

Paraflu Assay (Panther Fusion™ System)

Instrucciones de uso
Para uso diagnóstico *in vitro*
Para exportación de EE. UU. solamente

Información general	2
Usado previsto	2
Resumen y explicación de la prueba	2
Principios del procedimiento	2
Advertencias y precauciones	3
Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos	6
Recogida y almacenamiento de muestras biológicas	7
Transporte de muestras	8
Panther Fusion System	9
Reactivos y materiales suministrados para el Panther Fusion Paraflu Assay	9
Material necesario y disponible por separado	10
Procedimiento de prueba del Panther Fusion System	11
Notas de procedimiento	12
Control de calidad	13
Interpretación de resultados	14
Limitaciones	15
Rendimiento del Panther Fusion System Assay	16
Rendimiento clínico: estudio retrospectivo	16
Rendimiento clínico: estudio prospectivo	17
Sensibilidad analítica	19
Especificidad analítica	19
Interferencia competitiva	22
Interferencia	22
Traspaso/contaminación	23
Precisión del ensayo	23
Reproducibilidad	25
Bibliografía	28
Información de contacto e historial de revisiones	29

Información general

Uso previsto

El ensayo Panther Fusion™ Paraflu es una prueba de diagnóstico *in vitro* multiplex en tiempo real PCR (RT-PCR) para la detección y diferenciación rápidas y cualitativas del virus de la Parainfluenza 1, virus de la Parainfluenza 2, virus de la Parainfluenza 3 y virus de la Parainfluenza 4 (HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 y HPIV-4). Los ácidos nucleicos se aíslan y purifican a partir de muestras de hisopado nasofaríngeo (NP) de personas que presentan signos y síntomas de una infección de las vías respiratorias.

Este ensayo se ha diseñado para facilitar el diagnóstico diferencial de las infecciones de HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 y HPIV-4 en humanos. Los resultados negativos no descartan las infecciones por HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 y HPIV-4, y no deben utilizarse como criterio único para decisiones de tratamiento u otros controles del paciente. El ensayo se ha diseñado para utilizarse con el sistema Panther Fusion.

Resumen y explicación de la prueba

Los virus de la Parainfluenza humana (HPIV) pertenecen a la *familia Paramyxoviridae*. Son virus negativos monocatenarios con envoltura de RNA. Hay cuatro tipos de virus (del 1 al 4). Las características clínicas y epidemiológicas de cada tipo de HPIV pueden variar. En los Estados Unidos, las infecciones asociadas con HPIV-1 se observa más comúnmente en años impares y los tipos HPIV-2 y HPIV-3 se observan anualmente. Los HPIV afectan principalmente a bebés y niños pequeños. No obstante, cualquier persona puede contraer una infección por HPIV. Los dos tipos HPIV-1 y HPIV-2 causan crup, y el HPIV-1 es la causa más frecuente en niños. Los dos tipos también pueden producir enfermedad respiratoria superior e inferior y síntomas similares al resfriado. El HPIV-3 se asocia más a menudo con bronquiolitis, bronquitis y neumonía. El HPIV-4 no se reconoce con tanta frecuencia, pero puede causar enfermedades leves a graves de las vías respiratorias. El período de incubación (el tiempo desde la exposición al HPIV hasta la aparición de los síntomas) es generalmente de 2 a 7 días.¹

Principios del procedimiento

El ensayo Panther Fusion Paraflu implica los tres pasos siguientes: lisis de muestras, captura de ácidos nucleicos y transferencia de la elución, y RT-PCR multiplex durante la amplificación, detección y diferenciación simultáneas de los analitos. La captura y elución de ácido nucleico se realizan en un solo tubo en el sistema Panther Fusion. El eluido se transfiere al tubo de reacción del Panther Fusion que contiene los reactivos de ensayo. A continuación, se realiza el RT-PCR multiplex para el ácido nucleico eluido en el sistema Panther Fusion.

Captura y elución de ácido nucleico: Antes del procesamiento y análisis en el sistema Panther Fusion, las muestras se transfieren a un tubo de lisis de muestras que contiene el medio de transporte de muestras (STM) que disuelve las células, libera el ácido nucleico diana y lo protege frente a la degradación durante el almacenamiento.

El control interno S (IC-S) se añade a cada muestra de análisis y controles a través del reactivo de captura de trabajo Panther Fusion S (wFCR-S). El IC-S en el reactivo controla el procesamiento, la amplificación y la detección de muestras.

Los oligonucleótidos de captura se hibridan a los ácidos nucleicos de la muestra. A continuación, el ácido nucleico hibridado se separa del resto de la muestra en un campo magnético.

Los pasos de lavado eliminan los componentes extraños del tubo de reacción. El paso de elución eluye el ácido nucleico purificado. Durante el paso de captura y elución de ácido nucleico, el ácido nucleico total se aísla de la muestra.

Transferencia de elución y RT-PCR: Durante el paso de transferencia de la elución, el ácido nucleico eluido se transfiere a un tubo de reacción Panther Fusion, que ya contiene aceite y mezcla maestra reconstituida.

La amplificación de la diana se produce a través del RT-PCR. Una transcriptasa inversa genera una copia de DNA de la secuencia diana. Las sondas y los cebadores directo y reverso específicos de las dianas amplifican entonces las dianas mientras, simultáneamente, detectan y discriminan varios tipos de dianas mediante RT-PCR multiplex.

El sistema Panther Fusion compara la señal de fluorescencia con un límite de corte predeterminado para producir un resultado cualitativo de la presencia o ausencia del analito.

Los analitos y el canal utilizados para su detección en el sistema Panther Fusion se resumen en la tabla siguiente.

Analito	Gen diana	Canal del instrumento
HPIV-1	Hemagglutinin neuraminidase	FAM
HPIV-2	Hemagglutinin neuraminidase	HEX
HPIV-3	Hemagglutinin neuraminidase	ROX
HPIV-4	Nucleocápside	RED647
Control interno	No aplicable	RED677

Advertencias y precauciones

- A. Para uso diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profesional.

Información para los laboratorios

- C. Lea detenidamente todo el prospecto y el *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System*.
- D. El reactivo potenciador Panther Fusion S (FER-S) es corrosivo, nocivo si se ingiere y provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares.
- E. Estos procedimientos debe realizarlos únicamente el personal con la formación adecuada en el uso de este ensayo y en la manipulación de material potencialmente infeccioso. Si se produce algún derrame, proceda inmediatamente a la desinfección siguiendo los procedimientos adecuados del centro.
- F. Manipule todas las muestras como si fueran infecciosas según procedimientos de laboratorio seguros, tales como los indicados en CDC/NIH Seguridad biológica en laboratorios de microbiología y biomedicina⁸ y en el Documento del CLSI M29 Protección de los trabajadores de laboratorio frente a infecciones ocupacionales.⁹
- G. Utilice únicamente el instrumental de laboratorio desechable suministrado o especificado.

- H. Utilice guantes desechables sin polvo, gafas protectoras y batas de laboratorio al manipular muestras y reactivos. Lávese las manos cuidadosamente después de manipular las muestras y los reactivos.
- I. Deseche todo el material que haya entrado en contacto con las muestras y reactivos siguiendo las normas regionales, nacionales e internacionales vigentes.

Información para las muestras




- J. Las fechas de caducidad que figuran en los tubos de lisis de muestras Panther Fusion se refieren a la transferencia de la muestra en el tubo y no al análisis de la muestra. Las muestras recogidas/transferidas en cualquier momento antes de estas fechas de caducidad son válidas para el análisis siempre que se hayan transportado y almacenado de acuerdo con el prospecto, incluso si las fechas de caducidad indicadas en el tubo de transferencia han vencido.
- K. Mantenga las condiciones de almacenamiento apropiadas durante el envío de muestras para garantizar su integridad. No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de envío distintas a las recomendadas.

Información sobre los ensayos

- L. Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de muestras. Las muestras pueden contener concentraciones extremadamente altas de virus u otros microorganismos. Asegúrese de que los recipientes de muestras no entren en contacto entre sí y deseche los materiales usados sin hacerlos pasar sobre los recipientes abiertos. Cambie los guantes si entran en contacto con las muestras.
- M. No utilice los reactivos ni los controles tras su fecha de caducidad.
- N. Guarde los componentes del ensayo bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas. Consulte *Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos* y *Procedimiento de prueba del Panther Fusion System* para obtener más información.
- O. No combine los reactivos ni los fluidos del ensayo. No rellene los reactivos ni los fluidos; el sistema Panther Fusion verifica los niveles de reactivo.
- P. Evite la contaminación microbiana y por ribonucleasa de los reactivos.
- Q. Las muestras de control de calidad deben analizarse conforme a los requisitos de acreditación o las normativas locales/regionales y los procedimientos de control de calidad estándar de su laboratorio.
- R. No utilice el cartucho de ensayo si la bolsa de almacenamiento ha perdido su sello o si la lámina del cartucho de ensayo no está intacta. Si este fuera el caso, póngase en contacto con Hologic.
- S. No use paquetes de fluidos si el sello de aluminio presenta fugas o pérdidas. Póngase en contacto con Hologic en esta situación.
- T. Manipule los cartuchos de ensayo con cuidado. No deje caer ni invierta los cartuchos de ensayo. Evite la exposición prolongada a la luz ambiente.

Nota: la comunicación sobre peligros refleja las clasificaciones de las fichas de seguridad (SDS) de la UE. Para la información de peligros específica para su país, consulte la biblioteca de fichas de datos de seguridad en www.hologicds.com. Para obtener más información sobre los símbolos, consulte la leyenda de los símbolos en www.hologic.com/package-inserts.

Información sobre riesgos en la UE.

	<p>Aceite Panther Fusion POLYDIMETHYLSILOXANE 100 %</p>
	<p>ATENCIÓN H315 - Provoca irritación cutánea H319 - Provoca irritación ocular grave</p>
	<p>Reactivo potenciador Panther Fusion (FER-S) LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE, 5 %-10 %</p>
	<p>PELIGRO H302 - Nocivo en caso de ingestión H314 - Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves P260 - No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol P280 - Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección P303 + P361 + P353 - EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse P305 + P351 + P338 - EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando P310 - Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico P280 - Llevar gafas/máscara de protección</p>

Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos

A. La siguiente tabla indica los requisitos de almacenamiento y manipulación de este ensayo.

Reactivo	Almac. del reactivo cerrado	Estabilidad en el instrumento/ una vez abierto ¹	Almac. una vez abierto
Cartucho del Panther Fusion Paraflu Assay	Entre 2 °C y 8 °C	60 días	Entre 2 °C y 8 °C ²
Reactivo de captura Panther Fusion S (FCR-S)	Entre 15 °C y 30 °C	30 días	Entre 15 °C y 30 °C
Reactivo potenciador Panther Fusion S (FER-S)	Entre 15 °C y 30 °C	30 días	Entre 15 °C y 30 °C
Control interno Panther Fusion S (IC-S)	Entre 2 °C y 8 °C	(En wFCR-S)	No aplicable
Tampón de elución Panther Fusion	Entre 15 °C y 30 °C	60 días	Entre 15 °C y 30 °C
Aceite Panther Fusion	Entre 15 °C y 30 °C	60 días	Entre 15 °C y 30 °C
Tampón de reconstitución Panther Fusion I	Entre 15 °C y 30 °C	60 días	Entre 15 °C y 30 °C
Cartucho positivo del Panther Fusion Paraflu	Entre 2 °C y 8 °C	Vial de un solo uso	No aplicable; un solo uso
Control negativo Panther Fusion	Entre 2 °C y 8 °C	Vial de un solo uso	No aplicable; un solo uso

Quando se extraen los reactivos del sistema Panther Fusion, estos deben volver de inmediato a las temperaturas de almacenamiento adecuadas.

¹ La estabilidad en el instrumento comienza en el momento en que el reactivo se coloca en el sistema Panther Fusion para el cartucho del ensayo Panther Fusion Paraflu, FCR-S, FER-S e IC-S. La estabilidad en el instrumento para el tampón de reconstitución Panther Fusion I, el tampón de elución Panther Fusion y el reactivo de aceite Panther Fusion comienza cuando se utiliza por primera vez el paquete de reactivo.

² Si se retira el cartucho de ensayo del sistema Panther Fusion, guardarlo en un recipiente hermético con desecante a la temperatura de almacenamiento recomendada.

- B. El reactivo de captura Panther Fusion S y el reactivo potenciador Panther Fusion S son estables durante 60 días cuando están tapados y se almacenan entre 15 °C y 30 °C. No refrigere los reactivos. Deseche todos los reactivos no utilizados que hayan excedido el período de estabilidad en el instrumento.
- C. Los controles son estables hasta la fecha indicada en los viales.
- D. Evite la contaminación cruzada durante el almacenamiento y la manipulación del reactivo.
- E. **No congele los reactivos.**

Recogida y almacenamiento de muestras biológicas

Muestras biológicas: material clínico recogido del paciente y colocado en un sistema de transporte adecuado. Para el ensayo Panther Fusion Paraflu, esto incluye muestras de hisopado nasofaríngeo en un medio de transporte viral (MTV).

Muestras: representan un término más genérico para describir cualquier material para analizar en el sistema Panther Fusion, incluidas las muestras biológicas, las muestras biológicas transferidas a un tubo de lisis de muestras biológicas Panther Fusion y los controles.

Nota: *manipule todas las muestras como si contuvieran agentes posiblemente infecciosos. Respete las precauciones universales.*

Nota: *tenga cuidado de evitar la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de muestras. Por ejemplo, deseche el material usado sin hacerlo pasar sobre tubos abiertos.*

A. Los tipos de muestras incluyen muestras de hisopado nasofaríngeo.

Recoja las muestras de hisopado nasofaríngeo según las técnicas patrón con un hisopo con punta de poliéster, rayón o nailon. Coloque inmediatamente la muestra de hisopado en 3 ml de MTV.

Los siguientes tipos de MTV se han verificado para el uso.

- Formulaciones MicroTest Remel, M4, M4RT, M5 o M6
- Medio de transporte universal Copan
- Medio de transporte viral universal BD

B. Procesamiento de muestras

1. Antes de realizar el análisis en el sistema Panther Fusion, transfiera la muestra* a un Panther Fusion Specimen Lysis Tube.

- Transfiera 500 µL de muestras de hisopado nasofaríngeo a un tubo de lisis de muestras Panther Fusion.

***Nota:** *al analizar una muestra congelada, permita que alcance la temperatura ambiente antes del procesamiento. No permita que la muestra supere los 3 ciclos de congelación/descongelación.*

2. Almacenamiento de muestras antes del análisis

- a. Después de la recogida, las muestras pueden almacenarse entre 2 °C y 8 °C hasta 96 horas antes de transferirse a un tubo de lisis de muestras Panther Fusion. Los volúmenes restantes de muestras pueden almacenarse a ≤ -70 °C hasta 24 meses.
- b. Las muestras del tubo de lisis de muestras Panther Fusion pueden almacenarse bajo una de las siguientes condiciones:
 - Entre 15 °C y 30 °C hasta 6 días, o
 - Entre 2 °C y 8 °C hasta 3 meses.

Nota: *se recomienda almacenar tapadas las muestras transferidas al tubo de lisis de muestras Panther Fusion y en posición vertical en una gradilla.*

C. Las muestras incluidas en el sistema Panther Fusion pueden guardarse para la realización de análisis adicionales con posterioridad.

D. Almacenamiento de muestras tras el análisis

1. Las muestras analizadas deben almacenarse en posición vertical en la gradilla según una de las condiciones siguientes:
 - Entre 15 °C y 30 °C hasta 6 días, o
 - Entre 2 °C y 8 °C hasta 3 meses.
2. Las muestras deben cubrirse con un papel de aluminio o una película de plástico limpios y nuevos.
3. Si es necesario congelar o enviar las muestras analizadas, retire los tapones penetrables y sustitúyalos por tapones nuevos no penetrables en los tubos de muestras. Si es necesario enviar las muestras para su análisis a otro laboratorio, se deben mantener las temperaturas recomendadas. Antes de destapar las muestras anteriormente analizadas y tapadas, se deben centrifugar los tubos de muestras durante 5 minutos a una fuerza centrífuga relativa (Relative Centrifugal Force, RCF) de 420 para llevar todo el líquido al fondo del tubo. Evite salpicaduras y todo tipo de contaminación cruzada.

Transporte de muestras

Mantenga las condiciones de conservación de las muestras como se describe en *Recogida y almacenamiento de muestras biológicas*.

Nota: las muestras deben enviarse respetando las normativas de transporte regional, nacional e internacional aplicables.

Panther Fusion System

El sistema Panther Fusion es un sistema integrado de pruebas de ácido nucleico que automatiza por completo todos los pasos necesarios para realizar varios ensayos Panther Fusion, desde el procesamiento de muestras hasta la amplificación, detección y reducción de datos.

Reactivos y materiales suministrados para el Panther Fusion Paraflu Assay

Paquete de ensayo

Componentes ¹	Ref.	Almac.
Cartuchos del Panther Fusion Paraflu Assay, 96 pruebas Cartucho del ensayo Panther Fusion Paraflu, 12 pruebas, 8 por caja	PRD-04329	Entre 2 °C y 8 °C
Control interno Panther Fusion S, 960 pruebas Tubo de control interno Panther Fusion S, 4 por caja	PRD-04332	Entre 2 °C y 8 °C
Controles Panther Fusion Paraflu Assay Tubo de control positivo Panther Fusion Paraflu, 5 por caja Tubo de control negativo Panther Fusion, 5 por caja	PRD-04337	Entre 2 °C y 8 °C
Reactivos de extracción Panther Fusion S, 960 pruebas Frasco de reactivo de captura Panther Fusion S, 240 pruebas, 4 por caja Frasco de reactivo potenciador Panther Fusion S, 240 pruebas, 4 por caja	PRD-04331	Entre 15 °C y 30 °C
Tampón de elución Panther Fusion, 2400 pruebas Paquete de tampones de elución Panther Fusion, 1200 pruebas, 2 por caja	PRD-04334	Entre 15 °C y 30 °C
Tampón de reconstitución Panther Fusion I, 1920 pruebas Panther Fusion Reconstitution Buffer I, 960 pruebas, 2 por caja	PRD-04333	Entre 15 °C y 30 °C
Reactivo de aceite Panther Fusion, 1920 pruebas Panther Fusion Oil Reagent, 960 pruebas, 2 por caja	PRD-04335	Entre 15 °C y 30 °C

¹Los componentes también pueden solicitarse en los siguientes paquetes:

Kit de fluidos universales Panther Fusion, PRD-04430, contiene 1 tampón de aceite Panther Fusion y 1 tampón de elución Panther Fusion.
Fluidos de ensayo Panther Fusion I-S, PRD-04431, contiene 2 reactivos de extracción Panther Fusion S, 2 controles internos Panther Fusion S y 1 tampón de reconstitución Panther Fusion I.

Productos envasados individualmente

Productos	Ref.
Tubos de lisis de muestras Panther Fusion, 100 por bolsa	PRD-04339

Material necesario y disponible por separado

Nota: a menos que se indique lo contrario, los materiales comercializados por Hologic aparecen en la lista con su referencia.

Material	N.º de catálogo
Declaración de conformidad de	303095
Panther Fusion Module	PRD-04173
Panther Fusion System	PRD-04172
Unidades multitubo (Multi-tube Unit, MTU)	104772-02
Juego de bolsas de desechos Panther	902731
Tapa del recipiente de desechos Panther	504405
O bien, el kit de ciclo para Panther System para ensayos en tiempo real contiene MTU, bolsas para desechos, tapas del recipiente de desechos y fluidos del ensayo	PRD-03455 (5000 pruebas)
O bien, el kit de ciclo para Panther System (cuando se procesan ensayos TMA junto con ensayos TMA en tiempo real) contiene MTU, bolsas para desechos, tapas del recipiente de desechos, detección automática* y fluidos del ensayo	303096 (5000 pruebas)
Bandejas de tubos Panther Fusion, 1008 pruebas, 18 bandejas por caja	PRD-04000
Puntas conductoras de 1000 µL, filtradas, detectoras de líquido y desechables. <i>No todos los productos están disponibles en todas las zonas. Póngase en contacto con su representante para obtener información específica para su zona</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Kit de fluidos del ensayo Aptima (Solución de lavado Aptima, tampón para fluido de desactivación Aptima y reactivo de aceite Aptima)	303014 (1000 pruebas)
Tapones perforables Aptima (opcionales)	105668
Tapones no perforables de reemplazo (opcionales)	103036A
Tapones de frascos de reactivo de extracción de repuesto	CL0040
Pipeteador P1000 y puntas con tapones hidrofóbicos	-
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5 al 8,25 % (de 0,7 M a 1,16 M)	-
Guantes desechables sin polvo	-
Cubiertas de bancos de laboratorio con revestimiento de plástico	-
Paños sin pelusa	-

* Solo necesario para ensayos Panther Aptima TMA.

Procedimiento de prueba del Panther Fusion System

Nota: consulte el Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System para obtener más información sobre los procedimientos.

A. Preparación del área de trabajo

1. Limpie las superficies de trabajo con una solución de hipoclorito de sodio al 2,5 %-3,5 % (0,35 M a 0,5 M). Deje la solución de hipoclorito de sodio en contacto con las superficies durante 1 minuto como mínimo y, a continuación, enjuague con agua desionizada (DI). No deje que la solución de hipoclorito de sodio se seque. Cubra la superficie de la mesa con una cubierta absorbente con forro de plástico para mesas de laboratorio limpia.
2. Limpie una superficie de trabajo independiente donde se prepararán las muestras según el procedimiento descrito en el paso A.1.
3. Limpie los pipeteadores que vaya a utilizar. Utilice el procedimiento de limpieza descrito más arriba (paso A.1).

B. Preparación de reactivos

1. Saque los frascos de IC-S, FCR-S y FER-S del lugar de almacenamiento.
2. Abra los frascos de IC-S, FCR-S y FER-S y deseche los tapones. Abra la puerta de TCR en el compartimento superior del sistema Panther Fusion.
3. Coloque los frascos de IC-S, FCR-S y FER-S en las posiciones adecuadas en el carrusel de TCR.
4. Cierre la puerta del TCR.

Nota: el sistema Panther Fusion añade el IC-S al FCR-S. Tras añadir el IC-S al FCR-S, se denomina wFCR-S (FCR-S de trabajo). Si el FCR-S y el FER-S se retiran del sistema, utilice tapones nuevos y almacene de inmediato según las condiciones adecuadas de almacenamiento.

C. Manipulación de muestras

Nota: prepare las muestras según las instrucciones de procesamiento específicas que se indican en Recogida y almacenamiento de muestras biológicas antes de cargar las muestras en el sistema Panther Fusion.

1. **No agite las muestras en un mezclador vórtex.**
2. Inspeccione los tubos de muestras antes de cargarlos en la gradilla. Si un tubo de muestras contiene burbujas o tiene un volumen inferior de lo que se observa generalmente, golpee moderadamente la parte inferior del tubo para transferir el contenido al fondo.

Nota: para evitar un error de procesamiento, asegúrese de añadir un volumen de muestras adecuado al tubo de lisis de muestras Panther Fusion. Al añadir 500 µL de muestras de hisopado nasofaríngeo al tubo de lisis de muestras Panther Fusion, hay volumen suficiente para realizar 3 extracciones de ácidos nucleicos.

D. Preparación del sistema

Para obtener instrucciones sobre cómo configurar el sistema Panther Fusion, incluida la carga de muestras, reactivos, cartuchos de ensayo y fluidos universales, consulte el *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System*.

Notas de procedimiento

A. Controles

1. El control positivo Panther Fusion Paraflu y el control negativo Panther Fusion pueden cargarse en cualquier posición en la gradilla y en cualquier carril del compartimento de muestras del sistema Panther Fusion.
2. Una vez pipeteados y procesados los tubos de control para el ensayo Panther Fusion Paraflu, permanecerán activos un máximo de 30 días (frecuencia de control configurada por un administrador), a menos que los resultados de los controles no sean válidos o cargue un nuevo lote de cartuchos de ensayo.
3. Cada tubo de control se puede analizar una vez.
4. El pipeteado de la muestra del paciente comienza cuando se cumple una de las dos siguientes condiciones:
 - a. Los resultados válidos para los controles se registran en el sistema.
 - b. El sistema está procesando actualmente un par de controles.

Control de calidad

El sistema Panther Fusion puede invalidar un ciclo o un resultado de muestra si se producen problemas durante la realización del ensayo. Las muestras con resultados no válidos deben analizarse de nuevo.

Controles negativo y positivo

Para generar resultados válidos, debe analizarse un conjunto de controles del ensayo. Una réplica del control de ensayo negativo y del control de ensayo positivo debe analizarse cada vez que un nuevo lote de cartuchos de ensayo se cargue en el sistema Panther Fusion, o cuando el conjunto actual de controles válidos para un lote de cartuchos activo haya caducado.

El sistema Panther Fusion está configurado para que los controles de ensayo se ejecuten en un intervalo especificado por el administrador de hasta 30 días. El software del sistema Panther Fusion alerta al usuario cuando es necesario realizar controles de ensayo y no se iniciarán nuevos análisis hasta que se hayan cargado los controles de ensayo y haya comenzado su procesamiento.

Durante el procesamiento, el sistema Panther Fusion verifica automáticamente los criterios de aceptación de los controles de ensayo. Para generar resultados válidos, los controles de ensayo deben superar una serie de comprobaciones de validez realizadas por el sistema Panther Fusion.

Si los controles de ensayo superan todas las comprobaciones de validez, se considerarán válidos durante el intervalo de tiempo especificado por el administrador. Cuando el intervalo de tiempo haya transcurrido, el sistema Panther Fusion invalida los controles de ensayo y exige que se analice un nuevo conjunto de controles de ensayo antes de comenzar el procesamiento de nuevas muestras.

Si alguno de los controles de ensayo no supera las comprobaciones de validez, el sistema Panther Fusion invalida automáticamente las muestras afectadas y exige que se analice un nuevo conjunto de controles de ensayo antes de iniciar el procesamiento de nuevas muestras.

Control interno

Un control interno se agrega a cada muestra durante el proceso de extracción. Durante el procesamiento, el software del sistema Panther Fusion verifica automáticamente los criterios de validación del control interno. La detección del control interno no es necesaria para las muestras que son positivas al HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 y/o HPIV-4. El control interno debe detectarse en todas las muestras que sean negativas para HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 y HPIV-4; las muestras que no cumplan esos criterios se notificarán como no válidas. Todas las muestras con un resultado no válido deberán volver a analizarse.

El sistema Panther Fusion se ha diseñado para verificar con precisión los procesos cuando los procedimientos se realizan según las instrucciones indicadas en este prospecto y el *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System*.

Interpretación de resultados

El sistema Panther Fusion determina automáticamente los resultados de la prueba para muestras y controles. Los resultados de la detección del HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 y HPIV-4 se notifican por separado. Un resultado de prueba puede ser negativo, positivo o no válido.

La Tabla 1 muestra los posibles resultados notificados en un ciclo válido y las interpretaciones de los resultados.

Tabla 1: Interpretación de resultados

Result. de HPIV-1	Result. de HPIV-2	Result. de HPIV-3	Result. de HPIV-4	Result. de IC	Interpretación
Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Válido	HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 y HPIV-4 no detectados.
Pos.	Neg.	Neg.	Neg.	Válido	HPIV-1 detectado. HPIV-2, HPIV-3 y HPIV-4 no detectados.
Neg.	Pos.	Neg.	Neg.	Válido	HPIV-2 detectado. HPIV-1, HPIV-3 y HPIV-4 no detectados.
Neg.	Neg.	Pos.	Neg.	Válido	HPIV-3 detectado. HPIV-1, HPIV-2 y HPIV-4 no detectados.
Neg.	Neg.	Neg.	Pos.	Válido	HPIV-4 detectado. HPIV-1, HPIV-2 y HPIV-3 no detectados
Pos.	Pos.	Neg.	Neg.	Válido	HPIV-1 y HPIV-2 detectados. HPIV-3 y HPIV-4 no detectados.
Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Válido	HPIV-1 y HPIV-3 detectados. HPIV-2 y HPIV-4 no detectados.
Pos.	Neg.	Neg.	Pos.	Válido	HPIV-1 y HPIV-4 detectados. HPIV-2 y HPIV-3 no detectados.
Neg.	Pos.	Pos.	Neg.	Válido	HPIV-2 y HPIV-3 detectados. HPIV-1 y HPIV-4 no detectados.
Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Válido	HPIV-2 y HPIV-4 detectados. HPIV-1 y HPIV-3 no detectados.
Neg.	Neg.	Pos.	Pos.	Válido	HPIV-3 y HPIV-4 detectados. HPIV-1 y HPIV-2 no detectados.
Pos.	Pos.	Pos.	Neg.	Válido	HPIV-1, HPIV-2 y HPIV-3 detectados. HPIV-4 no detectado. Las infecciones triples son poco frecuentes. Volver a analizar para confirmar el resultado.
Pos.	Pos.	Neg.	Pos.	Válido	HPIV-1, HPIV-2 y HPIV-4 detectados. HPIV-3 no detectado. Las infecciones triples son poco frecuentes. Volver a analizar para confirmar el resultado.
Pos.	Neg.	Pos.	Pos.	Válido	HPIV-1, HPIV-3 y HPIV-4 detectados. HPIV-2 no detectado. Las infecciones triples son poco frecuentes. Volver a analizar para confirmar el resultado.

Tabla 1: Interpretación de resultados (continuación)

Result. de HPIV-1	Result. de HPIV-2	Result. de HPIV-3	Result. de HPIV-4	Result. de IC	Interpretación
Neg.	Pos.	Pos.	Pos.	Válido	HPIV-2, HPIV-3 y HPIV-4 detectados. HPIV-1 no detectado. Las infecciones triples son poco frecuentes. Volver a analizar para confirmar el resultado.
Pos.	Pos.	Pos.	Pos.	Válido	HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 y HPIV-4 detectados. Las infecciones cuádruples son poco frecuentes. Volver a analizar para confirmar el resultado.
No válido	No válido	No válido	No válido	No válido	No válido. Se ha producido un error en la generación del resultado; volver a analizar la muestra.

Nota: el resultado Pos. irá acompañado de valores de umbral de ciclo (Ct).

Limitaciones

- A. El uso de este ensayo está limitado al personal con la formación debida en el procedimiento. El incumplimiento de estas instrucciones puede generar resultados erróneos.
- B. La obtención de resultados fiables depende de la adecuación de la recogida, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento de las muestras.
- C. Evite la contaminación siguiendo las prácticas adecuadas de laboratorio y los procedimientos especificados en este prospecto.
- D. Los resultados negativos no descartan las infecciones por HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 o HPIV-4, y no deben utilizarse como criterio único para decisiones de tratamiento u otros controles del paciente.
- E. Un resultado positivo indica la detección de ácido nucleico del virus correspondiente. El ácido nucleico puede persistir aun después de que el virus ya no sea viable.

Rendimiento del Panther Fusion System Assay

Rendimiento clínico: estudio retrospectivo

Para la evaluación con el ensayo Panther Fusion Paraflu, se utilizaron un total de 877 hisopos nasofaríngeos recogidos retrospectivamente de pacientes en EE. UU. Los resultados aparecen en la Tabla 2, Tabla 3, Tabla 4 y Tabla 5.

Para las muestras de hisopado nasofaríngeo, se diluyeron 500 µL en un tubo de lisis de muestras Panther Fusion que contenía 780 µL de medio de transporte de (MTM) y se analizó una sola réplica con el ensayo Panther Fusion Paraflu. El resultado de cada muestra se comparó con las pruebas de referencia utilizando una prueba comercial de ácido nucleico (NAT). Se determinó la sensibilidad y especificidad para la detección del ácido nucleico del HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 o HPIV-4 en comparación con los resultados de NAT de referencia.

Tabla 2: Resultados de HPIV-1

Tipo de muestra	N	HPIV-1+		HPIV-1-		Sensibilidad IC del 95 %	Especificidad IC del 95 %	Concordancia general IC del 95 %
		Fusion HPIV-1 +	Fusion HPIV-1 -	Fusion HPIV-1 +	Fusion HPIV-1 -			
Hisopado nasofaríngeo	877	20	0	0	857	100,0 % 83,9-100,0 %	100,0 % 99,6-100,0 %	100,0 % 99,6-100,0 %

Tabla 3: Resultados de HPIV-2

Tipo de muestra	N	HPIV-2+		HPIV-2-		Sensibilidad IC del 95 %	Especificidad IC del 95 %	Concordancia general IC del 95 %
		Fusion HPIV-2 +	Fusion HPIV-2 -	Fusion HPIV-2 +	Fusion HPIV-2 -			
Hisopado nasofaríngeo	877	43	0	0	834	100,0 % 91,8-100,0 %	100,0 % 99,5-100,0 %	100,0 % 99,6-100,0 %

Tabla 4: Resultados de HPIV-3

Tipo de muestra	N	HPIV-3+		HPIV-3-		Sensibilidad IC del 95 %	Especificidad IC del 95 %	Concordancia general IC del 95 %
		Fusion HPIV-3 +	Fusion HPIV-3 -	Fusion HPIV-3 +	Fusion HPIV-3 -			
Hisopado nasofaríngeo	877	45	0	3*	829	100,0 % 92,1-100,0 %	99,6 % 98,9-99,9 %	99,7 % 99,0-99,9 %

* Dos de las tres muestras discordantes se analizaron con un ensayo RT-PCR desarrollado y validado en el propio centro. El HPIV-3 se detectó en una de las muestras. Una muestra discordante no analizada tenía un volumen insuficiente.

Tabla 5: Resultados de HPIV-4

Tipo de muestra	N	HPIV-4+		HPIV-4-		Sensibilidad IC del 95 %	Especificidad IC del 95 %	Concordancia general IC del 95 %
		Fusion HPIV-4 +	Fusion HPIV-4 -	Fusion HPIV-4 +	Fusion HPIV-4 -			
		Hisopado nasofaríngeo	877	52	1*			

* Una muestra discordante no analizada tenía un volumen insuficiente.

Rendimiento clínico: estudio prospectivo

Este estudio se ha realizado para demostrar las características de rendimiento clínico del ensayo Panther Fusion Paraflu. Se realizó un estudio multicéntrico prospectivo con muestras de hisopado nasofaríngeo (NP) sobrantes de hombres y mujeres de todas las edades que presentaban signos o síntomas de una infección de las vías respiratorias. Cuatro hospitales pediátricos/para adolescentes, privados o universitarios, de EE. UU. que participaron obtuvieron 2961 muestras de hisopado nasofaríngeo sobrantes. Las muestras se analizaron con el ensayo Panther Fusion Paraflu, con cultivo vírico de referencia seguido de identificación directa de anticuerpos fluorescentes (DFA) (para HPIV-1, HPIV-2 y HPIV-3), y con 2 ensayos de PCR con transcriptasa inversa seguidos de secuenciación bidireccional (PCR/secuenciación, para HPIV-4). Se utilizó un ensayo de PCR validado para la prueba de resolución discordante para HPIV-1, HPIV-2 y HPIV-3; no se realizó ninguna prueba de resolución discordante para HPIV-4.

Las características de rendimiento se calcularon en relación con los resultados de PCR/secuenciación o cultivo/DFA válidos para cada muestra. La sensibilidad y la especificidad (para HPIV-1, HPIV-2 y HPIV-3) y el porcentaje de concordancia negativo y positivo (para HPIV-4) se calcularon con los correspondientes IC bilaterales para las puntuaciones del 95 %. Los análisis se realizaron de forma independiente para cada analito diana (HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 y HPIV-4).

De las 2961 muestras biológicas, se retiraron 31 muestras biológicas/muestras (debido a resultados de pruebas de referencia incompletos, volúmenes insuficientes para la prueba, caducidad antes de la prueba o manipulación incorrecta) y 2930 muestras se procesaron en ciclos de Panther Fusion Paraflu válidos, 2877 (98,2 %) obtuvieron resultados finales válidos (incluidas 7 muestras con resultados de referencia no válidos) y 53 (1,8 %) obtuvieron resultados finales no válidos. De las 2877 muestras con resultados Panther Fusion válidos, 1359 muestras fueron de mujeres y 1518 muestras fueron de hombres (ver la Tabla 6). De las muestras con resultados válidos de Panther Fusion Paraflu, 7 muestras con resultados de cultivo/DFA no válidos y 7 muestras con resultados de PCR/secuenciación no válidos se excluyeron de los análisis de rendimiento, dejando 2870 muestras evaluables para análisis en cada analito.

Tabla 6: Resumen de los datos demográficos de los sujetos para muestras prospectivas en la evaluación del Panther Fusion Paraflu Assay

		N (%)
Total		2877 (100)
Sexo	Mujeres	1359 (47,2)
	Hombres	1518 (52,8)
Grupo de edad	De 0 a 28 días	82 (2,9)
	29 días a <2 años	758 (26,3)
	De 2 a 5 años	407 (14,1)
	De 6 a 11 años	259 (9,0)
	De 12 a 17 años	184 (6,4)
	De 18 a 21 años	73 (2,5)
	De 22 a 64 años	694 (24,1)
	≥ 65 años	420 (14,6)

De las 2870 muestras evaluables analizadas con el ensayo Panther Fusion Paraflu, el 1,5 % (43/2870) fueron positivas para HPIV-1, el 1,3 % (37/2870) fueron positivas para HPIV-2, el 2,8 % (80/2870) fueron positivas para HPIV-3, y el 1,2 % (34/2870) fueron positivas para HPIV-4. Tabla 7 indica la positividad para cada analito por grupo de edad.

Tabla 7: Positividad del Panther Fusion Paraflu Assay por analito y grupo de edad

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

Se calcularon las características de rendimiento para la detección de HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 y HPIV-4 en muestras nasofaríngeas prospectivas (ver la Tabla 8).

Tabla 8: Rendimiento del Panther Fusion Paraflu Assay en relación con las pruebas de referencia

Analito	N	PR	PF	NR	NF	Prevalencia ¹ (IC del 95 %) ²	Sensibilidad/ PPA ³ (IC del 95 %) ²	Especificidad/ NPA ³ (IC del 95 %) ²
HPIV-1	2870	33	10 ⁴	2826	1 ⁴	1,2 (0,8-1,7)	97,1 (85,1-99,5)	99,6 (99,4-99,8)
HPIV-2	2870	22	15 ⁵	2831	2 ⁵	0,8 (0,6-1,2)	91,7 (74,2-97,7)	99,5 (99,1-99,7)
HPIV-3	2870	52	28 ⁶	2788	2 ⁶	1,9 (1,4-2,4)	96,3 (87,5-99,0)	99,0 (98,6-99,3)
HPIV-4	2870	29	5 ⁷	2835	1 ⁷	1,0 (0,7-1,5)	96,7 (83,3-99,4)	99,8 (99,6->99,9)

FN = falso negativo, FP = falso positivo, NPA = porcentaje de concordancia negativo, PPA = porcentaje de concordancia positivo, TP = positivo verdadero, TN = negativo verdadero.

¹Prevalencia del estudio informada.

²Intervalo de confianza para las puntuaciones.

³PPA y NPA se aplican a HPIV-4.

⁴8/10 resultados falsos positivos se confirmaron como positivos y 1/1 resultado falso negativo se confirmó como negativo para HPIV-1 mediante PCR.

⁵4/15 resultados falsos positivos se confirmaron como positivos y 2/2 resultados falsos negativos se confirmaron como negativos para HPIV-2 mediante PCR.

⁶26/28 resultados falsos positivos se confirmaron como positivos y 2/2 resultados falsos negativos se confirmaron como negativos para HPIV-4 mediante PCR.

⁷No se realizaron pruebas de resolución discordante en los 5 falsos positivos y 1 falso negativo para HPIV-4.

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica (límite de detección o LoD) del ensayo Panther Fusion Paraflu para el tipo de muestra de hisopado nasofaríngeo se determinó analizando una mezcla de muestras clínicas negativas de parainfluenza a las que se añadieron los cultivos virales siguientes en diversas concentraciones: HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 y HPIV-4. Se analizaron al menos doce réplicas con cada uno de los tres lotes de reactivo para un total combinado de 36 réplicas. Las concentraciones de LoD específicas de las dianas se verificaron analizando 20 réplicas adicionales con un lote de reactivo. La sensibilidad analítica (LoD) se define como la concentración más baja a la que el 95 % de todas las réplicas resultaron positivas, tal como se resume en la Tabla 9.

Tabla 9: Sensibilidad del hisopado nasofaríngeo

Cepa viral	Concentración de LoD
HPIV-1	1 x 10 ⁻² TCID ₅₀ /ml
HPIV-2	1 x 10 ² TCID ₅₀ /ml
HPIV-3	1 x 10 ¹ TCID ₅₀ /ml
HPIV-4	1 x 10 ^{0,5} TCID ₅₀ /ml

Especificidad analítica

La especificidad analítica del ensayo Panther Fusion Paraflu se evaluó analizando un panel de 58 microorganismos, compuesto de 31 microorganismos virales, 26 microorganismos bacterianos y 1 cepa de levadura, que representan patógenos respiratorios comunes o flora comúnmente presente en la nasofaringe. Las bacterias y la levadura se analizaron a concentraciones entre

10^5 y 10^8 UFC/ml o UFI/ml, excepto en casos donde se indique lo contrario. Los virus se analizaron a concentraciones entre 10^3 y 10^7 DICT₅₀/ml. Los virus HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 y HPIV-4 se analizaron a 1×10^2 DICT₅₀/ml.

La especificidad analítica del ensayo Panther Fusion Paraflu fue del 100 % para el HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 y HPIV-4 como se muestra en la Tabla 10.

Tabla 10: Resultados de especificidad

Organismo	Concentración	HPIV-1	HPIV-2	HPIV-3	HPIV-4
Adenovirus 1	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
Adenovirus 7a	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1×10^7 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Bordetella pertussis</i>	1×10^8 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	1×10^7 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1×10^5 UFC/ml	-	-	-	-
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> (anteriormente <i>Chlamydia pneumoniae</i>)	1×10^5 UFI/ml	-	-	-	-
Cepa del CMV AD 169	1×10^4 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
Coronavirus 229E	1×10^4 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Corynebacterium diphtheria</i>	1×10^7 UFC/ml	-	-	-	-
Coxsackie B4	1×10^6 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
Coxsackie B5/10/2006	1×10^5 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	1×10^7 UFC/ml	-	-	-	-
EBV	1×10^7 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
Echovirus 2	1×10^4 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
Echovirus 3	1×10^5 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
Echovirus 6	1×10^4 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
Echovirus 11	1×10^5 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
Enterovirus 68	1×10^5 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
Enterovirus 70	1×10^4 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Haemophilus Influenzae</i>	1×10^7 UFC/ml	-	-	-	-
HPIV-1, C35	1×10^2 DICT ₅₀ /ml	+	-	-	-
HPIV-2, Greer	1×10^2 DICT ₅₀ /ml	-	+	-	-
HPIV-3, C243	1×10^2 DICT ₅₀ /ml	-	-	+	-
HPIV-4a, M25	1×10^2 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	+
HPIV-4b, CH19503	1×10^2 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	+
hMPV subtipo A2	1×10^6 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
HSV-1 cepa Macinytre	1×10^5 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-

Tabla 10: Resultados de especificidad (continuación)

Organismo	Concentración	HPIV-1	HPIV-2	HPIV-3	HPIV-4
HSV-2 cepa tipo 2G	1 x 10 ⁵ DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
Gripe A (H1N1)	1 x 10 ⁴ DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
Gripe A (H3N2)	1 x 10 ⁴ DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
Influenza B	1 x 10 ⁴ DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 x 10 ⁷ UFC/ml	-	-	-	-
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1 x 10 ⁷ UFC/ml	-	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	1 x 10 ⁷ UFC/ml	-	-	-	-
Sarampión/7/2000	1 x 10 ⁵ DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1 x 10 ⁶ UFC/ml	-	-	-	-
Virus de las paperas	1 x 10 ⁴ DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1 x 10 ¹⁰ rRNA copias/ml	-	-	-	-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1 x 10 ¹⁰ rRNA copias/ml	-	-	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1 x 10 ⁶ UFC/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 ⁷ UFC/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i>	1 x 10 ⁷ UFC/ml	-	-	-	-
<i>Neisseria mucosa</i>	1 x 10 ⁷ UFC/ml	-	-	-	-
Virus de la polio	1 x 10 ⁶ DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	1 x 10 ⁷ UFC/ml	-	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 ⁷ UFC/ml	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 ⁷ UFC/ml	-	-	-	-
Rinovirus 1A	1 x 10 ⁵ DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
RSV A	1 x 10 ⁴ DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
RSV B	1 x 10 ⁴ DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁷ UFC/ml	-	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 ⁷ UFC/ml	-	-	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 x 10 ⁶ UFC/ml	-	-	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 x 10 ⁷ UFC/ml	-	-	-	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	1 x 10 ⁶ UFC/ml	-	-	-	-
<i>Tatlockia micdadei</i> (anteriormente <i>Legionella micdadei</i>)	1 x 10 ⁷ UFC/ml	-	-	-	-
Virus varicela-zóster	1 x 10 ³ DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-

Interferencia competitiva

La interferencia competitiva del ensayo Panther Fusion Paraflu se evaluó con una matriz clínica simulada con pares de virus diana a dos concentraciones diferentes. Una de las concentraciones era próxima al límite de detección (3-5x LoD), mientras que la otra concentración era alta (1000x LoD). La presencia de dos virus a concentraciones variables en una sola muestra no tuvo efecto sobre la sensibilidad analítica (detección del 100 % para ambas dianas) a la concentración indicada en la Tabla 11.

Tabla 11: Interferencia competitiva

Situación	Diana 1		Diana 2		Result. de HPIV-1	Result. de HPIV-2	Result. de HPIV-3	Result. de HPIV-4
	Descripción	Concentración	Descripción	Concentración				
1	HPIV-1	3x LoD	HPIV-2	1000x LoD	+	+	-	-
2	HPIV-1	3x LoD	HPIV-3	1000x LoD	+	-	+	-
3*	HPIV-1	5x LoD	HPIV-4	1000x LoD	+	-	-	+
4	HPIV-2	3x LoD	HPIV-1	1000x LoD	+	+	-	-
5	HPIV-2	3x LoD	HPIV-3	1000x LoD	-	+	+	-
6	HPIV-2	3x LoD	HPIV-4	1000x LoD	-	+	-	+
7	HPIV-3	3x LoD	HPIV-1	1000x LoD	+	-	+	-
8	HPIV-3	3x LoD	HPIV-2	1000x LoD	-	+	+	-
9	HPIV-3	3x LoD	HPIV-4	1000x LoD	-	-	+	+
10	HPIV-4	3x LoD	HPIV-1	1000x LoD	+	-	-	+
11	HPIV-4	3x LoD	HPIV-2	1000x LoD	-	+	-	+
12	HPIV-4	3x LoD	HPIV-3	1000x LoD	-	-	+	+

* Cuando esta combinación se analizó con el HPIV-1 a 3x LoD, la tasa de detección de HPIV-1 fue del 50,0 %.

Interferencia

En el ensayo Panther Fusion Paraflu se evaluaron la mucina, la sangre completa y otras sustancias potencialmente interferentes (medicamentos y fármacos de venta sin receta) que pueden estar presentes en las muestras. Se agregaron cantidades clínicamente significativas de sustancias potencialmente interferentes a la matriz clínica y fueron analizadas las muestras positivas y negativas con un cultivo de HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 y HPIV-4 a sus concentraciones correspondientes de 3 veces el LoD. Las sustancias consistían en aerosoles nasales (en forma líquida y polvos), píldoras ingeribles, pastillas, sustancias inyectables y endógenas, tal como se indica en la Tabla 12.

Se determinó que todas las sustancias analizadas no tenían ningún impacto en el rendimiento del ensayo Panther Fusion Paraflu.

Tabla 12: Sustancias potencialmente interferentes

Tipo	Nombre de la sustancia	Ingrediente(s) activo(s)	Concentración
Endógena	Mucina	Proteína purificada de mucina	60 µg/ml
	Sangre humana	Sangre	2 % v/v
Espráis o gotas nasales	Neo-Synephrine®	Fenilefrina	15 % v/v
	Anefrina	Oximetazolina	15 % v/v
	Salino	Cloruro sódico	15 % v/v
	Ventolin® HFA	Albuterol	15 % v/v
Corticoesteroides nasales	QVAR®, Beconase AQ	Beclometasona	5 % v/v
	Dexacort	Dexametasona	5 % v/v
	AEROSPAN®	Flunisolide	5 % v/v
	Nasacort	Triamcinolona	5 % v/v
	Rhinocort	Budesonida	5 % v/v
	Nasonex	Mometasona	5 % v/v
	Flonase	Fluticasona	5 % v/v
Gel nasal	Zicam® (Antialérgico)	Luffa operculata, Galphimia, Glauca, Histaminum hydrochloricum, azufre	5 % v/v
Pastillas para la garganta	Pastillas para la garganta Chloraseptic	Benzocaína Mentol	0,63 mg/ml
Medicamentos antivirales	Relenza®	Zanamivir	3,3 mg/ml
	TamiFlu	Oseltamivir	25 mg/ml
	Rebitol	Ribavirina	20 mg/ml
Antibiótico, pomada nasal	Bactroban en crema	Mupirocina	10 mg/ml
Antibióticos sistémico	Tobramicina	Tobramicina	4,0 µg/ml

Traspaso/contaminación

El estudio de traspaso/contaminación cruzada se realizó con muestras negativas colocadas alternativamente entre muestras positivas altas y analizadas. Se prepararon muestras positivas altas enriqueciéndolas (a más de 10 000x LoD). Nueve ciclos diferentes con muestras negativas y muestras positivas colocadas en un patrón de tablero de ajedrez se analizaron en tres instrumentos diferentes, para un total combinado de 450 muestras positivas y 450 muestras negativas. El índice de traspaso fue del 0,0 %.

Precisión del ensayo

La precisión del ensayo Panther Fusion Paraflu se evaluó con un panel de 9 elementos. Tres usuarios analizaron el panel en dos ciclos separados por día con tres lotes de reactivo en tres sistemas Panther Fusion durante 45 días.

Los elementos del panel se describen en la Tabla 13, junto con un resumen de la concordancia con los resultados previstos para cada una de las dianas. La Tabla 14 presenta el análisis de la media y variabilidad entre los instrumentos, entre lotes de reactivo, entre usuarios, entre días, entre ciclos y dentro de los ciclos y en general (total) para Ct.

Tabla 13: Descripción del panel y % de concordancia

Analito	Elemento del panel	% positivo	% de concordancia (IC del 95 %)
HPIV-1	HPIV-1 3x LoD	100,0 % (162/162)	100,0 % (97,7-100 %)
	HPIV-1 1x LoD	100,0 % (160/160)	100,0 % (97,7-100 %)
	HPIV-1 0,01x LoD	3,1 % (5/161)	96,9 % (92,9-98,7 %)
	Negativo	0,0 % (0/162)	100,0 % (97,7-100 %)
HPIV-2	HPIV-2 3x LoD	100,0 % (162/162)	100,0 % (97,7-100 %)
	HPIV-2 1x LoD	100,0 % (162/162)	100,0 % (97,7-100 %)
	HPIV-2 0,01x LoD	27,8 % (45/162)	72,2 % (64,9-78,5 %)
	Negativo	0,0 % (0/162)	100,0 % (97,7-100 %)
HPIV-3	HPIV-3 3x LoD	100,0 % (162/162)	100,0 % (97,7-100 %)
	HPIV-3 1x LoD	97,5 % (158/162)	97,5 % (93,8-99,0 %)
	HPIV-3 0,01x LoD	4,9 % (8/162)	95,1 % (90,6-97,5 %)
	Negativo	0,6 % (1/162)	99,4 % (96,6-99,9 %)
HPIV-4	HPIV-4 3x LoD	100,0 % (161/161)	100,0 % (97,7-100 %)
	HPIV-4 1x LoD	98,1 % (159/162)	98,1 % (94,7-99,4 %)
	HPIV-4 0,01x LoD	4,3 % (7/162)	95,7 % (91,4-97,9 %)
	Negativo	0,0 % (0/162)	100,0 % (97,7-100 %)

Tabla 14: Variabilidad de la señal

Diana	Elemento del panel	Media Ct	Entre instrumentos		Entre lotes de reactivo		Entre usuarios		Entre días		Entre ciclos		Dentro de ciclos		Total	
			DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV
HPIV-1	HPIV-1 3x LoD	35,2	0,0	0,0	0,1	0,2	0,0	0,0	0,1	0,3	0,0	0,0	0,4	1,1	0,4	1,2
	HPIV-1 1x LoD	37,0	0,0	0,0	0,1	0,4	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,6	1,7	0,6	1,8
	HPIV-1 0,01x LoD	42,3	0,3	0,9	0,4	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	1,0	0,7	1,7
HPIV-2	HPIV-2 3x LoD	32,8	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,3	0,3	0,9	0,3	1,0
	HPIV-2 1x LoD	34,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	1,5	0,5	1,5
	HPIV-2 0,01x LoD	40,7	0,1	0,3	0,0	0,1	0,0	0,0	0,3	0,8	0,0	0,0	1,1	2,8	1,2	3,0
HPIV-3	HPIV-3 3x LoD	35,5	0,5	1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,7	0,0	0,0	1,5	4,4	1,6	4,7
	HPIV-3 1x LoD	37,5	0,2	0,6	0,4	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	1,0	2,0	5,4	2,1	5,7
	HPIV-3 0,01x LoD	40,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,3	8,3	0,7	1,7	3,4	8,5
HPIV-4	HPIV-4 3x LoD	36,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,9	0,0	0,0	0,5	1,4	1,5	4,3	1,6	4,6
	HPIV-4 1x LoD	38,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	1,9	5,0	1,9	5,1
	HPIV-4 0,01x LoD	42,5	0,0	0,0	1,1	2,6	0,8	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	1,8	1,6	3,7
IC	Negativo	32,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,2	0,0	0,0	0,1	0,5	0,4	1,2	0,4	1,4

Reproducibilidad

La reproducibilidad del ensayo Panther Fusion Paraflu se evaluó en tres centros de EE. UU. con nueve elementos del panel. Las pruebas se realizaron empleando un lote de reactivos de ensayo y seis usuarios (dos en cada centro). En cada centro, se realizan ensayos durante al menos cinco días. Cada ciclo tuvo tres réplicas de cada elemento del panel.

Se creó un elemento del panel negativo utilizando una matriz de muestra de hisopado nasal simulado en medio de transporte vírico (VTM). Los elementos del panel positivos se crearon agregando concentraciones de 1-2x LoD (positivo bajo) o 2-3x LoD (positivo moderado) del analito diana en una matriz de muestra de hisopado nasal simulado, compuesta por células humanas cultivadas suspendidas en VTM.

La concordancia con los resultados esperados fue del 100 % en los elementos del panel negativos y positivos moderados y ≥ 96,6 % en los elementos del panel positivos bajos para HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 y HPIV-4, como se muestra en la Tabla 15.

Tabla 15: Concordancia de los resultados del Panther Fusion Paraflu Assay con los resultados previstos

Paneles			Resultados previstos HPIV-				Concordancia con los resultados previstos							
							HPIV-1		HPIV-2		HPIV-3		HPIV-4	
Desc.	Comp.	Conc. (TCID ₅₀ /ml)	1	2	3	4	N1	(%) IC del 95	N1	(%) IC del 95	N1	(%) IC del 95 %	N1	(%) IC del 95 %
HPIV-1 pos. bajo	1-2x LoD	1,00E-02	+	-	-	-	88/88	100 (95,8-100)	88/88	100 (95,8-100)	88/88	100 (95,8-100)	88/88	100 (95,8-100)
HPIV-1 pos. mod.	2-3x LoD	3,00E-02	+	-	-	-	89/89	100 (95,9-100)	89/89	100 (95,9-100)	89/89	100 (95,9-100)	89/89	100 (95,9-100)
HPIV-2 pos. bajo	1-2x LoD	1,00E+02	-	+	-	-	87/87	100 (95,8-100)	87/87	100 (95,8-100)	87/87	100 (95,8-100)	87/87	100 (95,8-100)
HPIV-2 pos. mod.	2-3x LoD	3,00E-02	-	+	-	-	89/89	100 (95,9-100)	89/89	100 (95,9-100)	89/89	100 (95,9-100)	89/89	100 (95,9-100)
HPIV-3 pos. bajo	1-2x LoD	1,00E+01	-	-	+	-	87/87	100 (95,8-100)	87/87	100 (95,8-100)	86/87	98,9 (93,8-99,8)	87/87	100 (95,8-100)
HPIV-3 pos. mod.	2-3x LoD	3,00E+01	-	-	+	-	89/89	100 (95,9-100)	89/89	100 (95,9-100)	89/89	100 (95,9-100)	89/89	100 (95,9-100)
HPIV-4 pos. bajo	1-2x LoD	3,16E+00	-	-	-	+	87/87	100 (95,8-100)	87/87	100 (95,8-100)	87/87	100 (95,8-100)	84/87	96,6 (90,3-98,8)
HPIV-4 pos. mod.	2-3x LoD	9,49E+00	-	-	-	+	88/88	100 (95,8-100)	88/88	100 (95,8-100)	88/88	100 (95,8-100)	88/88	100 (95,8-100)
Neg.	N/A	N/A	-	-	-	-	87/87	100 (95,8-100)	87/87	100 (95,8-100)	87/87	100 (95,8-100)	87/87	100 (95,8-100)

Desc.= descripción, Comp.= composición, Conc. = concentración, IC = intervalo de confianza para las puntuaciones, Mod. = moderado, N/A = no aplicable, Neg. = negativo, Pos. = positivo, TCID₅₀/ml = 50 % de la dosis infecciosa del cultivo de tejido (medida del título del virus).
 1Un total de 19 muestras tuvieron resultados finales no válidos y no se incluyeron en el cálculo de la concordancia general.

La variabilidad de la señal total de HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 y HPIV-4 medida como %CV se encontrada entre el 1,11 % y el 5,88 % en elementos del panel positivos bajos y moderados. En las fuentes de variación, excluyendo el factor en los ciclos, los valores %CV eran ≤1,40 %, como indica la Tabla 16.

Tabla 16: Variabilidad de la señal del Panther Fusion Paraflu Assay por elemento del panel

				Entre centros		Entre usuarios		Entre días		Entre ciclos		Dentro de ciclos		Total	
Panel Descripción	N	Ct media	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV	
HPIV-1 pos. bajo	88	37,2	0,0	0,0	<0,1	0,26	<0,1	0,21	<0,1	<0,1	0,79	2,13	0,80	2,16	
HPIV-1 pos. mod.	89	35,3	0,18	0,52	0,0	0,0	0,11	0,31	<0,1	<0,1	0,54	1,54	0,59	1,66	
HPIV-2 pos. bajo	87	34,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,13	0,38	<0,1	<0,1	0,49	1,43	0,51	1,48	
HPIV-2 pos. mod.	89	32,7	<0,1	0,16	<0,1	0,24	0,0	0,0	0,0	0,0	0,35	1,07	0,36	1,11	
HPIV-3 pos. bajo	86	37,8	0,14	0,37	0,31	0,81	0,0	0,0	0,0	0,0	1,81	4,78	1,84	4,87	
HPIV-3 pos. mod.	89	35,5	0,0	0,0	0,49	1,40	0,0	0,0	0,0	0,0	1,83	5,17	1,90	5,36	
HPIV-4 pos. bajo	84	38,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,52	1,35	<0,1	<0,1	2,20	5,72	2,26	5,88	
HPIV-4 pos. mod.	88	36,0	0,0	0,0	0,39	1,08	0,0	0,0	0,0	0,0	1,60	4,44	1,65	4,57	

Ct = umbral de ciclo, CV = coeficiente de variación, Mod = moderado, Pos = positivo, DE = desviación estándar.

Nota: en caso de que la variabilidad de algunos factores pueda ser numéricamente negativa, DE y CV se muestran como 0,0.

La variabilidad de la señal medida como %CV fue $\leq 3,01$ % entre los centros, entre usuarios, entre días o en general para los controles positivos del ensayo Panther Fusion Paraflu (ver la Tabla 17).

Tabla 17: Variabilidad de la señal de los controles del Panther Fusion Paraflu Assay

				Entre centros		Entre usuarios		Entre días		Entre ciclos		Dentro de ciclos		Total	
Control	Analito	N	Ct media	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV
Pos.	HPIV-1	30	34,0	0,0	0,0	<0,1	<0,1	0,21	0,62	0,0	0,0	0,43	1,28	0,48	1,42
	HPIV-2	30	32,2	0,0	0,0	0,0	0,0	<0,1	0,26	0,0	0,0	0,28	0,88	0,30	0,92
	HPIV-3	30	32,8	0,21	0,64	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,34	1,05	0,40	1,23
	HPIV-4	30	36,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,81	2,24	0,0	0,0	0,73	2,01	1,09	3,01

Ct = umbral de ciclo, CV = coeficiente de variación, Pos = positivo, DE = desviación estándar.

Nota: en caso de que la variabilidad de algunos factores pueda ser numéricamente negativa, DE y CV se muestran como 0,0.

Bibliografía

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

Información de contacto e historial de revisiones



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



Dirección del patrocinador australiano:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Para obtener la dirección de correo y el número de teléfono de la asistencia técnica y la atención al cliente específicos de cada país, visite www.hologic.com/support.

Este producto está diseñado para el uso exclusivo en el campo del diagnóstico in vitro en humanos.

Los incidentes graves que se produzcan en relación con el dispositivo en la Unión Europea deben comunicarse al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que esté establecido el usuario o el paciente.

Hologic y Panther Fusion son marcas comerciales o marcas registradas de Hologic, Inc. o de sus subsidiarias en los Estados Unidos o en otros países.

El resto de las marcas comerciales que puedan aparecer en este prospecto pertenecen a sus respectivos propietarios.

Este producto puede estar cubierto por una o más patentes estadounidenses identificadas en www.hologic.com/patents.

©2017-2022 Hologic, Inc. Todos los derechos reservados.

AW-23708-301 Rev. 001
2022-08

Historial de revisiones	Fecha	Descripción
AW-23708 Rev. 001	Agosto de 2022	<ul style="list-style-type: none"> Se han creado las instrucciones de uso del ensayo Panther Fusion Paraflu AW-23708 Rev. 001 de acuerdo con AW-16163 Rev. 003 para el cumplimiento normativo con IVDR. Se ha actualizado la información sobre riesgos en la UE. Se han actualizado las secciones de Rendimiento clínico: Información de estudios retrospectivos, prospectivos y de reproducibilidad, Materiales necesarios y disponibles por separado, y la sección Bibliografía. Se ha añadido información sobre la estabilidad de la muestra. Actualización de la información de contacto, incluida la siguiente: información sobre el representante de la Unión Europea, el marcado CE, el representante de Australia y la asistencia técnica. Varias actualizaciones de estilo y formato.