

Paraflu Assay (Panther Fusion™ System)

Instruções de Utilização
Para fins de diagnóstico *in vitro*
Exclusivamente para exportação dos EUA

Informações gerais	2
Utilização prevista	2
Resumo e explicação do teste	2
Princípios do procedimento	2
Advertências e precauções	3
Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes	6
Colheita e conservação de espécimes	7
Transporte de espécimes	8
Panther Fusion System	9
Reagentes e Materiais Fornecidos para o Panther Fusion Paraflu Assay	9
Materiais necessários, mas disponíveis em separado	10
Procedimento de teste no Panther Fusion System	11
Notas sobre o procedimento	12
Controlo de qualidade	13
Interpretação de resultados	14
Limitações	15
Desempenho do Panther Fusion System Assay	16
Desempenho clínico: Estudo retrospectivo	16
Desempenho clínico: Estudo prospetivo	17
Sensibilidade analítica	19
Especificidade analítica	20
Interferência competitiva	22
Interferência	22
Transmissão/contaminação	23
Precisão do ensaio	23
Reprodutibilidade	25
Bibliografia	28
Informações de contacto e histórico de revisões	29

Informações gerais

Utilização prevista

O Panther Fusion™ Paraflu Assay é um exame de diagnóstico *in vitro* de PCR (RT-PCR) multiplex, em tempo real, para a detecção e diferenciação rápidas e qualitativas do vírus 1 da parainfluenza, vírus 2 da parainfluenza, vírus 3 da parainfluenza e vírus 4 da parainfluenza (HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 e HPIV-4). Os ácidos nucleicos são isolados e purificados a partir de espécimes de esfregaços nasofaríngeos recolhidos de pessoas que apresentam sinais e sintomas de uma infecção do trato respiratório.

Este ensaio visa ajudar no diagnóstico diferencial de infecções em seres humanos pelo HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 e HPIV-4. Os resultados negativos não excluem as infecções pelo HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 e HPIV-4, e não devem ser utilizados como a única base para o tratamento ou outras decisões de gestão. Este ensaio foi concebido para ser usado no Panther Fusion System.

Resumo e explicação do teste

Os vírus da parainfluenza humana (HPIVs) pertencem à família *Paramyxoviridae*. Estes são vírus de RNA com invólucro, de cadeia simples e de polaridade negativa. Há quatro tipos (1 a 4). As características clínicas e epidemiológicas para cada tipo de HPIV podem variar. Nos Estados Unidos, as infecções associadas ao HPIV-1 normalmente ocorrem em anos ímpares, e as associadas ao HPIV-2 e HPIV-3 normalmente ocorrem anualmente. O HPIV normalmente infeta bebés e crianças, mas qualquer pessoa pode contrair uma infecção do HPIV. O HPIV-1 e o HPIV-2 causam difteria, com o HPIV-1 frequentemente identificado como a causa nas crianças. Ambos também podem causar doenças nas vias respiratórias superiores e inferiores, e sintomas parecidos com os da constipação. O HPIV-3 é mais frequentemente associado à bronquiolite, bronquite e pneumonia. O HPIV-4 não é reconhecido com tanta frequência, mas pode causar doenças do trato respiratório que vão do ligeiro ao grave. Desde o momento de exposição ao HPIV até ao aparecimento dos respetivos sintomas, o período de incubação é normalmente de 2 a 7 dias.¹

Princípios do procedimento

O Panther Fusion Paraflu Assay envolve três passos principais: lise celular da amostra, captura de ácidos nucleicos e transferência da eluição, e uma RT-PCR multiplex em que os analitos são simultaneamente amplificados, detetados e diferenciados. A captura e eluição de ácidos nucleicos são feitas num tubo individual no sistema Panther Fusion. O eluído é transferido para o tubo de reação Panther Fusion que contém os reagentes de ensaio. A RT-PCR multiplex é depois realizada para os ácidos nucleicos eluídos no sistema Panther Fusion.

Captura e eluição do ácido nucleico: Antes do processamento e realização de testes no sistema Panther Fusion, os espécimes são transferidos para um tubo de lise de espécimes que contém o meio de transporte de espécimes (STM) para lisar as células, libertar os ácidos nucleicos e os proteger da degradação durante o armazenamento.

O Controlo interno S (IC-S) é adicionado a cada espécime de teste e controlo através do Reagente de captura S Panther Fusion (wFCR-S). O IC-S no reagente monitoriza o processamento, amplificação e detecção de espécimes.

Os oligonucleótidos de captura hibridizam-se com os ácidos nucleicos nos espécimes de teste. Os ácidos nucleicos hibridizados são depois separados do espécime num campo magnético.

Os passos de lavagem retiram componentes estranhos do tubo de reação. O passo de eluição elui os ácidos nucleicos purificados. Durante o passo de captura e eluição do ácido nucleico, o ácido nucleico é completamente isolado dos espécimes.

Transferência de eluição e RT-PCR: Durante o passo de transferência da eluição, o ácido nucleico eluído é transferido para o tubo de reação Panther Fusion que já contém a mistura principal reconstituída e óleo.

A amplificação do alvo ocorre via RT-PCR. Uma transcriptase inversa é utilizada para gerar uma cópia do DNA da sequência-alvo. Em seguida, os "primers" e sondas frontais e inversos específicos do alvo amplificam os alvos, enquanto simultaneamente detetam e discriminam múltiplos tipos-alvo através de RT-PCR multiplex.

O sistema Panther Fusion compara o sinal de fluorescência a um "cut-off" predeterminado, para produzir um resultado qualitativo pela presença ou ausência do analito.

Os analisados e o canal usado para a sua detecção no sistema Panther Fusion estão resumidos na seguinte tabela.

Analito	Gene-alvo	Canal do instrumento
HPIV-1	Hemagglutinin neuraminidase	FAM
HPIV-2	Hemagglutinin neuraminidase	HEX
HPIV-3	Hemagglutinin neuraminidase	ROX
HPIV-4	Nucleocapsídeo	RED647
Controlo interno	Não aplicável	RED677

Advertências e precauções

- A. Para efeitos de diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profissional.

Relacionadas com o laboratório

- C. Leia atentamente todo este folheto informativo e o *Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System*.
- D. O Reagente estimulador S Panther Fusion (FER-S) é corrosivo, nocivo por ingestão, e provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
- E. Estes procedimentos só devem ser executados por pessoal com a respetiva formação profissional na utilização deste ensaio e no manuseamento de materiais potencialmente infecciosos. Se ocorrer um derrame, desinfete imediatamente, respeitando os procedimentos locais apropriados.
- F. Trate todos os espécimes como se fossem infecciosos, , utilizando procedimentos laboratoriais de segurança, tais como os descritos na secção de biossegurança em laboratórios de microbiologia e biomedicina⁸ do CDC/NIH, e no Documento M29 sobre proteção de funcionários de laboratórios contra infeções contraídas durante o trabalho do CLSI.⁹

- G. Use somente os artigos de laboratório descartáveis que sejam fornecidos ou especificados.
- H. Use luvas descartáveis e isentas de pó, proteção ocular e batas de laboratório quando manusear espécimes e reagentes. Lave muito bem as mãos depois de manusear espécimes e reagentes.
- I. Elimine todos os materiais que tenham entrado em contacto com espécimes e reagentes, e faça-o de acordo com os regulamentos locais, nacionais e internacionais aplicáveis.




Relacionadas com os espécimes

- J. As datas de validade listadas nos Tubos de Lise de Espécimes Panther Fusion referem-se à transferência de amostras para o tubo e não realização de testes da amostra. Os espécimes recolhidos/transferidos em qualquer data anterior a estas datas de expiração podem ser testados, desde que tenham sido transportados e conservados de acordo com o folheto informativo adequado, mesmo que as datas de expiração tenham sido ultrapassadas.
- K. Mantenha as condições de conservação adequadas durante o transporte de espécimes, para garantir a integridade do espécime. A estabilidade do espécime noutras condições de transporte que não as recomendadas não foi avaliada.

Relacionadas com o ensaio

- L. Evite a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento de espécimes. Os espécimes podem conter níveis extremamente elevados de vírus ou outros organismos. Certifique-se de que os recipientes de espécimes não entram em contacto uns com os outros e elimine os materiais usados sem passá-los por cima de quaisquer recipientes abertos. Mude de luvas se estas entrarem em contacto com espécimes.
- M. Não use os reagentes ou controlos depois da respetiva data de expiração.
- N. Conserve os componentes de ensaio nas condições de conservação recomendadas. Consulte as secções *Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes e Procedimento de teste no Panther Fusion System* para obter mais informações.
- O. Não combine quaisquer reagentes ou fluidos de ensaio. Não reabasteça reagentes ou fluidos; o sistema Panther Fusion verifica os níveis de reagente.
- P. Evite a contaminação microbiana e por ribonuclease dos reagentes.
- Q. Os requisitos de controlo de qualidade devem ser respeitados em conformidade com os requisitos locais/regionais ou de acreditação e os procedimentos padrão de controlo de qualidade do seu laboratório.
- R. Não use o cartucho de ensaio se a bolsa de conservação perder o selo, ou se a película do cartucho de ensaio não estiver intacta. Entre em contacto com a Hologic se isso ocorrer.
- S. Não utilize os pacotes de fluidos se o selo de alumínio vazar. Contacte a Hologic se isto se verificar.
- T. Manuseie os cartuchos de ensaio com cuidado. Não deixe que os cartuchos de ensaio caiam ou invertam. Evite a exposição prolongada à luz ambiente.

Nota: A informação sobre a comunicação de perigos reflete as classificações das Fichas de dados de segurança (SDS) da União Europeia. Para obter informações sobre as comunicações de perigo específicas da sua região, consulte a Biblioteca de fichas de dados de segurança, no endereço www.hologicds.com. Para obter mais informações sobre os símbolos, consulte a legenda dos símbolos em www.hologic.com/package-inserts.

Informações sobre riscos para a UE	
	<p>Óleo Panther Fusion <i>POLYDIMETHYLSILOXANE, 100%</i></p> <p>ATENÇÃO H315 - Provoca irritação cutânea H319 - Provoca irritação ocular grave</p>
	<p>Reagente estimulador Panther Fusion (FER) <i>LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE, 5-10%</i></p> <p>PERIGO H302 - Nocivo por ingestão H314 - Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves P260 - Não respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis P280 - Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial</p>
	<p>P303 + P361 + P353 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): despir/retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água/tomar um duche P305 + P351 + P338 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar P310 - Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico P280 - Usar protecção ocular/protecção facial</p>

Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes

A. A seguinte tabela fornece os requisitos de conservação e manuseamento para este ensaio.

Reagente	Conservação fechada	Estabilidade a bordo/aberta ¹	Conservação aberta
Cartucho de Panther Fusion Paraflu Assay	2 °C a 8 °C	60 dias	2 °C a 8 °C ²
Reagente de captura S Panther Fusion (FCR-S)	15 °C a 30 °C	30 dias	15 °C a 30 °C
Reagente estimulador S Panther Fusion (FER-S)	15 °C a 30 °C	30 dias	15 °C a 30 °C
Controlo interno S Panther Fusion (IC-S)	2 °C a 8 °C	(Em wFCR-S)	Não aplicável
Tampão de eluição Panther Fusion	15 °C a 30 °C	60 dias	15 °C a 30 °C
Óleo Panther Fusion	15 °C a 30 °C	60 dias	15 °C a 30 °C
Tampão de reconstituição I Panther Fusion	15 °C a 30 °C	60 dias	15 °C a 30 °C
Controlo Positivo Parainfluenza Panther Fusion	2 °C a 8 °C	Frasco de utilização única	Não aplicável – de utilização única
Controlo Negativo Panther Fusion	2 °C a 8 °C	Frasco de utilização única	Não aplicável – de utilização única

Quando os reagentes forem removidos do sistema Panther Fusion, devolva-os imediatamente às respetivas temperaturas de conservação.

¹A estabilidade de bordo começa no momento em que o reagente é colocado no sistema Panther Fusion, para o cartucho do Panther Fusion Paraflu Assay, FCR-S, FER-S e IC-S. A estabilidade de bordo para o Tampão de Reconstituição I Panther Fusion, Tampão de Eluição Panther Fusion e Reagente de Óleo Panther Fusion começa quando o reagente é usado pela primeira vez.

²Se for retirado do sistema Panther Fusion, conserve o cartucho de ensaio num recipiente hermético, com dessecante, à temperatura de conservação recomendada.

- B. O Reagente de Captura S Panther Fusion e o Reagente Potenciador S Panther Fusion permanecem estáveis durante 60 dias quando são tapados e conservados a uma temperatura de 15 °C a 30 °C. Não refrigere. Elimine quaisquer reagentes não usados que tenham ultrapassado a sua estabilidade a bordo do instrumento.
- C. Os controlos permanecem estáveis até à data indicada nos frascos.
- D. Evite a contaminação cruzada durante o manuseamento e conservação de reagentes.
- E. **Não congele os reagentes.**

Colheita e conservação de espécimes

Espécimes - Material clínico recolhido do paciente e colocado num sistema de transporte adequado. Para o Panther Fusion Paraflu Assay, inclui-se espécimes de exsudado nasofaríngeo num meio de transporte viral (VTM).

Amostras - Representa um termo mais genérico para descrever qualquer material a ser testado no sistema Panther Fusion, incluindo espécimes, espécimes transferidos para um tubo de lise de espécimes Panther Fusion e controlos.

Nota: *Manuseie todos os espécimes como se contivessem agentes potencialmente infecciosos. Respeite as precauções universais.*

Nota: *Tome cuidado para evitar a contaminação cruzada durante as etapas de manuseamento de espécimes. Por exemplo, elimine o material usado sem passar por cima de tubos abertos.*

A. Os tipos de espécimes incluem espécimes de esfregaços nasofaríngeos.

Recolha os espécimes de esfregaços nasofaríngeos de acordo com a técnica padrão, usando um esfregaço com uma ponta de poliéster, raiona ou náilon. Coloque imediatamente o espécime de esfregaço em 3 mL de meio de transporte viral (VTM).

Os seguintes tipos de meios de transporte viral foram verificados para uso.

- Formulações Remel MicroTest M4, M4RT, M5 ou M6
- Meio de transporte universal Copan
- Meio de transporte de vírus universal BD

B. Processamento de espécimes

1. Antes de proceder à realização de testes no sistema Panther Fusion, transfira o espécime* para o Panther Fusion Specimen Lysis Tube.

- Transfira 500 µL dos espécimes de esfregaços nasofaríngeos para um Tubo de Lise de Espécimes Panther Fusion.

***Nota:** *Ao testar espécimes congelados, deixe-os alcançar a temperatura ambiente antes de dar início ao processamento. Não permita que o espécime exceda 3 ciclos de congelação/descongelação.*

2. Conservação de espécimes antes da análise

a. Depois da colheita, os espécimes podem ser conservados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C, até 96 horas, antes de serem transferidos para o Tubo de lise de espécimes Panther Fusion. Os volumes de espécimes restantes podem ser conservados a ≤ -70 °C até 24 meses.

b. Os espécimes no Tubo de lise de espécimes Panther Fusion podem ser armazenados mediante uma das seguintes condições:

- Entre 15 °C e 30 °C, até seis dias;
- entre 2 °C e 8 °C, até 3 meses.

Nota: *Recomenda-se que os espécimes transferidos para o Tubo de Lise de Espécimes Panther Fusion sejam conservados tapados num suporte em posição vertical.*

C. As amostras dentro do sistema Panther Fusion podem ser arquivadas para testes adicionais posteriores.

D. Conservação de amostras depois da análise

1. As amostras já analisadas devem ser conservadas em posição vertical, num suporte, mediante uma das seguintes condições:
 - Entre 15 °C e 30 °C, até seis dias;
 - entre 2 °C e 8 °C, até 3 meses.
2. As amostras devem ser cobertas com uma película de plástico nova e limpa, ou com folha de alumínio.
3. Se as amostras analisadas tiverem que ser congeladas ou expedidas, retire a tampa perfurável dos tubos de espécimes e substitua-a por uma tampa não perfurável. Se as amostras tiverem que ser expedidas para análise noutra local, as temperaturas recomendadas terão que ser mantidas. Antes de destapar amostras previamente testadas e tapadas de novo, centrifugue os tubos de espécimes durante 5 minutos a uma Força Centrífuga Relativa (RCF) de 420 para levar todo o líquido para o fundo do tubo. Evite salpicos e contaminação cruzada.

Transporte de espécimes

Mantenha as condições de conservação de espécimes descritas em *Colheita e conservação de espécimes*.

Nota: Os espécimes devem ser expedidos de acordo com os regulamentos de transporte locais, nacionais e internacionais em vigor.

Panther Fusion System

O sistema Panther Fusion é um sistema de testes de ácidos nucleicos integrado, com todos os passos completamente automatizados para a realização de ensaios Panther Fusion, desde o processamento de amostras até à amplificação, deteção e redução de dados.

Reagentes e Materiais Fornecidos para o Panther Fusion Paraflu Assay

Embalagem do ensaio

Componentes ¹	Referência	Conservação
Cartuchos do Panther Fusion Paraflu Assay, 96 testes Cartucho do Panther Fusion Paraflu Assay, 12 testes, 8 por caixa	PRD-04329	2 °C a 8 °C
Controlo interno S Panther Fusion, 960 testes Tubo de controlo interno S Panther Fusion, 4 por caixa	PRD-04332	2 °C a 8 °C
Panther Fusion Paraflu Assay Controls Tubo de Controlo Positivo Parainfluenza Panther Fusion, 5 por caixa Tubo de controlo negativo Panther Fusion, 5 por caixa	PRD-04337	2 °C a 8 °C
Reagente de extração S Panther Fusion, 960 testes Frasco de reagente de captura S Panther Fusion, 240 testes, 4 por caixa Frasco de reagente estimulador S Panther Fusion, 240 testes, 4 por caixa	PRD-04331	15 °C a 30 °C
Tampão de eluição Panther Fusion, 2400 testes Embalagem do tampão de eluição Panther Fusion, 1200 testes, 2 por caixa	PRD-04334	15 °C a 30 °C
Tampão de reconstituição I Panther Fusion, 1920 testes Tampão de reconstituição I Panther Fusion, 960 testes, 2 por caixa	PRD-04333	15 °C a 30 °C
Reagente de óleo Panther Fusion, 1920 testes Reagente de óleo Panther Fusion, 960 testes, 2 por caixa	PRD-04335	15 °C a 30 °C

¹Os componentes também podem ser encomendados nos seguintes conjuntos:

o Kit de fluidos universais Panther Fusion, PRD-04430, contém 1 Óleo Panther Fusion e 1 Tampão de eluição Panther Fusion.
A embalagem de Fluidos I-S Panther Fusion Assay, PRD-04431, contém 2 Reagentes de extração S Panther Fusion, 2 Controlos internos S Panther Fusion e 1 Tampão de reconstituição I Panther Fusion.

Artigos embalados individualmente

Artigos	Referência
Tubos de Lise de Espécimes Panther Fusion, 100 por embalagem	PRD-04339

Materiais necessários, mas disponíveis em separado

Nota: Os materiais disponibilizados pela Hologic têm a indicação dos códigos de produto, a menos que o contrário seja especificado.

Material	Código produto
Panther System	303095
Módulo Panther Fusion	PRD-04173
Panther Fusion System	PRD-04172
Unidades multitubos (MTUs)	104772-02
Kit de sacos de resíduos Panther	902731
Tampa do recipiente de resíduos Panther	504405
Ou o Kit de execução do Panther System para ensaios em tempo real contém MTUs, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos e fluidos de ensaio	PRD-03455 (5.000 testes)
Ou o Kit de execução do Panther System (para executar ensaios TMA em paralelo com ensaios TMA em tempo real) contém MTUs, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos, Auto Detect* e fluidos de ensaio	303096 (5.000 testes)
Tabuleiros de tubos Panther Fusion, 1008 testes, 18 por caixa	PRD-04000
Pontas, 1000 µL, com filtro, condutoras, detecção de líquido e descartáveis. <i>Nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Contacte o seu representante para obter informações específicas da região</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Kit de fluidos Aptima Assay (Solução de lavagem Aptima, tampão para o fluido de desativação Aptima e reagente de óleo Aptima)	303014 (1000 testes)
Tampas perfuráveis Aptima (opcionais)	105668
Tampas não perfuráveis de substituição (opcionais)	103036A
Tampas de substituição para frascos de reagentes de extração	CL0040
Pontas e pipetador P1000, com encaixes hidrofóbicos	-
Lixívia, solução de hipoclorito de sódio de 5% a 8,25% (0,7 M a 1,16 M)	-
Luvas descartáveis e isentas de pó	-
Coberturas de bancada laboratorial com forro de plástico	-
Toalhetes que não larguem pelos	-

*Somente necessário para ensaios Panther Aptima TMA.

Procedimento de teste no Panther Fusion System

Nota: Consulte o Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System para obter mais informações sobre o procedimento.

A. Preparação da área de trabalho

1. Limpe as superfícies de trabalho com uma solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Permita que a solução de hipoclorito de sódio entre em contacto com as superfícies por pelo menos 1 minuto e depois lave com água desionizada (DI). Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio. Cubra a superfície da bancada com capas limpas, absorventes, com forro de plástico, indicadas para bancadas de laboratórios.
2. Limpe uma superfície de trabalho separada para preparar as amostras, usando o procedimento descrito no passo A.1.
3. Limpe os pipetadores. Siga o procedimento de limpeza supramencionado (passo A.1).

B. Preparação de reagentes

1. Retire os frascos de IC-S, FCR-S e FER-S da conservação.
2. Abra os frascos de IC-S, FCR-S e FER-S e elimine as tampas. Abra a porta de TCR na zona superior do sistema Panther Fusion.
3. Coloque os frascos de IC-S, FCR-S e FER-S nas posições apropriadas, no carrossel TCR.
4. Feche a porta de TCR.

Nota: O sistema Panther Fusion adiciona o IC-S ao FCR-S. Depois de adicionar o IC-S ao FCR-S, este passa a ser referido como wFCR-S (FCR-S de trabalho). Se o FCR-S e FER-S foram retirados do sistema, use novas tampas e conserve imediatamente de acordo com as condições de conservação adequadas.

C. Manuseamento de espécimes

Nota: Prepare os espécimes de acordo com as instruções de processamento de espécimes em Colheita e conservação de espécimes antes de carregar espécimes no sistema Panther Fusion.

1. **Não coloque as amostras no vórtex.**
2. Inspeccione os tubos de amostras antes de colocá-los no suporte. Se um tubo de amostra contiver bolhas ou um volume inferior ao que é normalmente observado, toque suavemente no fundo do tubo para deslocar o conteúdo para o fundo.

Nota: Para evitar um erro de processamento, adicione um volume de espécime adequado ao Tubo de lise de espécimes Panther Fusion. Quando são adicionados 500 µL de espécime de esfregaço nasofaríngeo ao tubo de lise de espécimes Panther Fusion, há volume suficiente para executar três extrações de ácido nucleico.

D. Preparação do sistema

Para obter instruções sobre como configurar o sistema Panther Fusion, incluindo sobre como carregar amostras, reagentes, cartuchos de ensaio e fluidos universais, consulte o *Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System*.

Notas sobre o procedimento

A. Controlos

1. O Controlo Positivo Parainfluenza Panther Fusion e o Controlo Negativo Panther Fusion podem ser carregados em qualquer posição de suporte, em qualquer corredor na zona de amostras, no sistema Panther Fusion.
2. Quando os tubos de controlo são pipetados e processados para o Panther Fusion Paraflu Assay, estes permanecem ativos por até 30 dias (com a frequência de controlo configurada por um administrador), a menos que os resultados de controlo sejam inválidos ou um novo lote de cartuchos de ensaio seja carregado.
3. Cada tubo de controlo só pode ser testado uma única vez.
4. A pipetagem do espécime do paciente começa quando se verifica uma das seguintes condições:
 - a. São registados resultados válidos para os controlos no sistema.
 - b. Um par de controlos está a ser processado pelo sistema.

Controlo de qualidade

Um resultado de espécime ou execução poderá ser invalidado pelo sistema Panther Fusion se ocorrerem problemas durante a realização do ensaio. Os espécimes com resultados inválidos devem ser novamente testados.

Controlos negativo e positivo

Para gerar resultados válidos, deve ser testado um conjunto de controlos de ensaio. Uma réplica do ensaio de controlo negativo e do ensaio de controlo positivo deve ser analisada sempre que um novo lote de cartuchos de ensaio é carregado no sistema Panther Fusion, ou quando o atual conjunto de controlos válidos para um lote de cartuchos de ensaio ativo perde a validade.

O sistema Panther Fusion é configurado para que os controlos de ensaio sejam executados com um intervalo (especificado pelo administrador) de até 30 dias. O software do sistema Panther Fusion alerta o operador quando os controlos de ensaio são necessários e não começa novos testes até os controlos de ensaio terem sido carregados e o processamento ter sido inicializado.

Durante o processamento, os critérios de aceitação dos controlos de ensaio são automaticamente verificados pelo sistema Panther Fusion. Para gerar resultados válidos, os controlos de ensaio devem passar por uma série de verificações de validade no sistema Panther Fusion.

Se os controlos de ensaio passarem todas as verificações de validade, estes serão considerados como válidos para o intervalo de tempo especificado pelo administrador. Quando o intervalo de tempo passar, os controlos de ensaio são expirados pelo sistema Panther Fusion, e um novo conjunto de controlos de ensaio deve ser analisado antes de iniciar quaisquer novas amostras.

Se qualquer um dos controlos de ensaio falhar as verificações de validade, o sistema Panther Fusion irá automaticamente invalidar as amostras afetadas, e um novo conjunto de controlos de ensaio deverá ser testado antes de iniciar quaisquer novas amostras.

Controlo interno

Um controlo interno é adicionado a cada amostra durante o processo de extração. Durante o processamento, os critérios de aceitação do controlo interno são automaticamente verificados pelo software do sistema Panther Fusion. A deteção do controlo interno não é necessária para as amostras que são positivas para HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 e/ou HPIV-4. O controlo interno deve ser detetado em todas as amostras que são negativas para alvos de HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 e HPIV-4; as amostras que não cumprem este critério são comunicadas como inválidas. Cada amostra com um resultado inválido deve ser analisada novamente.

O sistema Panther Fusion foi concebido para verificar os processos com precisão, quando os procedimentos são feitos de acordo com as instruções fornecidas neste folheto informativo e no *Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System*.

Interpretação de resultados

O sistema Panther Fusion determina automaticamente os resultados dos testes de amostras e controlos. Os resultados da deteção do HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 e HPIV-4 são apresentados em separado. O resultado de um teste pode ser negativo, positivo ou inválido.

A Tabela 1 apresenta os possíveis resultados comunicados numa execução válida, incluindo a interpretação dos mesmos.

Tabela 1: Interpretação de resultados

Resultado do HPIV-1	Resultado do HPIV-2	Resultado do HPIV-3	Resultado do HPIV-4	Resultado do IC	Interpretação
Neg	Neg	Neg	Neg	Valid (Válido)	HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 e HPIV-4 não detetados.
POS	Neg	Neg	Neg	Valid (Válido)	HPIV-1 detetado. HPIV-2, HPIV-3 e HPIV-4 não detetados.
Neg	POS	Neg	Neg	Valid (Válido)	HPIV-2 detetado. HPIV-1, HPIV-3 e HPIV-4 não detetados.
Neg	Neg	POS	Neg	Valid (Válido)	HPIV-3 detetado. HPIV-1, HPIV-2 e HPIV-4 não detetados.
Neg	Neg	Neg	POS	Valid (Válido)	HPIV-4 detetado. HPIV-1, HPIV-2 e HPIV-3 não detetados.
POS	POS	Neg	Neg	Valid (Válido)	HPIV-1 e HPIV-2 detetados. HPIV-3 e HPIV-4 não detetados.
POS	Neg	POS	Neg	Valid (Válido)	HPIV-1 e HPIV-3 detetados. HPIV-2 e HPIV-4 não detetados.
POS	Neg	Neg	POS	Valid (Válido)	HPIV-1 e HPIV-4 detetados. HPIV-2 e HPIV-3 não detetados.
Neg	POS	POS	Neg	Valid (Válido)	HPIV-2 e HPIV-3 detetados. HPIV-1 e HPIV-4 não detetados.
Neg	POS	Neg	POS	Valid (Válido)	HPIV-2 e HPIV-4 detetados. HPIV-1 e HPIV-3 não detetados.
Neg	Neg	POS	POS	Valid (Válido)	HPIV-3 e HPIV-4 detetados. HPIV-1 e HPIV-2 não detetados.
POS	POS	POS	Neg	Valid (Válido)	HPIV-1, HPIV-2 e HPIV-3 detetados. HPIV-4 não detetado. As infeções triplas são raras. Analise novamente para confirmar o resultado.
POS	POS	Neg	POS	Valid (Válido)	HPIV-1, HPIV-2 e HPIV-4 detetados. HPIV-3 não detetado. As infeções triplas são raras. Analise novamente para confirmar o resultado.
POS	Neg	POS	POS	Valid (Válido)	HPIV-1, HPIV-3 e HPIV-4 detetados. HPIV-2 não detetado. As infeções triplas são raras. Analise novamente para confirmar o resultado.

Tabela 1: Interpretação de resultados (continuação)

Resultado do HPIV-1	Resultado do HPIV-2	Resultado do HPIV-3	Resultado do HPIV-4	Resultado do IC	Interpretação
Neg	POS	POS	POS	Valid (Válido)	HPIV-2, HPIV-3 e HPIV-4 detetados. HPIV-1 não detetado. As infeções triplas são raras. Analise novamente para confirmar o resultado.
POS	POS	POS	POS	Valid (Válido)	HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 e HPIV-4 detetados. As infeções quadruplas são raras. Analise novamente para confirmar o resultado.
Inválido	Inválido	Inválido	Inválido	Inválido	Inválido. Ocorreu um erro na geração do resultado. Analise novamente a amostra.

Nota: O resultado POS será acompanhado por valores de limites cíclicos (Ct).

Limitações

- A. A utilização deste ensaio está limitada ao pessoal que tem a formação profissional para tal. O não cumprimento das instruções fornecidas neste folheto informativo pode produzir resultados erróneos.
- B. A fiabilidade dos resultados depende da colheita, do transporte, da conservação e do processamento adequados dos espécimes.
- C. A contaminação só pode ser evitada através da adesão às boas práticas laboratoriais e aos procedimentos especificados neste folheto informativo.
- D. Os resultados negativos não excluem as infeções pelo HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 ou HPIV-4, e não devem ser usados como a única base para o tratamento ou outras decisões de gestão.
- E. Um resultado positivo indica a deteção de ácido nucleico do vírus em causa. O ácido nucleico pode persistir mesmo depois de o vírus deixar de ser viável.

Desempenho do Panther Fusion System Assay

Desempenho clínico: Estudo retrospectivo

Um total de 877 esfregaços nasofaríngeos colhidos retrospectivamente de pacientes dos EUA foram utilizados para avaliação com o Panther Fusion Paraflu Assay. Os resultados são apresentados na Tabela 2, Tabela 3, Tabela 4 e Tabela 5.

Para os espécimes de exsudado nasofaríngeo, 500 µL foram diluídos para um tubo de lise para espécimes Panther Fusion, com 780 µL de meio de transporte de espécimes (STM), e uma única réplica foi analisada com o Panther Fusion Paraflu Assay. O resultado de cada espécime foi comparado com testes de referência utilizando um teste de ácido nucleico (NAT) comercial. A sensibilidade e especificidade para a detecção de ácidos nucleicos do HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 e HPIV-4 em comparação com os resultados do NAT de referência foram determinadas.

Tabela 2: Resultados do HPIV-1

Tipo de espécime	N	HPIV-1+		HPIV-1-		Sensibilidade CI de 95%	Especificidade CI de 95%	Concordância geral CI de 95
		Fusion HPIV-1 +	Fusion HPIV-1 -	Fusion HPIV-1 +	Fusion HPIV-1 -			
Exsudado nasofaríngeo	877	20	0	0	857	100,0% 83,9-100,0%	100,0% 99,6-100,0%	100,0% 99,6-100,0%

Tabela 3: Resultados do HPIV-2

Tipo de espécime	N	HPIV-2+		HPIV-2-		Sensibilidade CI de 95%	Especificidade CI de 95%	Concordância geral CI de 95
		Fusion HPIV-2 +	Fusion HPIV-2 -	Fusion HPIV-2 +	Fusion HPIV-2 -			
Exsudado nasofaríngeo	877	43	0	0	834	100,0% 91,8-100,0%	100,0% 99,5-100,0%	100,0% 99,6-100,0%

Tabela 4: Resultados do HPIV-3

Tipo de espécime	N	HPIV-3+		HPIV-3-		Sensibilidade CI de 95%	Especificidade CI de 95%	Concordância geral CI de 95
		Fusion HPIV-3 +	Fusion HPIV-3 -	Fusion HPIV-3 +	Fusion HPIV-3 -			
Exsudado nasofaríngeo	877	45	0	3*	829	100,0% 92,1-100,0%	99,6% 98,9-99,9%	99,7% 99,0-99,9%

*Dois dos três espécimes discordantes foram analisados com um ensaio RT-PCR desenvolvido e validado internamente. O HPIV-3 foi detectado em ambas as espécimes. As espécimes discordantes não analisadas tinham volumes insuficientes.

Tabela 5: Resultados do HPIV-4

Tipo de espécime	N	HPIV-4+		HPIV-4-		Sensibilidade CI de 95%	Especificidade CI de 95%	Concordância geral CI de 95
		Fusion HPIV-4 +	Fusion HPIV-4 -	Fusion HPIV-4 +	Fusion HPIV-4 -			
		Exsudado nasofaríngeo	877	52	1*			

*As espécimes discordantes não foram analisadas devido a volumes insuficientes.

Desempenho clínico: Estudo prospetivo

Este estudo foi feito para demonstrar o desempenho clínico do Panther Fusion Paraflu Assay. Foi realizado um estudo multicêntrico prospetivo com, restos de resíduos de espécimes de esfregaço nasofaríngeo de indivíduos do sexo masculino e do sexo feminino de todas as idades que apresentavam sinais e/ou sintomas de uma infeção do trato respiratório. Quatro hospitais privados e/ou universitários pediátricos/de adolescentes participantes dos EUA obtiveram 2961 restos de resíduos de espécimes de esfregaço nasofaríngeo. As amostras foram testadas com o Panther Fusion Paraflu assay, com uma cultura viral de referência, seguido de identificação de anticorpo por fluorescência direta (DFA) (para HPIV-1, HPIV-2 e HPIV-3), e com 2 ensaios PCR por transcrição inversa, seguido de sequenciação bidirecional (PCR/sequenciação, para HPIV-4). Foi utilizado um ensaio PCR validado para testes de resolução de discordâncias para HPIV-1, HPIV-2 e HPIV-3; não foram realizados testes de resolução de discordâncias para HPIV-4.

As características de desempenho foram estimadas em relação a resultados de cultura/DFA ou de PCR/sequenciação válidos para cada amostra. A sensibilidade e especificidade (para HPIV-1, HPIV-2 e HPIV-3) e a percentagem de concordância negativa e positiva (para HPIV-4) foram estimadas com os correspondentes CI de pontuação de 95% bilaterais. Foram realizadas análises separadamente para cada analito alvo. (HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 e HPIV-4).

Dos 2961 espécimes, 31 espécimes/amostras foram retirados (devido a resultados de testes de referência incompletos, volumes insuficientes para testes, expiração antes dos testes ou manuseamento incorreto), 2930 amostras foram processadas em execuções válidas no Panther Fusion Paraflu, 2877 (98,2%) tiveram resultados finais válidos (incluindo 7 amostras com resultados de referência inválidos) e 53 (1,8%) tiveram resultados inválidos. Das 2877 amostras com resultados do Panther Fusion válidos, 1359 amostras eram do sexo feminino e 1518 amostras eram do sexo masculino (consulte Tabela 6). Das amostras com resultados do Panther Fusion Paraflu válidos, 7 amostras com resultados de cultura/DFA inválidos e 7 amostras com resultados de PCR/sequenciação inválidos foram excluídas das análises de desempenho, deixando 2870 amostras avaliáveis para análise de cada analito.

Tabela 6: Resumo dos dados demográficos para amostras prospectivas na avaliação do Panther Fusion Paraflu Assay

		N (%)
Total		2877 (100)
Sexo	Feminino	1359 (47,2)
	Masculino	1518 (52,8)
Grupo etário	0 a 28 dias	82 (2,9)
	29 dias a < 2 anos	758 (26,3)
	2 a 5 anos	407 (14,1)
	6 a 11 anos	259 (9,0)
	12 a 17 anos	184 (6,4)
	18 a 21 anos	73 (2,5)
	22 a 64 anos	694 (24,1)
	≥ 65 anos	420 (14,6)

Das 2870 amostras avaliáveis testadas utilizando o Panther Fusion Paraflu assay, 1,5% (43/2870) eram positivas para HPIV-1, 1,3% (37/2870) eram positivas para HPIV-2, 2,8% (80/2870) eram positivas HPIV-3 e 1,2% (34/2870) eram positivas para HPIV-4.. A Tabela 7 mostra a positividade de cada analito por grupo etário.

Tabela 7: Positividade no Panther Fusion Paraflu Assay por analito e grupo etário

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

Foram calculadas as características de desempenho para a detecção de HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 e HPIV-4 em amostras nasofaríngeas prospectivas (consulte a Tabela 8).

Tabela 8: Desempenho do Panther Fusion Paraflu Assay relativamente a testes de referência

Analito	N	PV	PF	NV	NF	Prevalência ¹ (CI de 95%) ²	Sensibilidade /PPA ³ (CI de 95%) ²	Especificidade/ NPA ³ (CI de 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)

NF= negativo falso, PF= positivo falso, NPA= percentagem de concordância negativa, PPA= percentagem de concordância positiva, VP= verdadeiro positivo, NV= negativo verdadeiro.

¹Prevalência do estudo comunicada.

²Intervalo de confiança da pontuação.

³PPA e NPA aplicadas a HPIV-4.

⁴8/10 resultados positivos falsos foram confirmados como positivos e 1/1 resultado negativo falso foi confirmado como negativo para HPIV-1 por PCR.

⁵4/15 resultados positivos falsos foram confirmados como positivos e 2/2 resultados negativos falsos foram confirmados como negativos para HPIV-2 por PCR.

⁶26/28 resultados positivos falsos foram confirmados como positivos e 2/2 resultados negativos falsos foram confirmados como negativos para HPIV-4 por PCR.

⁷Não foram realizados testes de resolução de discordâncias para os 5 resultados positivos falsos e 1 resultado negativo falso para HPIV-4.

Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica (limite de detecção (LoD)) do Panther Fusion Paraflu Assay para o tipo de espécime de exsudado nasofaríngeo foi determinada pela realização de testes a espécimes clínicos negativos de parainfluenza agrupados, misturados com as seguintes culturas de vírus a várias concentrações: HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 e HPIV-4. Pelo menos doze réplicas foram analisadas com cada um dos três lotes de reagentes, para um total combinado de 36 réplicas. Concentrações de LD específicas do alvo foram verificadas através da análise de 20 réplicas adicionais com um único lote de reagente. A sensibilidade analítica (LoD) é definida como a concentração mais baixa, à qual ³95% de todas as réplicas foram testadas e identificadas como positivas, tal como resumido na Tabela 9.

Tabela 9: Sensibilidade à zangaratoa da nasofaringe

Estirpe viral	Concentração de LoD
HPIV-1	1x10 ⁻² TCID ₅₀ /mL
HPIV-2	1x10 ² TCID ₅₀ /mL
HPIV-3	1x10 ¹ TCID ₅₀ /mL
HPIV-4	1x10 ^{0,5} TCID ₅₀ /mL

Especificidade analítica

A especificidade analítica do Panther Fusion Paraflu Assay foi avaliada ao analisar um painel de 58 organismos, consistindo de 31 virais, 26 bactericidas e 1 estirpe de fungo, representando agentes patogênicos respiratórios comuns, ou flora normalmente presente na nasofaringe. Bactérias e fungos foram analisados em concentrações de 10^5 a 10^8 CFU/mL ou IFU/mL, exceto quando indicado. Vírus foram testados em concentrações de 10^3 a 10^7 TCID₅₀/mL. HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 e HPIV-4 foram analisados a 1×10^2 TCID₅₀/mL.

A especificidade analítica do Panther Fusion Paraflu Assay foi de 100% em relação ao HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 e HPIV-4, conforme indicado na Tabela 10.

Tabela 10: Resultados de especificidade

Organismo	Concentração	HPIV-1	HPIV-2	HPIV-3	HPIV-4
Adenovírus 1	1×10^5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Adenovírus 7a	1×10^5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1×10^7 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Bordetella pertussis</i>	1×10^8 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	1×10^7 CFU/ml	-	-	-	-
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1×10^5 CFU/mL	-	-	-	-
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> (anteriormente chamado de <i>Chlamydia pneumoniae</i>)	1×10^5 IFU/mL	-	-	-	-
Estirpe CMV AD 169	1×10^4 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Coronavírus 229E	1×10^4 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>Corynebacterium diphtheria</i>	1×10^7 CFU/mL	-	-	-	-
Coxsackie B4	1×10^6 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Coxsackie B5/10/2006	1×10^5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	1×10^7 CFU/mL	-	-	-	-
EBV	1×10^7 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Ecovírus 2	1×10^4 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Ecovírus 3	1×10^5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Ecovírus 6	1×10^4 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Ecovírus 11	1×10^5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Enterovírus 68	1×10^5 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Enterovírus 70	1×10^4 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>Haemophilus Influenzae</i>	1×10^7 CFU/mL	-	-	-	-
HPIV-1, C35	1×10^2 TCID ₅₀ /mL	+	-	-	-
HPIV-2, Greer	1×10^2 TCID ₅₀ /mL	-	+	-	-
HPIV-3, C243	1×10^2 TCID ₅₀ /mL	-	-	+	-
HPIV-4a, M25	1×10^2 TCID ₅₀ /mL	-	-	-	+

Tabela 10: Resultados de especificidade (continuação)

Organismo	Concentração	HPIV-1	HPIV-2	HPIV-3	HPIV-4
HPIV-4b, CH19503	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	-	+
hMPV Subtipo A2	1x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Estirpe Macinytre HSV-1	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Estirpe HSV-2 Tipo 2G	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Gripe A (H1N1)	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Gripe A (H3N2)	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
Influenza B	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumonia</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-	-
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-	-
Sarampo/7/2000	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-	-
Vírus da papeira	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1x10 ¹⁰ cópias de rRNA/mL	-	-	-	-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1x10 ¹⁰ cópias de rRNA/ml	-	-	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-	-
<i>Neisseria gonorrhoea</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-	-
<i>Neisseria mucosa</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-	-
Vírus da poliomielite	1x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-	-
Rinovírus 1A	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
RSV A	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
RSV B	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-	-
<i>Tatlockia micdadei</i> (anteriormente chamado de <i>Legionella micdadei</i>)	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-	-
Vírus da varicela zóster	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	-	-	-	-

Interferência competitiva

A interferência competitiva do Panther Fusion Paraflu Assay foi avaliada com uma matriz clínica simulada, com pares de vírus-alvo em duas concentrações diferentes. Uma das concentrações esteve próxima do limite de detecção (3 - 5X de LoD), enquanto a outra concentração esteve alta (1000X de LoD). A presença de dois vírus em concentrações variáveis numa única amostra não exerceu nenhum efeito sobre a sensibilidade analítica (100% de detecção para ambos os alvos) na concentração, conforme indicado na Tabela 11.

Tabela 11: Interferência competitiva

Condição	Alvo 1		Alvo 2		Resultado do HPIV-1	Resultado do HPIV-2	Resultado do HPIV-3	Resultado do HPIV-4
	Descrição	Concentração	Descrição	Concentração				
1	HPIV-1	3X LoD	HPIV-2	1.000X de LoD	+	+	-	-
2	HPIV-1	3X LoD	HPIV-3	1.000X de LoD	+	-	+	-
3*	HPIV-1	5X LD	HPIV-4	1.000X de LoD	+	-	-	+
4	HPIV-2	3X LoD	HPIV-1	1.000X de LoD	+	+	-	-
5	HPIV-2	3X LoD	HPIV-3	1.000X de LoD	-	+	+	-
6	HPIV-2	3X LoD	HPIV-4	1.000X de LoD	-	+	-	+
7	HPIV-3	3X LoD	HPIV-1	1.000X de LoD	+	-	+	-
8	HPIV-3	3X LoD	HPIV-2	1.000X de LoD	-	+	+	-
9	HPIV-3	3X LoD	HPIV-4	1.000X de LoD	-	-	+	+
10	HPIV-4	3X LoD	HPIV-1	1.000X de LoD	+	-	-	+
11	HPIV-4	3X LoD	HPIV-2	1.000X de LoD	-	+	-	+
12	HPIV-4	3X LoD	HPIV-3	1.000X de LoD	-	-	+	+

*Quando esta combinação foi testada com o HPIV-1 a 3X de LoD, a taxa de detecção do HPIV-1 era de 50,0%.

Interferência

Mucina, sangue total e outras substâncias potencialmente interferentes (medicamentos vendidos mediante receita médica e produtos vendidos sem receita médica) que podem estar presentes nas amostras foram avaliadas no ensaio Panther Fusion Paraflu. Foram adicionadas quantidades clinicamente relevantes das substâncias potencialmente interferentes à matriz clínica simulada e testadas de forma não misturada e misturada com uma cultura de HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 e HPIV-4 nas suas respectivas concentrações (3X LoD). As substâncias consistiam em sprays nasais (líquidos e em pó), comprimidos ingeríveis, pastilhas e substâncias injetáveis e endógenas, tal como mostrado na Tabela 12.

Chegou-se à conclusão de que todas as substâncias testadas não exercem impacto sobre o desempenho do ensaio Panther Fusion Paraflu.

Tabela 12: Substâncias potencialmente interferentes

Tipo	Nome da substância	Ingrediente(s) ativos(s)	Concentração
Endógeno	Mucina	Proteína de mucina purificada	60 µg/mL
	Sangue humano	Sangue	2% v/v
Sprays ou gotas nasais	Neo-Sinefrina®	Fenilefrina	15% v/v
	Anefrina	Oximetazolina	15% v/v
	Soro fisiológico	Cloreto de sódio	15% v/v
	Ventolin® HFA	Albuterol	15% v/v
Corticosteroides nasais	QVAR®, Beconase AQ	Beclometasona	5% v/v
	Dexacort	Dexametasona	5% v/v
	AEROSPAN®	Flunisolida	5% v/v
	Nasacort	Triancinolona	5% v/v
	Rhinocort	Budesonida	5% v/v
	Nasonex	Mometasona	5% v/v
	Flonase	Fluticasona	5% v/v
Gel nasal	Zicam® (Alívio de Alergias)	Luffa operculata, Galphimia, Glauca, Histaminum hydrochloricum, Sulfur	5% v/v
Pastilhas para a garganta	Pastilhas para a Garganta Chloraseptic	Benzocaína Mentol	0,63 mg/mL
Medicamentos antivirais	Relenza®	Zanamivir	3,3 mg/mL
	TamiFlu	Oseltamivir	25 mg/mL
	Rebitol	Ribavirina	20 mg/mL
Antibiótico (pomada nasal)	Crema Bactroban	Mupirocina	10 mg/mL
Antibiótico (sistêmico)	Tobramicina	Tobramicina	4,0 µg/mL

Transmissão/contaminação

O estudo da transmissão/contaminação cruzada foi feito com amostras negativas, alternadamente colocadas entre amostras positivas altas e testadas. As amostras positivas altas foram preparadas através da mistura (mais de 10 000X LoD). Nove execuções separadas - com amostras negativas e positivas colocadas num padrão de tabuleiro de xadrez - foram testadas com três instrumentos diferentes, para um total combinado de 450 amostras positivas e 450 amostras negativas. A taxa de transmissão foi de 0,0%.

Precisão do ensaio

A precisão do Panther Fusion Paraflu Assay foi avaliada com um painel de nove membros. O painel foi testado por três operadores, em duas execuções separadas por dia, utilizando três lotes de reagentes em três sistemas Panther Fusion, durante 45 dias.

Os membros do painel estão descritos na Tabela 13, juntamente com um resumo da concordância com os resultados esperados para cada alvo. A Tabela 14 apresenta a análise da média e variabilidade entre instrumentos, entre lotes de reagentes, entre operadores, entre dias, entre execuções e em execuções, e em geral (total) para o Ct.

Tabela 13: Descrição do painel e concordância percentual

Analito	Membro do painel	% Positivo	% de concordância (CI de 95%)
HPIV-1	HPIV-1 3x LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97,7 - 100%)
	HPIV-1 1x de LoD	100,0% (160/160)	100,0% (97,7 - 100%)
	HPIV-1 0,01x de 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 de LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97,7 - 100%)
	HPIV-2 0,01x de 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 de LoD	97,5% (158/162)	97,5% (93,8 - 99,0%)
	HPIV-3 0,01x de 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 de LoD	98,1% (159/162)	98,1% (94,7-99,4%)
	HPIV-4 0,01x de LoD	4,3% (7/162)	95,7% (91,4 - 97,9%)
	Negativo	0,0% (0/162)	100,0% (97,7 - 100%)

Tabela 14: Variabilidade do sinal

Alvo	Membro do painel	Média Ct	Entre instrumentos		Entre lotes de reagentes		Entre operadores		Entre dias		Entre execuções		Em execuções		Total	
			DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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 de 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

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do Panther Fusion Paraflu Assay foi avaliada em três locais nos Estados Unidos, com um painel de nove membros. Fizeram-se testes com um lote de reagentes de ensaio e seis operadores (dois em cada instalação clínica). Em cada centro, o teste foi realizado durante pelo menos cinco dias. Cada execução teve três réplicas de cada membro do painel.

Foi criado um membro do painel negativo utilizando uma matriz de espécime de esfregaço nasal em meio de transporte viral (VTM). Os membros do painel positivo foram criados misturando concentrações de 1-2X LoD (positivo baixo) ou 2-3X LoD (positivo moderado) do analito alvo numa matriz de espécime de esfregaço nasal simulado, composta por células humanas em cultura suspensas em VTM.

A concordância com os resultados esperados foi de 100% nos membros do painel negativo e positivo e $\geq 96,6\%$ nos membros do painel positivo baixo para HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 e HPIV-4, como mostrado na Tabela 15.

Tabela 15: Concordância dos resultados do Panther Fusion Paraflu Assay com os resultados esperados

Painéis			Resultados esperados HPIV-				Concordância com os resultados esperados							
							HPIV-1		HPIV-2		HPIV-3		HPIV-4	
Desc.	Comp	Conc. (TCID ₅₀ /mL)	1	2	3	4	N1	(%) CI de 95%	N1	(%) CI de 95%	N1	(%) CI de 95%	N1	(%) CI de 95%
HPIV-1 Pos. baixo	1-2X LD	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. baixo	1-2X LD	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. baixo	1-2X LD	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. baixo	1-2X LD	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/D	N/D	-	-	-	-	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.= descrição, Comp.= composição, Conc.= concentração, CI= Intervalo de confiança da pontuação Mod=moderado, N/A=não aplicável, Neg=negativo, Pos=positivo, TCID₅₀/mL=50% de dose infecciosa de cultura do tecido (medição do nível de vírus).

¹ Um total de 19 amostras tiveram resultados finais inválidos e não foram incluídas no cálculo da concordância geral.

A variabilidade total do sinal de HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 e HPIV-4 medida como %CV variou de 1,11% a 5,88% em membros positivos baixos e positivos moderados do painel. Para as fontes de variação, exceto o fator "dentro das execuções", os valores de %CV foram $\leq 1,40\%$, conforme indicado na Tabela 16.

Tabela 16: Variabilidade do sinal do Panther Fusion Paraflu Assay por membro de painel

				Entre instalações		Entre operadores		Entre dias		Entre execuções		Em execuções		Total	
Painel Descrição	N	Média do Ct	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	
HPIV-1 Pos. baixo	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. baixo	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. baixo	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. baixo	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 = limite cíclico, CV = coeficiente de variação, Mod=moderado, Pos = Positivo, DP = desvio padrão.

Nota: Caso a variabilidade de alguns fatores possa ser numericamente negativa, o DP e o CV são mostrados como 0,0.

A variabilidade do sinal medida como %CV foi $\leq 3,01\%$ entre locais, entre operadores, entre dias ou geral para os controlos positivos do Panther Fusion Paraflu Assay (consulte a Tabela 17).

Tabela 17: Variabilidade do sinal dos controlos do Panther Fusion Paraflu Assay

				Entre instalações		Entre operadores		Entre dias		Entre execuções		Em execuções		Total	
Controlo	Analito	N	Média do Ct	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	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 = limite cíclico, CV = coeficiente de variação, Pos = Positivo, DP = desvio padrão.

Nota: Caso a variabilidade de alguns fatores possa ser numericamente negativa, o DP e o CV são mostrados como 0,0.

Bibliografia

1. Centers for Disease Control and Prevention. Human Parainfluenza Viruses (HPIVs). <http://www.cdc.gov/parainfluenza/index.html>. Consultado em novembro de 2015.
2. Bousse, T., and Takimoto, T. 2006. Mutation at Residue 523 creates a second receptor binding site on Human Parainfluenza Virus Type 1 Hemagglutinin-Neuraminidase Protein. *J Vir.* 80(18): 9009- 9016.
3. Osiowy, C. 1998. Direct Detection of Respiratory Syncytial Virus, Parainfluenza Virus and Adenovirus in Clinical Respiratory Specimens by a Multiplex Reverse Transcription-PCR Assay. *J Clin Micro.* 36(11): 3149-3154.
4. Centers for Disease Control and Prevention. National Respiratory and Enteric Virus Surveillance.
5. System. <http://www.cdc.gov/surveillance/nrevss/>. Consultado a 6 de fevereiro 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; Web site. <https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>. Novembro de 2020.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Document M29. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Web site do CLSI <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/> (April 4, 2022).

Informações de contacto e histórico de revisões



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



Endereço do promotor australiano:
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd
Macquarie Park NSW 2113



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Para obter o endereço de e-mail e o número de telefone do Suporte técnico e do Apoio ao Cliente específicos de cada país, visite www.hologic.com/support.

Este produto destina-se apenas a utilização no campo do diagnóstico in vitro humano.

Incidentes graves que ocorram em relação ao dispositivo na União Europeia devem ser comunicados ao fabricante e à autoridade competente do Estado Membro onde o utilizador e/ou paciente reside.

A Hologic e a Panther Fusion são marcas comerciais e/ou marcas comerciais registadas da Hologic, Inc. e/ou das suas subsidiárias nos Estados Unidos e/ou em outros países.

Quaisquer outras marcas comerciais que possam aparecer neste folheto informativo pertencem aos respetivos proprietários.

Este produto pode estar abrangido por uma ou mais patentes nos Estados Unidos, as quais estão identificadas em: www.hologic.com/patents.

© 2017-2022 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-23708-601 Rev. 001
2022-08

Histórico de revisão	Data	Descrição
AW-23708 Rev. 001	Agosto de 2022	<ul style="list-style-type: none"> • Criação das instruções de utilização do Panther Fusion Paraflu assay AW-23708 Rev. 001 com base em AW-16163 Rev. 003 para conformidade regulamentar com o IVDR. • Informações de perigos para a UE atualizadas. • Atualização das secções de Desempenho clínico: Informações de estudos retrospectivos, prospetivos e de reprodutibilidade, Materiais necessários, mas disponíveis em separado e a secção da Bibliografia. • Adicionadas informações relativas à estabilidade dos espécimes. • Atualização de informações de contacto incluindo: Representante na CE, marcação CE, informações do representante australiano e suporte técnico. • Diversas atualizações de estilo e formatação.