu B (Yamagata)	0,2 <sup>2</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	+	-
B/Lee/40	Grypa typu B	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	+	-
Izolat RSV-A/2006*	RSVA	0,06 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	+
Izolat RSV A/4/2015 #1	RSVA	0,06 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	+
RSV A/A2	RSVA	0,06 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	+
Izolat RSV A/12/2014 #2	RSVA	0,06 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	+
RSV-B/CH93(18)-18*	RSVB	0,30 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	+
Izolat RSV B/3/2015 #1	RSVB	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	+
RSV B/9320	RSVB	0,09 TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	+

\*Szczep użyty do określenia LoD.

<sup>1</sup>Analiza in silico wykazała 100% homologię z regionem amplifikacji. Degradacja rezerw wirusa lub błąd w oznaczaniu ilościowym TCID<sub>50</sub>/ml mógł mieć wpływ na stężenie przy 100% wykrywalności.

<sup>2</sup>Analiza in silico zidentyfikowała pojedynczą niezgodność w podkładach przewodzących i odwrotnych dla wirusa A/Hong Kong/2671/2019 i pojedynczą niezgodność w podkładzie odwrotnym dla wirusa B/Massachusetts/02/2012. Ze względu na lokalizację niezgodności nie oczekuje się wpływu na amplifikację i wykrywanie. Degradacja rezerw wirusa lub błąd w oznaczaniu ilościowym TCID<sub>50</sub>/ml mógł mieć wpływ na stężenie przy 100% wykrywalności.

<sup>3</sup>Sekwencja szczepu w określonych regionach amplifikacji nie jest dostępna w NCBI ani GISAID do celów dalszej oceny czułości.

## Reaktywność analizy in silico

Inkluzywność testu Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV oceniono z zastosowaniem analizy in silico podkładów przewodzących i odwrotnych oraz sond dla szukanych systemów SARS-CoV-2, wirusa grypy typu A, wirusa grypy typu B i RSV w odniesieniu do sekwencji dostępnych w bazach danych genów NCBI i GISAID. Każdą sekwencję z brakującymi lub niejednoznaczными informacjami o sekwencji usunięto z analizy dla tego określonego regionu.

Na podstawie analizy in silico sekwencji genów baz danych GISAID i NCBI dostępnych do 25 czerwca 2022 r. dla SARS-CoV-2 (10% losowego próbkowania > 9,3 miliona sekwencji), przewiduje się, że test Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV wykryje wszystkie 934 493 oceniane sekwencje SARS-CoV-2.

Oceniane sekwencje obejmowały linie i warianty budzące obawy (VOC) lub badane warianty (VUI), które mogą mieć istotne właściwości epidemiologiczne, immunologiczne lub patogenne z perspektywy zdrowia publicznego, takie jak warianty Delta i Omicron. Przewiduje się, że wszystkie linie szczepów i warianty będące przedmiotem zainteresowania zdrowia publicznego zidentyfikowane na dzień 25 czerwca 2022 r. zostaną wykryte. Nowe sekwencje i warianty będą nadal monitorowane pod kątem wpływu na wykrywanie przez test Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV.

Na podstawie analizy in silico wszystkich sekwencji dostępnych od 1 stycznia 2015 r. do 15 lutego 2022 r. w bazach danych GISAID i NCBI, przewiduje się, że test Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV wykryje  $\geq 99,998\%$  z 88 128 ocenianych sekwencji wirusów grypy A,  $\geq 99,94\%$  z 31 801 ocenianych sekwencji wirusów grypy B,  $\geq 98,12\%$  z 1599 ocenianych sekwencji wirusów RSV A i  $\geq 98,23\%$  z 1240 ocenianych sekwencji wirusów RSV B.

## Swoistość analityczna i interferencje mikrobiologiczne

Swoistość analityczna (reaktywność krzyżowa) i interferencje mikrobiologiczne z testem Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV zostały określone w obecności blisko powiązanych i organizmów niebędących przedmiotem testu. Panele zawierające 41 organizmów (Tabela 4) zostały przetestowane w poddawanych obróbce ujemnych klinicznych wymazach z jamy nosowo-gardłowej (NP) na macierzy podłoża VTM/UTM przy nieobecności lub obecności 3x LoD wirusów SARS-CoV-2, grypy typu A, grypy typu B i RSV. Bakterie zbadano przy  $10^6$  CFU/ml, a wirusy przy  $10^5$  TCID<sub>50</sub>/ml, z wyjątkiem oznaczonych przypadków. Nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej ani interferencji mikrobiologicznych w przypadku żadnego z 41 organizmów zbadanych za pomocą testu Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV przy poniższych stężeniach.

Analiza reaktywności krzyżowej in silico 143 organizmów układu oddechowego (numery dostępu 545 GenBank) nie przewidywała występowania reaktywności krzyżowej ani interferencji drobnoustrojów z wyjątkiem pałeczki krwawej (*Serratia marcescens*), która wykazywała możliwość słabej amplifikacji bez wykrywania. Testowanie na mokro w przetworzonym ujemnym klinicznie wymazie z jamy nosowo-gardłowej (NP) na macierzy podłoża VTM/UTM każdej cząsteczki szukanej przy 3x LoD w obecności tego organizmu przy  $10^6$  CFU/ml wykazało, że nie zaobserwowano interferencji.

Tabela 4: Reaktywność krzyżowa i mikroorganizmy powodujące zakłócenia mikrobiologiczne

Mikroorganizm	Stężenie <sup>1</sup>	Mikroorganizm	Stężenie <sup>1</sup>
Adenowirus typu 1	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Bordetella pertussis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
Adenowirus typu 7a	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Candida albicans</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
CMV Szczep AD 169	1x10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	1x10 <sup>6</sup> IFU/ml
Ludzki koronawirus 229E	1x10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
Ludzki koronawirus NL63	1x10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Escherichia coli</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
Ludzki koronawirus OC43	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Haemophilus influenzae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
Wirus Epsteina-Barr (EBV)	1x10 <sup>6</sup> kopii/ml	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
Enterowirus (np. EV68)	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Legionella pneumophila</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
Ludzki koronawirus HKU1 <sup>2</sup>	1x10 <sup>6</sup> kopii/ml	<i>Moraxella catarrhalis</i>	1x10 <sup>5</sup> CFU/ml
Ludzki metapneumowirus (hMPV)	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1x10 <sup>9</sup> kopii rRNA/ml
HPIV-1	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1x10 <sup>9</sup> kopii rRNA/ml
HPIV-2	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Neisseria spp</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
HPIV-3	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
HPIV-4	1x10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Neisseria mucosa</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
Odra	1x10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
Koronawirus MERS	5x10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
Wirus świnki	1x10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
Rinowirus 1A	1x10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
Koronawirus SARS 1 <sup>2</sup>	1x10 <sup>6</sup> kopii/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
Wirus ospy wietrznej i półpaśca	1x10 <sup>3</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml
		<i>Streptococcus salivarius</i>	1x10 <sup>6</sup> CFU/ml

<sup>1</sup>CFU = Jednostki tworzące kolonię; IFU = Jednostki tworzące inkluzje; TCID<sub>50</sub> = Dawka zakaźna dla 50% hodowli komórkowych

<sup>2</sup> Wyhodowany wirus i oczyszczony kwas nukleinowy całego genomu dla ludzkiego HKU1 i koronawirusa SARS nie są łatwo dostępne. W celu oceny reaktywności krzyżowej i zakłóceń mikrobiologicznych wykorzystano transkrypt *in vitro* (IVT) HKU1 i koronawirusa SARS, odpowiadające regionom genów ORF1a, na które ukierunkowany jest test.

## Zakłócenia konkurencyjne

Interferencje konkurencyjne w teście Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV oceniono za pomocą par szukanych wirusów przy niskich/wysokich stężeniach w poddanych obróbce ujemnych klinicznie wymazach z jamy nosowo-gardłowej (NP) na macierzy podłoża VTM/UTM. Niskie stężenie zostało zbadane przy 3x LoD, podczas gdy wirus o wysokim stężeniu został zbadany przy 1000x LoD. Wyniki tego badania przedstawia Tabela 5. Obecność dwóch wirusów o różnych stężeniach nie miała wpływu na wrażliwość analityczną jednego celu w obecności wysokich stężeń drugiego celu.

Tabela 5: Zakłócenia konkurencyjne

Niski cel		Wysoki cel		SARS-CoV-2 (wykryto)	Grypa typu A (wykryto)	Grypa typu B (wykryto)	RSV (wykryto)
Wirus	3x LoD (TCID <sub>50</sub> /ml)	Wirus	1000x LoD (TCID <sub>50</sub> /ml)				
SARS-CoV-2	0,09	Grypa typu A	110	+	+	-	-
SARS-CoV-2	0,09	Grypa typu B	30	+	-	+	-
SARS-CoV-2	0,09	RSV	30	+	-	-	+
Grypa typu A	0,33	SARS-CoV-2	30	+	+	-	-
Grypa typu A	0,33	Grypa typu B	30	-	+	+	-
Grypa typu A	0,33	RSV	30	-	+	-	+
Grypa typu B	0,09	SARS-CoV-2	30	+	-	+	-
Grypa typu B	0,09	Grypa typu A	110	-	+	+	-
Grypa typu B	0,09	RSV	30	-	-	+	+
RSV	0,09	SARS-CoV-2	30	+	-	-	+
RSV	0,09	Grypa typu A	110	-	+	-	+
RSV	0,09	Grypa typu B	30	-	-	+	+

## Zakłócenia

Za pomocą testu Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV przebadano powodujące interferencje substancje endogenne i egzogenne (mucyny, krew pełna, inne ewentualne leki i produkty bez recepty), które mogą być obecne w próbce. Istotne z klinicznego punktu widzenia stężenia substancji, które mogą powodować interferencje dodano do poddanych obróbce ujemnych klinicznie wymazów z jamy nosowo-gardłowej (NP) na macierzy podłoża VTM/UTM i zbadano przy nieobecności i obecności hodowanych wirusów SARS-CoV-2, grypy typu A, grypy typu B i RSV przy ich odpowiednich stężeniach 3x LoD. Badania wykonano trzy razy. Substancje i stężenia podano w Tabeli 6.

Substancje w badanych stężeniach nie miały wpływu na skuteczność testu Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV.

Tabela 6: Substancje, które mogą powodować zakłócenia

Typ substancji	Nazwa substancji	Składnik/-i czynny/-e	Stężenie <sup>1</sup>
Endogenna	Mucyny	Oczyszczone białko mucyny	60 µg/ml
	Krew (ludzka)	ND	2% obj.
Spraye lub krople do nosa	Neo-Syneprine®	Fenylefryna	15% obj.
	Anefrin	Oksymetazolina	15% obj.
	Sól fizjologiczna	Chlorek sodu	15% obj.
	Ventolin HFA <sup>2</sup>	Albuterol	45 ng/ml
	QVAR® Beconase AQ <sup>2</sup>	Beklometazon	15 ng/ml
Kortykosteroidy donosowe	Dexacort <sup>2</sup>	Deksametazon	12 µg/ml
	Nasacort	Triamcynolon	5% obj.
	Flonase	Flutykazon	5% obj.
	Rhinocort	Budezonid	5% obj.
	Nasonex <sup>2</sup>	Mometazon	0,5 ng/ml
	AEROSPAN® <sup>2</sup>	Flunizolid	10 µg/ml
Żel do nosa	Zicam® (antyalegiczny)	Luffa operculata, galphimia, glauca, histaminum hydrochloricum, siarka	5% obj.
Tabletka na kaszel	Cepacol Extra Strength	Benzokaina, mentol	0,7 ng/ml
Lek przeciwwirusowy	Relenza® <sup>2</sup>	Zanamiwir	3,3 ng/ml
	TamiFlu <sup>2</sup>	Oseltamiwir	400 µg/ml
	Virazole <sup>2</sup>	Rybawiryna	10,5 µg/ml
Antybiotyk, maść do nosa	Krem Bactroban <sup>2</sup>	Mupirocyna	1,6 µg/ml
Antybiotyk, stosowany ogólnie	Tobramycyna	Tobramycyna	33,1 µg/ml

<sup>1</sup> obj.: stężenie objętościowe<sup>2</sup> Przebadane składniki czynne



## Precyzja testu

Precyzja wewnątrzlaboratoryjna testu Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV została oceniona przez 5-elementowy panel, zawierający ujemny kliniczny wymaz z jamy nosowo-gardłowej na macierzy VTM/UTM. 5-elementowy panel składał się z jednego ujemnego i czterech podwójnie dodatnich elementów panelu. Panele były badane przez dwóch operatorów w ramach dwóch prób dziennie z użyciem trzech partii odczynników na trzech systemach Panther Fusion w ciągu dwunastu dni.

Elementy panelu opisane są w Tabeli 7, która zawiera również zestawienie zgodności oczekiwanych wyników, a także analizę średniej Ct i zmienności pomiędzy partiami odczynników, operatorami, przyrządami, pomiędzy próbami i wewnątrz prób, jak również wyniki ogółem.

Tabela 7: Zmienność sygnału testu Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV według elementów panelu

Panel	Opis	Analiz	Zgodność/N*	Zgodność (%)	Średnia Ct	Między seriami		Między przyrządami		Między operatorami		Między dniami		Między próbami		Wewnątrz serii		Ogółem	
						SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
1	Ujem	Wewnętrzna kontrola	95/96	99	33,7	0,19	0,57	0,08	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,21	0,62	0,29	0,86	0,42	1,23
2	SARS-CoV-2/ Grypa typu A Niski dod.	Grypa typu A	96/96	100	35,1	0,33	0,93	0,06	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30	0,85	0,56	1,59	0,72	2,04
		SARS-CoV-2	96/96	100	35,9	0,00	0,00	0,13	0,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,60	1,67	0,61	1,71
3	Grypa typu B/ RSV Niski dod.	Grypa typu B	96/96	100	36,0	0,14	0,40	0,09	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,36	0,99	0,39	1,09
		RSV	96/96	100	36,1	0,12	0,33	0,28	0,77	0,00	0,00	0,00	0,00	0,37	1,04	0,53	1,46	0,71	1,97
4	SARS-CoV-2/ Grypa typu A Śr. dod.	Grypa typu A	96/96	100	33,9	0,23	0,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,56	0,00	0,00	0,47	1,37	0,55	1,63
		SARS-CoV-2	96/96	100	34,7	0,21	0,62	0,16	0,45	0,06	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45	1,30	0,52	1,51
5	Grypa typu B/ RSV Śr. dod.	Grypa typu B	96/96	100	34,7	0,15	0,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,18	0,28	0,80	0,32	0,93
		RSV	96/96	100	34,5	0,10	0,30	0,18	0,51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40	1,15	0,44	1,29

\*Zgodność z oczekiwanym wynikiem dodatności panelu.

Niski dod. = Niski dodatni 2x LoD.

Śr. dod. = Średnio dodatni 5x LoD.

Uwaga: Zmienność wynikająca z niektórych czynników może być numerycznie ujemna, co może mieć miejsce, jeśli zmienność wynikająca z takich czynników jest bardzo mała. Gdy to ma miejsce, SD=0 i CV=0%.

## Kontaminacja przez przenoszenie

Współczynnik kontaminacji przez przenoszenie testu został wykazany z zastosowaniem próbki Enhanced Direct Load (zestaw do pobierania RespDirect) w układzie szachownicy, z panelami wykonanymi z puli macierzy klinicznej. Łącznie 300 ujemnych próbek przeplatanych 301 próbkami dodatnimi (dodano do nich wirusa grypy typu A do  $1 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/m lub 90 909X LoD) zbadano w 5 cyklach na dwóch przyrządach Panther Fusion. Test Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV miał współczynnik przenoszenia na poziomie 0%.

## Ekwiwalencja pomiędzy wyrobami do pobierania

Ekwiwalencja między próbkami z nosogardła (NP) zebranymi na VTM/UTM i eSTM została oceniona poprzez badanie pojedynczych próbek z wynikiem ujemnym i opracowanych paneli z wynikiem dodatnim, przygotowanych z połączonych w pary ujemnych wymazów klinicznych z nosogardła (NP) pobranych od pacjentów z objawami zakażenia dróg oddechowych. Opracowane panele zostały przygotowane poprzez dodanie do poszczególnych połączonych w pary oddanych próbek z nosogardła (NP) SARS-CoV-2, wirusa grypy typu A, wirusa grypy typu B oraz RSV do 2x i 5x LoD.

Wyniki paneli z wynikami ujemnymi i opracowanych paneli wykazywały podobną zgodność pomiędzy dwoma wyrobami do pobierania (Tabela 8).

*Tabela 8: Wyniki paneli z wynikami ujemnymi i opracowanych paneli złożonych z połączonych w pary pojedynczych próbek klinicznych z nosogardła (NP), pobranych za pomocą każdego z wyrobów do pobierania z dodatkiem SARS-CoV-2, wirusa grypy A, wirusa grypy B oraz RSV*

Analit	Stężenie próbki	N na wyrób do pobierania	% dodatniości VTM/UTM	% dodatniości RespDirect %
Brak (próbka ujemna)	0	181	0	0
SARS-CoV-2	2x LoD	50	100	98
	5x LoD	50	100	100
Grypa typu A	2x LoD	25	100	100
	5x LoD	25	100	100
Grypa typu B	2x LoD	25	100	100
	5x LoD	25	100	100
RSV	2x LoD	25	100	100
	5x LoD	25	100	100

## Charakterystyka kliniczna

Charakterystyka kliniczna testu Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV została oceniona poprzez porównanie z testem wzmacniającym kwas nukleinowy (NAAT), dopuszczonym przez FDA do stosowania w nagłych przypadkach (EUA), oraz zatwierdzonym przez FDA testem NAAT do badania obecności wirusa grypy/RSV z użyciem indywidualnych resztkowych próbek z wymazami z jamy nosowo-gardłowej na macierzy VTM/UTM, zebranych od pacjentów z oznakami i objawami infekcji dróg oddechowych. W ramach oceny przebadano próbki ujemne, dodatnie próbki SARS-CoV-2, dodatnie próbki grypy typu A, dodatnie próbki grypy typu B i próbki dodatnie RSV za pomocą każdego testu.

W odniesieniu do testu Panther Fusion jako wyniku referencyjnego obliczono procentową zgodność wyników dodatnich (Positive Percent Agreement, PPA) i procentową zgodność wyników ujemnych (Negative Percent Agreement, NPA) dla SARS-CoV-2 w odniesieniu do dopuszczonego przez FDA do stosowania w nagłych przypadkach testu wzmacniającego kwas nukleinowy, jak pokazano w Tabeli 9. Test wykazał dodatnie i ujemne procentowe zgodności na poziomie, odpowiednio, 98,1% i 98,5% dla wirusa SARS-CoV-2.

W przypadku grypy typu A, grypy typu B i RSV PPA i NPA zostały obliczone w odniesieniu do zatwierdzonego przez FDA testu NAAT na obecność wirusa grypy/RSV jako wyniku odniesienia, tak jak pokazano w Tabeli 10 dla grypy typu A, Tabeli 11 dla grypy typu B i Tabeli 12 dla RSV. Test wykazał dodatnie i ujemne procentowe zgodności na poziomie, odpowiednio, 100,0% i 99,6% dla grypy typu A, 98,1% i 99,6% dla grypy typu B oraz 98,1% i 100,0% dla RSV.

Tabela 9: Charakterystyka kliniczna dla SARS-CoV-2

SARS-CoV-2		Dopuszczony przez FDA test NAAT do stosowania w nagłych przypadkach		
		Dodatni	Ujemny	Ogółem
Test Panther Fusion SARS/Flu A/B/RSV	Dodatni	52	4	56
	Ujemny	1	256	257
	Ogółem	53	260	313
Zgodność dodatnia (95% CI)		98,1%	(90,1% - 99,7%)	
Zgodność ujemna (95% CI)		98,5%	(96,1% - 99,4%)	

Tabela 10: Charakterystyka kliniczna dla grypy typu A

Grypa typu A		Test dopuszczony przez FDA		
		Dodatni	Ujemny	Ogółem
Test Panther Fusion SARS/Flu A/B/RSV	Dodatni	52	1	53
	Ujemny	0	260	260
	Ogółem	52	261	313
Zgodność dodatnia (95% CI)		100,0%	(93,1% - 100,0%)	
Zgodność ujemna (95% CI)		99,6%	(97,9% - 99,9%)	

Tabela 11: Charakterystyka kliniczna dla grypy typu B

Grypa typu B		Test dopuszczony przez FDA		
		Dodatni	Ujemny	Ogółem
Panther Fusion Test SARS/Flu A/B/RSV	Dodatni	52	1	53
	Ujemny	1	259	260
	Ogółem	53	260	313
Zgodność dodatnia (95% CI)		98,1%	(90,1% - 99,7%)	
Zgodność ujemna (95% CI)		99,6%	(97,9% - 99,9%)	

Tabela 12: Charakterystyka kliniczna dla RSV

RSV		Test dopuszczony przez FDA		
		Dodatni	Ujemny	Ogółem
Panther Fusion Test SARS/Flu A/B/RSV	Dodatni	52	0	52
	Ujemny	1	260	261
	Ogółem	53	260	313
Zgodność dodatnia (95% CI)		98,1%	(90,1% - 99,7%)	
Zgodność ujemna (95% CI)		100,0%	(98,5% - 100,0%)	

## Bibliografia

1. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html>. Dostęp 17 sierpnia 2021 r.
2. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/rsv/about/symptoms.html>. Dostęp 17 sierpnia 2021 r.
3. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/flu/professionals/antivirals/summary-clinicians.htm>.
4. Akers IE, Weber R, Sax H, Böni J, Trkola A, Kuster SP. Influence of time to diagnosis of severe influenza on antibiotic use, length of stay, isolation precautions, and mortality: a retrospective study. *Influenza Other Respir Viruses*. 2017;11(4):337-344. doi:10.1111/irv.12454.
5. Couch, R.B. and Kasel, J.A. 1995. Influenza in *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial, and Chlamydial Infections*. Wydanie 7. 431-446.
6. 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.
7. Światowa Organizacja Zdrowia. Influenza (Seasonal). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/>.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Respiratory Syncytial Virus (RSV) Research & Surveillance. <https://www.cdc.gov/rsv/research/us-surveillance.html>. Dostęp 30 sierpnia 2021 r.
9. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/flu/symptoms/index.html>. Dostęp 17 sierpnia 2021 r.
10. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html>. Dostęp 17 sierpnia 2021 r.
11. Cucinotta D, Vanelli M. WHO Declares COVID-19 a Pandemic. *Acta Biomed*. 2020 Mar 19;91(1):157-160. doi: 10.23750/abm.v91i1.9397. PMID: 32191675; PMCID: PMC7569573.

## Dane kontaktowe



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



**Hologic BV**  
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

Adres e-mail i numer telefonu działu pomocy technicznej i obsługi klienta właściwe dla danego kraju można znaleźć na stronie [www.hologic.com/support](http://www.hologic.com/support).

Hologic, Aptima, Panther i Panther Fusion są znakami towarowymi i/lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Hologic, Inc. i/lub spółek zależnych w Stanach Zjednoczonych i/lub innych państwach.

Wszystkie inne znaki towarowe, które mogą się pojawić w tej ulotce załączonej do opakowania, należą do ich odpowiednich właścicieli.

Opisywany produkt może być objęty co najmniej jednym patentem USA spośród wymienionych na stronie [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

©2022-2023 Hologic, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

AW-25328-3401 Wer. 002  
2023-08