

Test za SARS-CoV-2/gripu A/B/RSV (Panther Fusion™ System)

Za *in vitro* dijagnostiku.

Samo za izvoz u SAD.

SADRŽAJ

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Općenite informacije | 2 |
| Namjena | 2 |
| Sažetak i objašnjenje testa | 2 |
| Načela postupka | 3 |
| Upozorenja i mjere opreza | 4 |
| Zahtjevi za pohranu reagensa i njihovo rukovanje | 7 |
| Prikupljanje i pohrana uzoraka | 8 |
| Prenošenje ispitka | 9 |
| Sustav Panther Fusion System | 10 |
| Reagensi i materijali priloženi za test Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV ... | 10 |
| Potrebni materijali koji su dostupni odvojeno | 11 |
| Postupak testa u sustavu Panther Fusion System | 12 |
| Napomene o postupku | 13 |
| Kontrola kvalitete | 14 |
| Interpretacija rezultata | 14 |
| Ograničenja | 16 |
| Izvedba testa SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV | 17 |
| Analitička osjetljivost | 17 |
| Mokro ispitivanje reaktivnosti | 18 |
| Reaktivnost in silico analiza | 21 |
| Analitička specifičnost i mikrobna interferencija | 21 |
| Konkurentna interferencija | 23 |
| Interferencija | 23 |
| Preciznost testa | 25 |
| Prijenosna kontaminacija | 26 |
| Ekvivalentnost uređaja za prikupljanje | 26 |
| Klinička učinkovitost | 27 |
| Bibliografija | 29 |
| Kontaktne podaci | 30 |

Općenite informacije

Namjena

Test za SARS-CoV-2/gripu A/B/RSV Panther Fusion™ Panther Fusion™ je potpuno automatizirani multipleksni RT-PCR test u stvarnom vremenu namijenjen kvalitativnom otkrivanju i diferencijaciji RNA od virusa SARS-CoV-2, virusa gripe A (gripa A), virusa gripe B (gripa B) i respiratornog sincicijskog virusa (RSV) izoliranih i pročišćenih iz ispitka brisa nazofarinksa (NP) dobivenih od osoba koje pokazuju znakove i simptome infekcije respiratornog trakta. Klinički znakovi i simptomi respiratorne virusne infekcije uzrokovane virusima SARS-CoV-2, gripe i RSV mogu biti slični. Ovaj test namijenjen je za pomoć u diferencijalnoj dijagnozi virusa SARS-CoV-2, virusa gripe A, virusa gripe B i RSV infekcija kod ljudi i nije namijenjen otkrivanju infekcija virusom gripe C.

Negativni rezultati ne isključuju infekcije virusima SARS-CoV-2, gripe A, gripe B ili RSV i ne smiju se koristiti kao jedina osnova za liječenje ili druge upravljačke odluke. Test je dizajniran za upotrebu na sustavu Panther Fusion.

Sažetak i objašnjenje testa

Respiratorni virusi odgovorni su za širok raspon akutnih infekcija dišnog trakta uključujući prehladu, influencu (gripu), RSV infekciju, COVID-19 i krup te predstavljaju najčešći uzrok akutnih bolesti u Sjedinjenim Američkim Državama. Neki simptomi bolesti COVID-19, gripe i RSV-a su slični te je stoga postavljanje dijagnoze samo na temelju simptoma gotovo nemoguće.^{1,2}

Težina bolesti gripe i RSV-a može biti posebno visoka kod mladih, imunokompromitiranih i starijih pacijenata. Točna i pravovremena dijagnoza uzročnika infekcija dišnih putova ima brojne prednosti. One uključuju poboljšano liječenje pacijenta osiguravanjem odgovarajućeg antivirusnog liječenja (npr. oseltamivir za gripu),³ smanjenje ukupnih troškova skrbi, smanjenje potencijala za daljnji razvoj antimikrobne rezistencije zbog prekomjerne i neprikladne upotrebe antibiotika,⁴ pomoć osoblju za kontrolu infekcija pri pružanju odgovarajućih mjera za smanjenje bolničkog širenja i pružanje vrijednih informacija tijelima javnog zdravstva o tome koji virusi kruže u zajednici.⁵

Gripa je akutna respiratorna bolest uzrokovana infekcijom virusom gripe, prvenstveno tipovima A i B.⁶ Virus gripe A su dalje kategorizirani u podtipove na temelju dva glavna površinska proteinska antigena: hemaglutinina (H) i neuraminidaze (N).⁷ Virus gripe B nisu kategorizirani u podtipove.⁷ Virus gripe kontinuirano prolaze kroz genetske promjene uključujući pomak (slučajne mutacije) i varijacije (preraspodjela genoma), stvarajući nove sojeve virusa svake godine, ostavljajući ljudsku populaciju ranjivom na te sezonske promjene. Epidemije se pojavljuju svake godine (obično zimi) i dok oba tipa A i B cirkuliraju populacijom, tip A je uglavnom dominantan. Prijenos gripe prvenstveno je putem kapljica u zraku (kašljanje ili kihanje). Simptomi se u prosjeku pojavljuju 1 do 2 dana nakon izlaganja i uključuju groznicu, zimicu, glavobolju, malaksalost, kašalj i hunjavicu.

Komplikacije uzrokovane gripom uključuju upalu pluća koja uzrokuje povećani morbiditet i smrtnost u pedijatrijskoj, starijoj i imunokompromitiranoj populaciji. Gripa se pojavljuje globalno s procijenjenom godišnjom stopom napada 5 % – 10 % kod odraslih i 20 % – 30 % kod djece. Bolesti mogu dovesti do hospitalizacije i smrti, većinom među visokorizičnim skupinama (vrlo mladi, stariji ili kronični bolesnici). Procjenjuje se da će diljem svijeta te godišnje epidemije rezultirati s oko 3 do 5 milijuna slučajeva teških bolesti i s oko 250 000 do 500 000 smrtnih slučajeva.⁸

Respiratorni sincicijski virus (RSV) vodeći je uzročnik respiratornih infekcija kod dojenčadi i djece. Postoje 2 tipa RSV-a (A i B) temeljenih na antigenskim i površinskim proteinskim varijacijama. Većina godišnjih epidemija (obično tijekom zime) sadrži mješavinu virusa tipa A i B, ali jedna podskupina može dominirati tijekom sezone. RSV infekcija može uzrokovati teške respiratorne bolesti kod svih dobni skupina, ali je češća kod pedijatrijskih, starijih i imunokompromitiranih populacija. Godišnje se u Sjedinjenim Američkim Državama RSV infekcija povezuje s procijenjenih 58 000 hospitalizacija i s 2,1 milijunom ambulantnih posjeta među djecom mlađom od 5 godina te sa 177 000 hospitalizacija i 14 000 smrtnih slučajeva među odraslima starijima od 65 godina.⁹

Koronavirusi su velika obitelj virusa koji mogu uzrokovati bolesti kod životinja ili ljudi. Poznato je da kod ljudi nekoliko koronavirusa uzrokuje respiratorne infekcije u rasponu od obične prehlade do težih bolesti kao što su bliskoistočni respiratorni sindrom (MERS) i teški akutni respiratorni sindrom (SARS). Posljednji otkriveni koronavirus, SARS-CoV-2, uzrokuje pridruženu koronavirusnu bolest COVID-19. Taj novi virus i bolest bili su nepoznati prije izbijanja epidemije u Wuhanu, Kina, u prosincu 2019.⁹

Osobe oboljele od bolesti COVID-19 imale su širok raspon prijavljenih simptoma, u rasponu od blagih simptoma do teške bolesti. Simptomi se mogu pojaviti 2 – 14 dana nakon izlaganja virusu. Osobe oboljele od bolesti COVID-19 mogu imati groznicu ili zimicu, kašalj, nedostatak zraka ili otežano disanje, umor, bolove u mišićima ili tijelu, glavobolju, novi gubitak okusa ili mirisa, grlobolju, začepljenost ili curenje iz nosa, mučninu ili povraćanje i/ili proljev.¹⁰ Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) okarakterizirala je 11. ožujka 2020. epidemiju bolesti COVID-19 kao pandemiju.¹¹

Načela postupka

Test za SARS-CoV-2/gripu A/B/RSV Panther Fusion uključuje sljedeće korake: lizu uzorka, izdvajanje nukleinske kiseline i elucijski prijenos te multipleksni RT-PCR kada se analiti istovremeno pojačavaju, otkrivaju i diferenciraju. Izdvajanje i elucija nukleinske kiseline obavljaju se u jednoj epruveti sustava Panther Fusion. Eluat se prenosi u reakcijsku epruvetu sustava Panther Fusion koja sadrži analitički reagens. Potom se za eluiranu nukleinsku kiselinu provodi multipleksni RT-PCR u sustavu Panther Fusion.

Izdvajanje nukleinske kiseline i elucija: Prije obrade i testiranja u sustavu Panther Fusion, ispiti sakupljeni u univerzalnom transportnom mediju (UTM) i viralnom transportnom mediju (VTM) prenose se u epruvetu za liziranje ispitaka koja sadrži medij za prijenos ispitaka (STM). Alternativno, uzorci se mogu prikupiti s kompletom za prikupljanje RespDirect koji sadrži poboljšani medij za transport uzorka (eSTM). STM i eSTM liziraju stanice, oslobađaju ciljnu nukleinsku kiselinu i štite ih od razgradnje tijekom skladištenja.

Interna kontrola-S (IC-S) dodaje se svakom testiranom ispitku i kontrolira putem Panther Fusion radnog reagensa-S (wFCR-S). IC-S u reagensima nadzire obradu, amplifikaciju i detekciju ispitaka.

Hvata hibridizirane oligonukleotide u nukleinsku kiselinu u testnom ispitku. Zatim se hibridizirana nukleinska kiselina odvaja od ispitka u magnetskom polju.

Koraci pranja uklanjaju nepripadajuće komponente iz reakcijske epruvete. Korak eluiranja eluira pročišćenu nukleinsku kiselinu. Tijekom koraka izdvajanja i eluiranja nukleinske kiseline, iz ispitaka se izolira ukupna nukleinska kiselina.

Elucijski prijenos i RT-PCR: Tijekom koraka elucijskog prijenosa, eluirana nukleinska kiselina se prenosi u reakcijsku epruvetu Panther Fusiona koja već sadrži ulje i rekonstituiranu glavnu smjesu.

Ciljna amplifikacija se obavlja putem RT-PCR-a. Reverzna transkriptaza generira DNA kopiju ciljne sekvence. Ciljni specifični prajmeri pomaknuti prema naprijed i prema natrag te sonde zatim pojačavaju ciljeve istodobno otkrivajući i diskriminirajući više vrsta ciljeva putem multipleksnog RT-PCR-a.

Sustav Panther Fusion uspoređuje fluorescentni signal s unaprijed određenim graničnim vrijednostima kako bi se dobio kvalitativni rezultat za prisutnost ili odsutnost analita.

Analiti i kanal korišten za njihovu detekciju u sustavu Panther Fusion sažeti su u donjoj tablici.

| Analit | Ciljani gen | Kanal instrumenta |
|----------------------------------|------------------|-------------------|
| Virus gripe A | Matriks | FAM |
| Respiratorni sincijski virus A/B | Matriks | HEX |
| SARS-CoV-2 | ORF1ab | ROX |
| Virus gripe B | Matriks | RED647 |
| Unutarnja kontrola | Nije primjenjivo | RED677 |

Upozorenja i mjere opreza

- A. Za *in vitro* dijagnostiku. Pažljivo pročitajte cijeli prilog i *Priručnik za rukovatelja sustavom Panther/Panther Fusion System*.
- B. Za profesionalnu uporabu.
- C. Panther Fusion reagens-S (FER-S) za poboljšanje cilja je korozivan, štetan ako se proguta i uzrokuje teške opekline kože i oštećenje očiju.
- D. Samo osoblje koje je adekvatno osposobljeno za korištenje tog testa i za rukovanje potencijalno zaraznim materijalima smije provoditi ove postupke. Ako dođe do izlivanja, odmah na licu mjesta dezinficirajte odgovarajućim postupcima.
- E. Rukujte svim ispitcima kao da su zarazni koristeći sigurne laboratorijske postupke. Pogledajte privremene laboratorijske smjernice o biološkoj sigurnosti za rukovanje i obradu ispitaka povezanih s 2019-nCoV. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>.
- F. Uzorci mogu biti infektivni. Prilikom izvođenja ispitivanja pridržavajte se univerzalnih mjera opreza. Metode propisnog rukovanja i odlaganja treba utvrditi voditelj laboratorija. Ovaj dijagnostički postupak smije izvoditi samo osoblje prikladno osposobljeno za rukovanje s infektivnim materijalom.⁷




Napomena: Ako se sumnja na infekciju novim virusom gripe A na temelju trenutnih kliničkih i epidemioloških kriterija provjere koje preporučuju tijela javnog zdravstva, prikupite ispitke s odgovarajućim mjerama opreza za kontrolu infekcije za nove virulentne viruse gripe i pošaljite ih državnom ili lokalnom zdravstvenom odjelu na testiranje. U tim slučajevima nemojte pokušavati uzgajati viruse osim ako nije dostupna BSL 3+ ustanova za primanje ispitaka kulture.

- G. Ako se sumnja na infekciju virusom SARS-CoV-2 na temelju trenutnih kriterija kliničke provjere koje preporučuju tijela za javno zdravstvo, ispitke treba uzeti uz odgovarajuće mjere opreza za kontrolu infekcije.
- H. Koristite odgovarajuću osobnu zaštitnu opremu pri prikupljanju i rukovanju ispitcima od osoba za koje se sumnja da su zaražene virusom SARS-CoV-2 kako je navedeno u privremenim laboratorijskim smjernicama o biološkoj sigurnosti CDC-a za rukovanje i obradu ispitaka povezanih s novim koronavirusom iz 2019. (SARS-CoV-2).
- I. Upotrebljavajte samo isporučene ili određene jednokratne laboratorijske proizvode.
- J. Prilikom rukovanja ispitcima i reagensima nosite jednokratne rukavice bez pudera, zaštitne naočale i laboratorijsku kutu. Nakon rukovanja ispitcima i reagensima temeljito operite ruke. Bacite sav materijal koji je došao u doticaj s ispitcima i reagensima u skladu s nacionalnim, međunarodnim i regionalnim propisima.
- K. Datumi isteka roka trajanja navedeni na kompletu za prikupljanje RespDirect i epruветama za liziranje ispitka Panther Fusion odnose se na prijenos uzorka u epruветu, a ne na ispitivanje uzorka. Ispitci prikupljeni/preneseni u bilo kojem trenutku prije datuma isteka roka trajanja valjani su za testiranje pod uvjetom da su prenijeti i pohranjeni u skladu s odgovarajućim prilogom, čak i ako su ti datumi roka trajanja istekli.
- L. Tijekom prijevoza ispitaka održavajte odgovarajuće uvjete skladištenja kako biste osigurali cjelovitost ispitka. Stabilnost ispitka u uvjetima prijevoza drugačijim od preporučenih nije procijenjena.
- M. Izbjegavajte unakrsnu kontaminaciju prilikom izvođenja koraka rukovanja uzorcima. Ispitci mogu sadržavati ekstremno visoke razine virusa i ostalih organizama. Pobrinite se da se spremnici ispitaka međusobno ne dodiruju, a iskorišteni materijal odložite pazeći da ga ne prenosite preko otvorenih spremnika. Zamijenite rukavice ako dođu u kontakt s ispitcima.
- N. Ne koristite reagense i kontrole nakon isteka datuma roka trajanja.
- O. Pohranite komponente testa u preporučenim uvjetima skladištenja. Pogledajte *Zahtjevi za pohranu reagensa i njihovo rukovanje* (Stranica 7), i *Postupak testa na sustavu Panther Fusion System* (Stranica 12) za više informacija.
- P. Nemojte kombinirati nikakve analitičke reagense ili tekućine. Nemojte dolijevati reagense ili tekućine; sustav Panther Fusion provjerava razine reagensa.
- Q. Izbjegavajte kontaminaciju reagensa mikroorganizmima i ribonukleazama.
- R. Zahtjevi kontrole kvalitete moraju se provoditi u skladu s lokalnim, državnim i/ili saveznim propisima ili zahtjevima za akreditaciju i standardnim postupcima kontrole kvalitete vašeg laboratorija.
- S. Nemojte koristiti uložak za analizu ako je vrećica za pohranu izgubila pečat ili ako folija uloška za analizu nije netaknuta. Kontaktirajte Hologic ako se nešto od toga dogodi.
- T. Nemojte koristiti pakete tekućine ako pečat folije curi. Kontaktirajte Hologic ako se to dogodi.
- U. Pažljivo rukujte testnim ulošcima. Nemojte ispuštati ni okretati testne uloške. Izbjegavajte dugotrajno izlaganje ambijentalnom svjetlu.

V. Nemojte koristiti materijal koji može sadržavati gvanidinij tiocijanat ili bilo koji materijal koji sadrži gvanidin na instrumentu. Ako se kombiniraju s natrijevim hipokloritom, mogu nastati visoko reaktivni i/ili toksični spojevi.

W. Neki reagensi u kompletu označeni su informacijama o opasnostima.

Napomena: Informiranje o opasnostima odražava klasifikaciju sigurnosno-tehničkih listova (eng. Safety Data Sheets, SDS) EU-a. Informacije o opasnostima specifične za vašu regiju potražite u SDS-u specifičnom za vašu regiju u Biblioteci sigurnosno-tehničkih listova (eng. Safety Data Sheet Library) na www.hologic.com. Za više informacija o simbolima, pogledajte legendu simbola na www.hologic.com/package-inserts.

| Informacije o opasnostima u EU-u | |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <p>Panther Fusion ulje <i>Polidimetisiloksan 100 %</i></p> <p>UPOZORENJE H315 – Uzrokuje nadraživanje kože H319 – Uzrokuje jako nadraživanje oka</p> |
|  | <p>Panther Fusion reagens za poboljšanje cilja-S <i>Litij hidroksid, monohidrat 5 – 10 %</i></p> <p>OPASNOST H302 – Štetno ako se proguta H314 – Uzrokuje teške opekline kože i oštećenje oka</p> |
|  | <p>P260 – Nemojte udisati prašinu/dim/plin/maglu/pare/sprej P280 – Nosite zaštitne rukavice/zaštitnu odjeću/zaštitu za oči/zaštitu za lice P303 + P361 + P353 – U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM (ili kosom): odmah ukloniti/skinuti svu kontaminiranu odjeću. Isperite kožu s vodom/tušem P305 + P351 + P338 - AKO DOSPIJE U OČI: Oprezno isperite vodom nekoliko minuta. Uklonite kontaktne leće, ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastavite ispiranje P310 – Odmah nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA ili liječnika P280 – Nositi zaštitu za oči / zaštitu za lice</p> |

Zahtjevi za pohranu reagensa i njihovo rukovanje

A. Sljedeća tablica pokazuje zahtjeve za skladištenje i rukovanje za ovaj test.

| Reagens | Neotvoreno skladištenje | Stabilnost u instrumentu/ u otvorenom stanju ¹ | Otvoreno skladištenje |
|------------------------------------------------------------|-------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV testni uložak | 2°C do 8°C | 60 dana | 2°C do 8°C ² |
| Panther Fusion reagens izdvajanja-S (FCR-S) | 15°C do 30°C | 30 dana | 15°C do 30°C |
| Panther Fusion reagens za poboljšanje cilja-S (FER-S) | 15°C do 30°C | 30 dana | 15°C do 30°C |
| Panther Fusion interna kontrola-S (IC-S) | 2°C do 8°C | (U wFCR-S) | Nije primjenjivo |
| Panther Fusion elucijski pufer | 15°C do 30°C | 60 dana | 15°C do 30°C |
| Panther Fusion ulje | 15°C do 30°C | 60 dana | 15°C do 30°C |
| Panther Fusion pufer za rekonstituciju I | 15°C do 30°C | 60 dana | 15°C do 30°C |
| Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV pozitivna kontrola | 2°C do 8°C | Bočica za jednokratnu upotrebu | Nije primjenjivo – za jednokratnu upotrebu |
| Panther Fusion negativna kontrola | 2°C do 8°C | Bočica za jednokratnu upotrebu | Nije primjenjivo – za jednokratnu upotrebu |

Kada se reagensi uklone iz sustava Panther Fusion, odmah ih vratite na njihovu odgovarajuću temperaturu skladištenja.

¹ Stabilnost u instrumentu počinje u trenutku kada se reagens stavi na testni uložak sustava Panther Fusion SARS-CoV-2/ gripa A/B/RSV, FCR-S, FER-S i IC-S. Stabilnost u instrumentu za Panther Fusion pufer za rekonstituciju I, Panther Fusion elucijski pufer i Panther Fusion ulje počinje kada se prvi put iskoristi paket reagensa.

² Bude li izvađen iz sustava Panther Fusion, testni uložak pohranite u hermetički zatvorenu posudu sa sredstvom za sušenje na preporučenoj temperaturi skladištenja.

- B. Radni Panther Fusion reagens izdvajanja-S i Panther Fusion reagens za poboljšanje cilja-S stabilni su 60 dana kada su zatvoreni i pohranjeni na 15°C do 30°C. Nemojte hladiti u hladnjaku.
- C. Odbacite sve neiskorištene reagense koji su premašili svoju stabilnost u instrumentu.
- D. Kontrole su stabilne do datuma navedenog na bočicama.
- E. Izbjegavajte unakrsno zagađenje tijekom rukovanja i skladištenja reagensa.
- F. **Reagense nemojte zamrzavati.**

Prikupljanje i pohrana uzoraka

Ispitci – Klinički materijal prikupljen od pacijenta smješten je u odgovarajući sustav za prenošenje. Za test Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV, ovo uključuje uzorke NP briseva u virusnom mediju za prenošenje (VTM) ili univerzalnom mediju za prenošenje (UTM) ili prikupljeno u eSTM s kompletom za prikupljanje RespDirect.

Uzorci – Predstavljaju općenitiji pojam za opisivanje bilo kojeg materijala za testiranje na sustavu Panther Fusion, uključujući ispitke, ispitke prebačene u Panther Fusion epruvetu za liziranje ispitka i kontrole.

Napomena: *Rukujte svim ispitcima kao da sadrže potencijalno zarazne agense. Koristite univerzalne mjere opreza.*

Napomena: *Pazite da izbjegnute unakrsno zagađenje tijekom koraka rukovanja ispitkom. Na primjer, bacite korišteni materijal bez prelaska preko otvorenih epruveti.*

Prikupljanje ispitka

Uzmite uzorke NP ispitaka prema standardnoj tehnici pomoću štapića s vrhom od poliestera, rajona ili najlona. Odmah stavite uzorak ispitka u 3 mL VTM-a ili UTM-a. Komplet za prikupljanje Hologic RespDirect može se koristiti za prikupljanje uzoraka NP brisa.

Obrada ispitka

Obrada ispitka s Panther Fusion epruvetom za liziranje ispitka

- A. Prije testiranja u sustavu Panther Fusion, prenesite 500 µL ispitka prikupljenog u UTM-u ili VTM-u u Panther Fusion epruvetu za liziranje ispitka.

***Napomena:** *Prilikom testiranja smrznutog ispitka, ostavite ispitak da dosegne sobnu temperaturu prije obrade.*

Obrada uzorka s epruvetom za poboljšano izravno punjenje (komplet za prikupljanje RespDirect)

- A. Nakon prikupljanja uzoraka u epruvetu za poboljšano izravno punjenje (komplet za prikupljanje RespDirect) uzorak se može umetnuti u sustav Panther Fusion System.

Napomena: *Ako se uoče ugrušci, uzorci se mogu miješati 5 – 10 minuta pri 1800 okr/min na miješalici vortex s više cijevi (ili postavci 5 na kat. br. 102160G).*

Alternativno, pojedinačne epruvete mogu se miješati ručno 15 sekundi pri najvećoj brzini na standardnoj stolnoj vortex miješalici.

Ako ste prethodno probušili, ponovno zatvorite epruvete novim probojnim čepom prije miješanja.

Ako se nakon ponovnog testiranja dobije rezultat CLT-a, uzmite novi uzorak.

Napomena: *Kod testiranja smrznutog ispitka, ostavite ispitak da dosegne sobnu temperaturu prije umetanja na sustav Panther Fusion System.*

Napomena: *Ako laboratorij primi epruvetu s poboljšanim izravnim punjenjem (komplet za prikupljanje RespDirect) bez brisa ili s dva brisa, uzorak se mora odbaciti.*

Pohrana ispitka

Pohrana ispitaka s Panther Fusion epruветom za liziranje ispitka

1. Nakon prikupljanja, ispitci se mogu čuvati na 2°C do 8°C do 96 sati prije nego što se prenesu u Panther Fusion epruветu za liziranje ispitka. Preostala količina ispitka može se čuvati na ≤-70°C.
 2. Uzorci (u Panther Fusion epruветi za liziranje ispitka) mogu se pohraniti pod sljedećim uvjetima:
 - 15° C do 30° C do 6 dana ili
 - 2° C do 8° C, -20° C i -70° C do 3 mjeseca
 3. Ranije testirani uzorci trebaju se zatvoriti s novom, čistom plastičnom barijerom ili barijerom od folije.
 4. Ako testirane uzorke treba zamrznuti ili transportirati, uklonite probojni čep i na epruвете s ispitkom stavite novi, neprobojni čep. Ako se uzorci trebaju transportirati na testiranje u drugu ustanovu, potrebno je održavati preporučene temperature. Prije otvaranja prethodno testiranih uzoraka kojima je ponovno stavljen čep, epruвете s ispitkom za prenošenje potrebno je centrifugirati 5 minuta pri 420 relativne centrifugalne sile (eng. Relative Centrifugal Force, RCF) kako bi se sva tekućina spustila na dno epruвете. Izbjegavajte prskanje i unakrsno zagađenje.
- B. Skladištenje uzorka s epruветom za poboljšano izravno punjenje (komplet za prikupljanje RespDirect)
1. Uzorci se mogu skladištiti pod sljedećim uvjetima:
 - 2° C do 30° C do 6 dana ili
 - 2° C do 8° C, -20° C, i -70° C za do 3 mjeseca.
 2. Ranije testirani uzorci trebaju se zatvoriti s novom, čistom plastičnom barijerom ili barijerom od folije.
 3. Ako testirane uzorke treba zamrznuti ili transportirati, uklonite probojni čep i na epruвете s ispitkom stavite novi, neprobojni čep. Ako se uzorci trebaju transportirati na testiranje u drugu ustanovu, potrebno je održavati preporučene temperature. Prije otvaranja prethodno testiranih uzoraka kojima je ponovno stavljen čep, epruвете s uzorcima potrebno je centrifugirati 5 minuta pri 420 relativne centrifugalne sile, kako bi se sva tekućina spustila na dno epruвете. Izbjegavajte prskanje i unakrsno zagađenje.

Prenošenje ispitka

Održavajte uvjete skladištenja ispitka kako je opisano u odlomku *Prikupljanje i skladištenje uzoraka* na Stranica 8.

Napomena: Uzorci se trebaju transportirati u skladu s primjenjivim nacionalnim, međunarodnim i regionalnim propisima o prenošenju.

Sustav Panther Fusion System

Sustav Panther Fusion System je integrirani sustav za testiranje nukleinskih kiselina koji automatizira sve korake potrebne za izvođenje raznih testova Panther Fusion iz obrađenih uzoraka kroz amplifikaciju, detekciju i redukciju podataka.

Reagensi i materijali priloženi za test Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV

Testno pakiranje

| Komponente ¹ | Dio br. | Skladištenje |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|--------------|
| 96 testova testnih uložaka Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV testni uložak, 12 testova, 8 po kutiji | PRD-07400 | 2°C do 8°C |
| 960 testova interne kontrole-S Panther Fusion Epruveta Panther Fusion interne kontrole-S, 4 po kutiji | PRD-04332 | 2°C do 8°C |
| Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV kontrole Epruveta pozitivnih kontrola Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV, 5 po kutiji Epruveta negativne kontrole Panther Fusion, 5 po kutiji | PRD-07401 | 2°C do 8°C |
| 960 testova ekstrakcijskog reagensa-S Panther Fusion Boca reagensa-S izdvajanja Panther Fusion, 240 testova, 4 po kutiji Boca reagensa-S za poboljšanje cilja Panther Fusion, 240 testova, 4 po kutiji | PRD-04331 | 15°C do 30°C |
| 2400 testova elucijskog pufera Panther Fusion Pakiranje elucijskog pufera Panther Fusion, 1200 testova, 2 po kutiji | PRD-04334 | 15°C do 30°C |
| 1920 testova pufera za rekonstituciju I Panther Fusion Pakiranje pufera za rekonstituciju I Panther Fusion, 960 testova, 2 po kutiji | PRD-04333 | 15°C do 30°C |
| 1920 testova ulja Panther Fusion Pakiranje ulja Panther Fusion, 960 testova, 2 po kutiji | PRD-04335 | 15°C do 30°C |

¹ Komponente se također mogu naručiti u sljedećim paketima:
Komplet univerzalnih tekućina Panther Fusion, PRD-04430, sadrži po 1 ulje Panther Fusion i elucijski pufer Panther Fusion.
Testne tekućine I-S Panther Fusion, PRD-04431, sadrži 2 ekstrakcijska reagensa-S Panther Fusion, 2 interne kontrole-S Panther Fusion i 1 rekonstitucijski pufer I Panther Fusion.

Pojedinačno pakirane stavke

| Stavke | Dio br. |
|------------------------------------------------------------|-----------|
| Epruvete za liziranje ispitka Panther Fusion, 100 po vreći | PRD-04339 |
| Komplet za prikupljanje Hologic RespDirect, 50 po kutiji | PRD-07403 |

Potrebni materijali koji su dostupni odvojeno

Napomena: Materijali dostupni kod tvrtke Hologic imaju navedene kataloške brojeve, osim ako je drugačije naznačeno.

| Materijal | Kat. Br. |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Sustav Panther™ | 303095 |
| Panther Fusion System | PRD-04172 |
| Modul Panther Fusion | PRD-04173 |
| Kontinuirana tekućina i otpad sustava Panther (Panther Plus) | PRD-06067 |
| Aptima™ komplet testnih tekućina (otopina za pranje Aptima, pufer za deaktivacijsku tekućinu Aptima i uljni reagens Aptima) | 303014 (1000 testova) |
| Jedinice za više epruveta (MTU-ovi) | 104772-02 |
| Komplet vrećica za otpad Panther | 902731 |
| Poklopac koša za otpad Panther | 504405 |
| ili komplet ciklusa sustava za testove u stvarnom vremenu sadrži MTU-ove, vrećice za otpad, poklopce koša za otpad i testne tekućine | PRD-03455 (5000 testova) |
| ili komplet ciklusa sustava Panther (kada se TMA testovi izvode paralelno s TMA testovima u stvarnom vremenu) sadrži MTU-ove, vrećice za otpad, poklopce koša za otpad, auto detect* i testne tekućine | 303096 (5000 testova) |
| Poslužavnici s epruvetama Panther Fusion, 1008 testova, 18 poslužavnika po kutiji | PRD-04000 |
| Vrhovi, 1000 µL, filtrirani, osjetljivi na tekućinu, vodljivi i za jednokratnu upotrebu. | 901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) |
| Nisu svi proizvodi dostupni u svim regijama. Obratite se svom predstavniku za informacije specifične za regiju. | MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128 |
| Probojni čepovi Aptima (opcionalno) | 105668 |
| Zamjenski neprobojni čepovi (opcionalno) | 103036A |
| Zamjenski čepovi za bočicu s reagensom za ekstrakciju | CL0040 |
| P1000 pipetor i vrhovi s hidrofobnim čepovima | - |
| Izbjeljivač, 5 % do 8,25 % (0,7 M do 1,16 M) otopine natrijeva hipoklorita Napomena: Pogledajte <i>Priručnik za rukovatelja sustavom Panther/Panther Fusion System</i> za pripremu razrijeđene otopine natrijeva hipoklorita. | - |
| Rukavice bez pudera za jednokratnu upotrebu | - |

*Potrebno samo za TMA testove Panther Aptima.

Opcionalni materijali

| Materijal | Kat. Br. |
|------------------------------------|----------|
| Vortex miješalica za više epruveta | 102160G |
| Vortex miješalica Benchtop | - |

Postupak testa u sustavu Panther Fusion System

Napomena: Dodatne informacije o postupku pogledajte u Priručniku za rukovatelja sustavom Panther/Panther Fusion System.

A. Priprema radnog prostora

1. Prebrišite radne površine otopinom natrijeva hipoklorita od 2,5 % do 3,5 % (0,35 M do 0,5 M). Ostavite otopinu natrijevog hipoklorita na površinama najmanje 1 minutu, a zatim je isperite deioniziranom (DI) vodom. Nemojte ostaviti otopinu natrijeva hipoklorita da se osuši. Prekrijte radnu površinu s čistim, apsorpcijskim pokrovima s plastičnom poledinom za radne površine u laboratoriju.
2. Očistite zasebnu radnu površinu na kojoj će se pripremati uzorci koristeći postupak opisan u koraku A.1.

B. Priprema reagensa

1. Uklonite boce IC-S, FCR-S i FER-S iz skladišta.
2. Otvorite boce IC-S, FCR-S i FER-S te bacite čepove. Otvorite TCR vratašca u gornjem odjeljku sustava Panther Fusion.
3. Postavite boce IC-S, FCR-S i FER-S na odgovarajuće položaje na TCR kružnoj transportnoj traci.
4. Zatvorite TCR vratašca.

Napomena: Sustav Panther Fusion dodaje IC-S na FCR-S. Nakon što je IC-S dodan na FCR-S, naziva se wFCR-S (radni FCR-S). Ako se FCR-S i FER-S uklone iz sustava, upotrijebite nove čepove i odmah ih pohranite u skladu s odgovarajućim uvjetima skladištenja.

C. Rukovanje ispitkom

Napomena: Pripremite ispitke prema uputama za obradu ispitaka u odjeljku Prikupljanje i skladištenje ispitaka prije nego što ih ubacite u Panther Fusion sustav.

Epruvete s uzorcima pregledajte prije nego što ih postavite nosač. Ako epruveta za uzorak sadrži mjehuriće ili ima manji volumen od uobičajenog, lagano kucnite po dnu epruvete kako biste sastav doveli na dno.

Napomena: Kako biste izbjegli pogrešku u obradi, osigurajte da je u epruvetu za lizu ispitka Panther Fusion dodan odgovarajući volumen uzorka. Kada se 500 µL uzorka NP ispitka doda u epruvetu za lizu ispitka Panther Fusion, postoji dovoljan volumen za izvođenje 3 ekstrakcije nukleinske kiseline.

Napomena: U slučaju epruvete s poboljšanim izravnim punjenjem (komplet za uzimanje uzoraka RespDirect) postoji dovoljan volumen za izvođenje 4 ekstrakcije nukleinske kiseline.

D. Priprema sustava

Za upute o postavljanju sustava Panther Fusion, uključujući punjenje uzoraka, reagensa, testnih uložaka i univerzalnih tekućina, pogledajte Priručnik za operatera sustava Panther/Panther Fusion System.

Napomene o postupku

A. Kontrole

1. Panther Fusion pozitivna kontrola SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV i Panther Fusion negativna kontrola mogu se učitati u bilo kojem položaju stalka, u bilo kojoj stazi odjeljka za uzorke u sustavu Panther Fusion.
2. Nakon što se kontrolne epruvete pipetiraju i obrade za test Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV, aktivne su do 30 dana (kontrolnu učestalost konfigurira administrator) osim ako rezultati kontrole nisu nevaljani ili je napunjena nova serija testnih uložaka.
3. Svaku kontrolnu epruvetu možete testirati samo jednom.
4. Pipetiranje ispitka pacijenta započinje kada je zadovoljen jedan od sljedećih dvaju uvjeta:
 - a. U sustav su registrirani važeći rezultati za kontrole.
 - b. Sustav trenutačno obrađuje par kontrola.

Kontrola kvalitete

Sustav Panther Fusion može poništiti rezultat ciklusa ili ispitka ako se tijekom izvođenja testa pojave problemi. Ispitci s nevaljanim rezultatima moraju se ponovno testirati.

Negativne i pozitivne kontrole

Za dobivanje valjanih rezultata mora se testirati skup kontrola testa. Jedan replikat kontrole negativnog testa i kontrole pozitivnog testa mora se testirati svaki put kada se nova serija testnih uložaka stavi u sustav Panther Fusion ili kada istekne trenutni skup valjanih kontrola za aktivnu seriju uložaka.

Sustav Panther Fusion konfiguriran je tako da zahtijeva testni ciklus kontrola u intervalu koji odredi administrator do 30 dana. Softver u sustavu Panther Fusion upozorava operatera kada su potrebne testne kontrole i ne započinje nove testove dok se testne kontrole ne učitaju i počnu s obradom.

Tijekom obrade, sustav Panther Fusion automatski provjerava kriterije za prihvaćanje testne kontrole. Za generiranje valjanih rezultata testne kontrole moraju uspješno proći niz provjera valjanosti koje obavlja sustav Panther Fusion.

Ako kontrole testa uspješno prođu sve provjere valjanosti, smatraju se valjanima za vremenski interval koji je odredio administrator. Kada vremenski interval prođe, istekle su testne kontrole sustava Panther Fusion i potrebno je testiranje novog skupa testnih kontrola prije pokretanja novih uzoraka.

Ako bilo koja od testnih kontrola bude neuspješna na provjerama valjanosti, sustav Panther Fusion automatski poništava zahvaćene uzorke i zahtijeva testiranje novog skupa testnih kontrola prije pokretanja novih uzoraka.

Unutarnja kontrola

Unutarnja kontrola se dodaje svakom uzorku tijekom procesa ekstrakcije. Tijekom obrade, kriteriji prihvatljivosti interne kontrole automatski se verificiraju softverom sustava Panther Fusion. Otkrivanje interne kontrole nije potrebno za uzorke koji su pozitivni na SARS-CoV-2, gripu A, gripu B i/ili RSV. Interna kontrola mora se otkriti u svim uzorcima koji su negativni na SARS-CoV-2, gripu A, gripu B i RSV; uzorci koji ne uspiju udovoljiti tim kriterijima bit će prijavljeni kao nevaljani. Svaki uzorak s nevaljanim rezultatom mora se ponovno testirati.

Sustav Panther Fusion dizajniran je za točnu verifikaciju obrada kada se postupci izvode slijedeći upute iz ovog priloga i *Priručnika za rukovatelja sustavom Panther/Panther Fusion System*.

Interpretacija rezultata

Sustav Panther Fusion automatski određuje rezultate testova za uzorke i kontrole. Rezultati za otkrivanje SARS-CoV-2, gripe A, gripe B i RSV-a prijavljuju se zasebno. Rezultat testa može biti negativan, pozitivan ili nevaljan.

Tablica 1 prikazuje moguće rezultate prijavljene u valjanom ciklusu s tumačenjima rezultata.

Tablica 1: Tumačenje rezultata

| Rezultat za SARS-CoV-2 | Rezultat za gripu A | Rezultat za gripu B | Rezultat za RSV | Rezultat za IC | Tumačenje |
|------------------------|---------------------|---------------------|-----------------|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Neg. | Neg. | Neg. | Neg. | Valjano | Nisu detektirani SARS-CoV-2, gripa A, gripa B i RSV. |
| Neg. | POZ. | Neg. | Neg. | Valjano | Detektirana gripa A. Nisu detektirani SARS-CoV-2, gripa B i RSV. |
| Neg. | Neg. | POZ. | Neg. | Valjano | Detektirana gripa B. Nisu detektirani SARS-CoV-2, gripa A i RSV. |
| Neg. | Neg. | Neg. | POZ. | Valjano | Detektiran RSV. Nisu detektirani SARS-CoV-2, gripa A i gripa B. |
| POZ. | Neg. | Neg. | Neg. | Valjano | Detektiran SARS-CoV-2. Nisu detektirani gripa A, gripa B i RSV. |
| Neg. | POZ. | POZ. | Neg. | Valjano | Detektirani gripa A i gripa B. Nisu detektirani SARS-CoV-2 i RSV. |
| Neg. | Neg. | POZ. | POZ. | Valjano | Detektirani gripa B i RSV. Nisu detektirani SARS-CoV-2 i gripa A. |
| Neg. | POZ. | Neg. | POZ. | Valjano | Detektirani gripa A i RSV. Nisu detektirani SARS-CoV-2 i gripa B. |
| POZ. | POZ. | Neg. | Neg. | Valjano | Detektirani SARS-CoV-2 i gripa A. Nisu detektirani gripa B i RSV. |
| POZ. | Neg. | POZ. | Neg. | Valjano | Detektirani SARS-CoV-2 i gripa B. Nisu detektirani gripa A i RSV. |
| POZ. | Neg. | Neg. | POZ. | Valjano | Detektirani SARS-CoV-2 i RSV. Nisu detektirani gripa A i gripa B. |
| Neg. | POZ. | POZ. | POZ. | Valjano | Detektirani gripa A, gripa B i RSV. Nije detektiran SARS-CoV-2. Trostruke infekcije su rijetke. Ponovno testirajte za potvrdu rezultata. |
| POZ. | Neg. | POZ. | POZ. | Valjano | Detektirani SARS-CoV-2, gripa B i RSV. Nije detektirana gripa A. Trostruke infekcije su rijetke. Ponovno testirajte za potvrdu rezultata. |
| POZ. | POZ. | Neg. | POZ. | Valjano | Detektirani SARS-CoV-2, gripa A i RSV. Nije detektirana gripa B. Trostruke infekcije su rijetke. Ponovno testirajte za potvrdu rezultata. |
| POZ. | POZ. | POZ. | Neg. | Valjano | Detektirani SARS-CoV-2, gripa A i gripa B. Nije detektiran RSV. Trostruke infekcije su rijetke. Ponovno testirajte za potvrdu rezultata. |
| POZ. | POZ. | POZ. | POZ. | Valjano | Detektirani SARS-CoV-2, gripa A, gripa B i RSV. Četverostruke infekcije su rijetke. Ponovno testirajte za potvrdu rezultata. |
| Nevaljano | Nevaljano | Nevaljano | Nevaljano | Nevaljano | Nevaljano. Došlo je do pogreške u generiranju rezultata; ponovno ispitivanje uzorka. |

Napomena: POS rezultat će biti popraćen vrijednostima praga ciklusa (Ct).

Napomena: Otkrivanje interne kontrole nije potrebno za uzorke koji su pozitivni na SARS-CoV-2, gripu A, gripu B i/ili RSV.

Ograničenja

- A. Ovaj proizvod se može koristiti samo sa sustavom Panther Fusion System.
- B. Korištenje ovog testa ograničeno je na osoblje koje je obučeno za postupak. Neuspješno praćenje ovih uputa može rezultirati pogrešnim rezultatima.
- C. Pouzdani rezultati ovise o primjerenom prikupljanju, transportu, skladištenju i obradi ispitaka.
- D. Izbjegnite zagađenje pridržavajući se dobrih laboratorijskih praksi i postupaka specificiranih u ovom prilogu.
- E. Negativni rezultati ne isključuju infekcije virusima SARS-CoV-2, gripe A, gripe B ili RSV infekcijama i ne smiju se koristiti kao jedina osnova za liječenje ili druge upravljačke odluke.
- F. Ovaj test ne razlikuje podtipove gripe A (tj. H1N1, H3N2) ili podskupine RSV-a (tj. A ili B); potrebno je dodatno testiranje kako bi se razlikovali svi specifični podtipovi gripe A ili sojevi ili specifične podskupine RSV-a, u dogovoru s lokalnim odjelima za javno zdravstvo.
- G. Pozitivni rezultat ukazuje na detekciju nukleinske kiseline iz relevantnog virusa. Nukleinska kiselina može opstati čak i nakon što virus više nije živ.

Izvedba testa SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV

Analitička osjetljivost

Analitička osjetljivost (granica detekcije ili LoD) testa Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV određena je testiranjem razrijeđenih otopina prikupljenih negativnih kliničkih nazofaringealnih (NP) brisova VTM/UTM matrice obogaćenih prema SZO-ovom Međunarodnomu standardu za SARS-CoV-2, NIBSC (20/146) ili virusne kulture SARS-CoV-2 (1 soj), Influenza A (2 soja), Influenza B (2 soja), RSV A i RSV B (po 1 soj). Najmanje 24 ponavljanja testirana su sa svakom od tri serije reagensa. LoD za svaku metu određen je Probit analizom za svaku seriju reagensa i potvrđen je s dodatna 24 ponavljanja koristeći jednu seriju reagensa. Analitička osjetljivost definirana je kao najniža koncentracija pri kojoj je $\geq 95\%$ svih ponavljanja testiranja bilo pozitivno, kao što je sažeto u Tablica 2.

LoD testiranje također je provedeno s kompletom za prikupljanje RespDirect. Negativna klinička eSTM matrica obogaćena je međunarodnim standardom SZO-a za SARS-CoV-2 i po 1 soj za gripu A, gripu B, RSV A i RSV B. Trideset replika je testirano s jednom serijom reagensa. Najniža koncentracija koja je primijećena $\geq 95\%$ detekcije bila je 98,6 IU/mL za međunarodni standard SZO-a za SARS-CoV-2, 0,11 TCID₅₀/mL za influencu A/Kansas/14/17 (H3N2), 0,03 TCID₅₀/mL za influencu B /Washington/02/19 (Victoria linija), 0,03 TCID₅₀/mL za RSV A i 0,05 TCID₅₀/mL za RSV B.

Napomena: Navedene LoDs odnose se na koncentracije u epruветama postavljenim na instrument. Za uzorke prikupljene u VTM/UTM, ovo je koncentracija u obrađenom uzorku u SLT-u. Za uzorke prikupljene pomoću kompleta za prikupljanje RespDirect, ovo je koncentracija u epruветi s poboljšanim izravnim opterećenjem (komplet za prikupljanje RespDirect).

Tablica 2: Analitička osjetljivost

| Virusni soj/standard | LoD koncentracija u obrađenom uzorku* | Jedinice |
|------------------------------------------------------------|---------------------------------------|------------------------|
| WHO-ov Međunarodni standard SZO SARS-CoV-2, NIBSC (20/146) | 47,20 | IU/mL |
| SARS-CoV-2 USA-WA1/2020 | 0,03 | TCID ₅₀ /mL |
| Gripa A/Brisbane/02/18 (H1N1) | 0,06 | TCID ₅₀ /mL |
| Gripa A/Kansas/14/17 (H3N2) | 0,10 | TCID ₅₀ /mL |
| Gripa B/Washington/02/19 (loza Victoria) | 0,03 | TCID ₅₀ /mL |
| Gripa B/Phuket/3073/13 (loza Yamagata) | 0,003 | TCID ₅₀ /mL |
| RSV A | 0,03 | TCID ₅₀ /mL |
| RSV B | 0,03 | TCID ₅₀ /mL |

*Obrađeni uzorci: 0,50 mL VTM/UTM primarni klinički uzorak + 0,71 mL STM u SLT-u

Mokro ispitivanje reaktivnosti

Reaktivnost testa Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV određena je testiranjem sojeva virusa u negativnom kliničkom NP brisu VTM/UTM matriksu. Svaki soj je testiran u tri primjerka pri ~3x LoD s jednom serijom reagensa. Za sojeve koji nisu otkriveni pri 3x LoD, dodatno testiranje na višim koncentracijama je provedeno dok nije uočena pozitivnost od 100 %. Tablica 3 prikazuje najnižu koncentraciju svakog soja u kojem je uočena pozitivnost od 100 %.

Tablica 3: Sažetak analitičke reaktivnosti za SARS-CoV-2, gripu A i gripu B i RSV sojeve

| Opis | Podtip | Koncentracija | SARS-CoV-2 | Gripa A | Gripa B | RSV |
|-------------------------------------------|----------------|-----------------------------------------|------------|---------|---------|-----|
| USA-WA1/2020* | SARS-CoV-2 | 0,09 TCID ₅₀ /mL | + | - | - | - |
| USA-CA1/2020 | SARS-CoV-2 | 0,09 TCID ₅₀ /mL | + | - | - | - |
| USA-AZ1/2020 | SARS-CoV-2 | 0,09 TCID ₅₀ /mL | + | - | - | - |
| USA-WI1/2020 | SARS-CoV-2 | 0,09 TCID ₅₀ /mL | + | - | - | - |
| USA/OR-OHSU-PHL00037/ 2021 B.1.1.7 | SARS-CoV-2 | 0,09 TCID ₅₀ /mL | + | - | - | - |
| Uganda/MUWRP-20200195568/ 2020 A.23.1 | SARS-CoV-2 | 0,09 TCID ₅₀ /mL | + | - | - | - |
| USA/PHC658/2021 B.1.617.2 | SARS-CoV-2 | 0,09 TCID ₅₀ /mL | + | - | - | - |
| USA/MD-HP05285/ 2021 B.1.617.2 | SARS-CoV-2 | 0,09 TCID ₅₀ /mL | + | - | - | - |
| USA/CA/VRLC009/2021 B.1.427 | SARS-CoV-2 | 0,09 TCID ₅₀ /mL | + | - | - | - |
| USA/CA/VRLC012/2021 P.2 | SARS-CoV-2 | 0,30 TCID ₅₀ /mL | + | - | - | - |
| USA/MD-HP03056/2021 B.1.525 | SARS-CoV-2 | 0,30 TCID ₅₀ /mL | + | - | - | - |
| USA/CA-Stanford-16_S02/ 2021 B.1.617.1 | SARS-CoV-2 | 0,09 TCID ₅₀ /mL | + | - | - | - |
| Peru/un-CDC-2-4069945/ 2021 C.37 | SARS-CoV-2 | 0,09 TCID ₅₀ /mL | + | - | - | - |
| USA/MD-HP20874/ 2021 B.1.1.529 | SARS-CoV-2 | 0,09 TCID ₅₀ /mL | + | - | - | - |
| USA/GA-EHC-2811C/ 2021 B.1.1.529 | SARS-CoV-2 | 0,09 TCID ₅₀ /mL | + | - | - | - |
| A/Brisbane/02/18* | Gripa A (H1N1) | 0,18 TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Michigan/45/2015 | Gripa A (H1N1) | 0,18 TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Christ Church/16/2010 | Gripa A (H1N1) | 180 ¹ TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Kentucky/2/06 | Gripa A (H1N1) | 0,60 TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Solomon Islands/03/06 | Gripa A (H1N1) | 0,60 TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Guangdong-maonan/1536/2019 | Gripa A (H1N1) | 180 ¹ TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Taiwan/42/2006 | Gripa A (H1N1) | 0,60 TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |

Tablica 3: Sažetak analitičke reaktivnosti za SARS-CoV-2, gripu A i gripu B i RSV sojeve (nastavak)

| Opis | Podtip | Koncentracija | SARS-CoV-2 | Gripa A | Gripa B | RSV |
|---------------------------------------|--------------------|------------------------------------------|------------|---------|---------|-----|
| A/Henan/8/05 | Gripa A (H1N1) | 0,60 TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Hawaii/15/01 | Gripa A (H1N1) | 18 ³ TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/California/07/2009 | Gripa A (H1N1) | 0,18 TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Hawaii/66/2019 | Gripa A (H1N1) | 180 CEID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Indiana/02/2020 | Gripa A (H1N1) | 60 CEID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Michigan/45/2015 virus sličan pdm09 | Gripa A (H1N1) | 0,60 TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Kansas/14/17* | Gripa A (H3N2) | 0,33 TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Arizona/45/2018 | Gripa A (H3N2) | 3,3 FFU/mL | - | + | - | - |
| A/New York/21/2020 | Gripa A (H3N2) | 3,3 FFU/mL | - | + | - | - |
| A/Hong Kong/45/2019 | Gripa A (H3N2) | 3,3 FFU/mL | - | + | - | - |
| A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 | Gripa A (H3N2) | 110 CEID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Hong Kong/2671/2019 | Gripa A (H3N2) | 11 ² TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Hiroshima/52/05 | Gripa A (H3N2) | 1,1 TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Costa Rica/07/99 | Gripa A (H3N2) | 11 ³ TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Port Chalmers/1/73 | Gripa A (H3N2) | 1,1 TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Brazil/113/99 | Gripa A (H3N2) | 1,1 TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Perth/16/2009 | Gripa A (H3N2) | 0,33 TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Texas/50/2012 | Gripa A (H3N2) | 0,33 TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Hong Kong/4801/2014 | Gripa A (H3N2) | 1,1 TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Indiana/08/2011 | Gripa A (H3N2) | 1,1 TCID ₅₀ /mL | - | + | - | - |
| A/Hong Kong/486/97 | Gripa A (H5N1) | 0,01 ng/mL | - | + | - | - |
| B/Washington/02/2019* | Gripa B (Victoria) | 0,09 TCID ₅₀ /mL | - | - | + | - |
| B/Colorado/06/2017 | Gripa B (Victoria) | 0,09 TCID ₅₀ /mL | - | - | + | - |
| B/Florida/78/2015 | Gripa B (Victoria) | 0,30 TCID ₅₀ /mL | - | - | + | - |
| B/Alabama/2/17 | Gripa B (Victoria) | 0,09 TCID ₅₀ /mL | - | - | + | - |
| B/Ohio/1/2005 | Gripa B (Victoria) | 0,30 TCID ₅₀ /mL | - | - | + | - |
| B/Michigan/09/2011 | Gripa B (Victoria) | 3 ³ TCID ₅₀ /mL | - | - | + | - |
| B/Hawaii/01/2018 (NA D197N) | Gripa B (Victoria) | 0,90 ¹ TCID ₅₀ /mL | - | - | + | - |
| B/Brisbane/33/08 | Gripa B (Victoria) | 0,09 TCID ₅₀ /mL | - | - | + | - |

Tablica 3: Sažetak analitičke reaktivnosti za SARS-CoV-2, gripu A i gripu B i RSV sojeve (nastavak)

| Opis | Podtip | Koncentracija | SARS-CoV-2 | Gripa A | Gripa B | RSV |
|--------------------------|--------------------|------------------------------------------|------------|---------|---------|-----|
| B/Phuket/3073/2013* | Gripa B (Yamagata) | 0,006 TCID ₅₀ /mL | - | - | + | - |
| B/Wisconsin/1/2010 | Gripa B (Yamagata) | 2 ¹ TCID ₅₀ /mL | - | - | + | - |
| B/Utah/9/14 | Gripa B (Yamagata) | 0,006 TCID ₅₀ /mL | - | - | + | - |
| B/St. Petersburg/04/06 | Gripa B (Yamagata) | 0,06 TCID ₅₀ /mL | - | - | + | - |
| B/Texas/81/2016 | Gripa B (Yamagata) | 2 TCID ₅₀ /mL | - | - | + | - |
| B/Indiana/17/2017 | Gripa B (Yamagata) | 0,60 ¹ TCID ₅₀ /mL | - | - | + | - |
| B/Oklahoma/10/2018 | Gripa B (Yamagata) | 2 ¹ TCID ₅₀ /mL | - | - | + | - |
| B/Massachusetts/02/2012 | Gripa B (Yamagata) | 0,2 ² TCID ₅₀ /mL | - | - | + | - |
| B/Lee/40 | Gripa B | 0,09 TCID ₅₀ /mL | - | - | + | - |
| RSV-A/2006 Isolate* | RSVA | 0,06 TCID ₅₀ /mL | - | - | - | + |
| RSV A/4/2015 isolate #1 | RSVA | 0,06 TCID ₅₀ /mL | - | - | - | + |
| RSV A/A2 | RSVA | 0,06 TCID ₅₀ /mL | - | - | - | + |
| RSV A/12/2014 isolate #2 | RSVA | 0,06 TCID ₅₀ /mL | - | - | - | + |
| RSV-B/CH93(18)-18* | RSVB | 0,30 TCID ₅₀ /mL | - | - | - | + |
| RSV B/3/2015 isolate #1 | RSVB | 0,09 TCID ₅₀ /mL | - | - | - | + |
| RSV B/9320 | RSVB | 0,09 TCID ₅₀ /mL | - | - | - | + |

*Soj koji se koristi za utvrđivanje LoD-a.

¹In silico analiza pokazala je homologiju 100 % s regijom amplifikacije. Degradacija zalihe virusa ili pogreška u kvantifikaciji TCID₅₀/mL možda je utjecala na koncentraciju pri detekciji 100 %.

²In silico analiza identificirala je jednu neusklađenost u prednjoj i obrnutoj početnici za A/Hong Kong/2671/2019 i jednu neusklađenost u obrnutoj početnici B/Massachusetts/02/2012. Zbog lokacije neusklađenosti, ne očekuje se da će to utjecati na amplifikaciju i detekciju. Degradacija zalihe virusa ili pogreška u kvantifikaciji TCID₅₀/mL možda je utjecala na koncentraciju pri detekciji 100 %.

³Slijed soja u ciljanim regijama amplifikacije nije dostupan u NCBI-u ili GISAID-u za daljnju procjenu osjetljivosti.

Reaktivnost in silico analiza

Inkluzivnost testa Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV procijenjena je korištenjem in silico analize prednjih početnica, obrnutih početnica i sonde za SARS-CoV-2, gripa A, gripa B i RSV ciljne sustave u odnosu na sekvence dostupne u bazama podataka gena NCBI i GISAID. Svaka sekvenca s nedostajućim ili dvosmislenim informacijama o sekvenci uklonjena je iz analize za tu ciljanu regiju.

Na temelju in silico analize GISAID i NCBI sekvenci dostupnih do 25. lipnja 2022. za SARS-CoV-2 (10 % nasumično uzorkovanje od >9,3 milijuna sekvenci), predviđa se da će test Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV otkriti svih 934,493 procijenjenih sekvenci SARS-CoV-2.

Procijenjene sekvence uključivale su linije i varijante koje izazivaju zabrinutost (VOC) ili varijante pod istragom (VUI) koje mogu imati važna epidemiološka, imunološka ili patogena svojstva iz perspektive javnog zdravlja, kao što su varijante Delta i Omicron. Predviđa se da će sve linije i varijante od interesa za javno zdravlje identificirane od 25. lipnja 2022. biti otkrivene; nove sekvence i varijante nastavit će se pratiti radi utjecaja na otkrivanje testom Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV.

Na temelju in silico analize svih sekvenci dostupnih od 1. siječnja 2015. do 15. veljače 2022. u bazama podataka GISAID i NCBI, predviđa se da će test Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV otkriti $\geq 99,998$ % od 88,128 gripa A, $\geq 99,94$ % od 31,801 gripe B, $\geq 98,12$ % od 1599 RSV A i $\geq 98,23$ % od 1240 procijenjenih sekvenci RSV B.

Analitička specifičnost i mikrobna interferencija

Analitička specifičnost (unakrsna reaktivnost) i mikrobna interferencija s testom Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV procijenjena je u prisutnosti blisko povezanih i neciljanih organizama. Paneli koji se sastoje od 41 organizma (tablica 4) testirani su u obrađenom negativnom kliničkom NP brisu VTM/UTM matriksa u odsutnosti ili prisutnosti 3x LoD SARS-CoV-2, gripe A, gripe B i RSV-a. Bakterije su testirane na 10^6 CFU/mL i virusi su testirani na 10^5 TCID₅₀/mL, osim gdje je navedeno drugačije. Nisu uočene unakrsna reaktivnost ili mikrobna interferencija za bilo koji od 41 organizma testiranog u testu Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV pri sljedećim koncentracijama.

In silico analiza unakrsne reaktivnosti 143 respiratorna organizma (545 GenBank pristupnih brojeva) nije predvidjela unakrsnu reaktivnost ili mikrobnu interferenciju s izuzetkom *S. marcescens* koji je imao mogućnost niskog pojačanja bez otkrivanja. Vlažno testiranje u VTM/UTM matrici obrađenih negativnih kliničkih briseva NP svakog cilja pri 3X LoD u prisutnosti ovog organizma pri 10^6 CFU/mL pokazalo je da nisu uočene nikakve smetnje.

Tablica 4: Unakrsna reaktivnost i mikrobna interferencija mikroorganizama

| Mikroorganizam | Koncentracija ¹ | Mikroorganizam | Koncentracija ¹ |
|---------------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| Adenovirus 1 | 1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL | <i>Bordetella pertussis</i> | 1 x 10 ⁶ CFU/mL |
| Adenovirus 7a | 1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL | <i>Candida albicans</i> | 1 x 10 ⁶ CFU/mL |
| CMV soj AD 169 | 1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL | <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> | 1x10 ⁶ IFU/mL |
| Ljudski koronavirus 229E | 1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL | <i>Corynebacterium diphtheriae</i> | 1 x 10 ⁶ CFU/mL |
| Ljudski koronavirus NL63 | 1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL | <i>Escherichia coli</i> | 1 x 10 ⁶ CFU/mL |
| Ljudski koronavirus OC43 | 1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL | <i>Haemophilus influenzae</i> | 1 x 10 ⁶ CFU/mL |
| Epstein-Barrov virus (EBV) | 1x10 ⁶ kopije/mL | <i>Lactobacillus plantarum</i> | 1 x 10 ⁶ CFU/mL |
| Enterovirus (npr. EV68) | 1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL | <i>Legionella pneumophila</i> | 1 x 10 ⁶ CFU/mL |
| Ljudski koronavirus HKU1 ² | 1x10 ⁶ kopije/mL | <i>Moraxella catarrhalis</i> | 1 x 10 ⁵ CFU/mL |
| Ljudski metapneumovirus (hMPV) | 1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | 1x10 ⁹ rRNA kopije/mL |
| HPIV-1 | 1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL | <i>Mycoplasma pneumoniae</i> | 1x10 ⁹ rRNA kopije/mL |
| HPIV-2 | 1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL | <i>Neisseria spp</i> | 1 x 10 ⁶ CFU/mL |
| HPIV-3 | 1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL | <i>Neisseria meningitides</i> | 1 x 10 ⁶ CFU/mL |
| HPIV-4 | 1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL | <i>Neisseria mucosa</i> | 1 x 10 ⁶ CFU/mL |
| Ospice | 1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL | <i>Pneumocystis jirovecii</i> | 1 x 10 ⁶ CFU/mL |
| MERS-koronavirus | 5 x 10 ⁴ TCID ₅₀ /mL | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1 x 10 ⁶ CFU/mL |
| Virus zaušnjaka | 1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL | <i>Staphylococcus aureus</i> | 1 x 10 ⁶ CFU/mL |
| Rinivirus 1A | 1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 1 x 10 ⁶ CFU/mL |
| SARS koronavirus 1 ² | 1x10 ⁶ kopije/mL | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 1 x 10 ⁶ CFU/mL |
| Virus varičela-zoster | 1x10 ³ TCID ₅₀ /mL | <i>Streptococcus pyogenes</i> | 1 x 10 ⁶ CFU/mL |
| | | <i>Streptococcus salivarius</i> | 1 x 10 ⁶ CFU/mL |

¹CFU = jedinice koje stvaraju kolonije; IFU = jedinice za formiranje inkluzije; TCID₅₀ = srednja zarazna doza kulture tkiva

²Kultivirani virus i nukleinska kiselina pročišćena cijelim genomom za ljudski HKU1 i SARS-koronavirus nisu lako dostupni. HKU1 i SARS-koronavirus *in vitro* transkript (IVT) koji odgovara regijama gena ORF1a, koje su ciljane testom, korišten je za procjenu unakrsne reaktivnosti i mikrobne interferencije.

Konkurentna interferencija

Konkurentna interferencija u testu Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV procijenjena je korištenjem trostrukih parova ciljanih virusa u niskim/visokim koncentracijama u skupljenom negativnom kliničkom NP brisu VTM/UTM matrice. Niska koncentracija testirana je na 3x LoD, dok je virus visoke koncentracije testiran na 1000x LoD. Rezultati studije prikazani su u tablici 5. Prisutnost dva virusa u različitim koncentracijama nije imala utjecaja na analitičku osjetljivost jedne vrijednosti u prisutnosti visokih koncentracija druge vrijednosti.

Tablica 5: Konkurentna interferencija

| Niska vrijednost | | Visoka vrijednost | | SARS-CoV-2 (detektiran) | Gripa A (detektiran) | Gripa B (detektiran) | RSV (detektiran) |
|------------------|------------------------------------|-------------------|---------------------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|
| Virus | 3x LoD (TCID ₅₀ /mL) | Virus | 1000x LoD (TCID ₅₀ /mL) | | | | |
| SARS-CoV-2 | 0,09 | Gripa A | 110 | + | + | - | - |
| SARS-CoV-2 | 0,09 | Gripa B | 30 | + | - | + | - |
| SARS-CoV-2 | 0,09 | RSV | 30 | + | - | - | + |
| Gripa A | 0,33 | SARS-CoV-2 | 30 | + | + | - | - |
| Gripa A | 0,33 | Gripa B | 30 | - | + | + | - |
| Gripa A | 0,33 | RSV | 30 | - | + | - | + |
| Gripa B | 0,09 | SARS-CoV-2 | 30 | + | - | + | - |
| Gripa B | 0,09 | Gripa A | 110 | - | + | + | - |
| Gripa B | 0,09 | RSV | 30 | - | - | + | + |
| RSV | 0,09 | SARS-CoV-2 | 30 | + | - | - | + |
| RSV | 0,09 | Gripa A | 110 | - | + | - | + |
| RSV | 0,09 | Gripa B | 30 | - | - | + | + |

Interferencija

Interferirajuće endogene i egzogene tvari (mucin, puna krv, drugi potencijalni lijekovi i proizvodi bez recepta) koje mogu biti prisutne u ispitku procijenjene su u testu Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV. Klinički relevantne koncentracije potencijalno interferirajućih tvari dodane su u skupni klinički negativni NP bris VTM/UTM matrice i testirane u odsutnosti i prisutnosti kultiviranih virusa SARS-CoV-2, gripe A, gripe B i RSV-a u njihovim odgovarajućim koncentracijama 3x LoD. Testovi se provode tri puta. Tvari i koncentracije prikazani su u Tablici 6.

Nije uočen utjecaj na performanse testa Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV ni za jednu od tvari u testiranim koncentracijama.

Tablica 6: Potencijalno interferirajuće tvari

| Tip tvari | Ime tvari | Aktivni sastojak(ci) | Koncentracija ¹ |
|--------------------------|--------------------------------|------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| Endogen | Mucin | Pročišćeni protein mucina | 60 µg/mL |
| | Krv (ljudska) | N/P | 2 % v/v |
| Sprejevi ili kapi za nos | Neo-Syneprine® | Fenilefrin | 15 % v/v |
| | Anefrin | Oksimetazolin | 15 % v/v |
| | Fiziološka otopina | Natrijev klorid | 15 % v/v |
| | Ventolin HFA ² | Albuterol | 45 ng/mL |
| Nazalni kortikosteroidi | QVAR® Beconase AQ ² | Beklometazon | 15 ng/mL |
| | Dexacort ² | Deksametazon | 12 µg/mL |
| | Nasacort | Triamcinolon | 5 % v/v |
| | Flonaza | Flutikazon | 5 % v/v |
| | Rhinocort | Budezonid | 5 % v/v |
| | Nasonex ² | Mometazon | 0,5 ng/mL |
| | AEROSPAN® ² | Flunizolid | 10 µg/mL |
| Gel za nos | Zicam® (ublažavanje alergija) | Luffa operculata, Galphimia, Glauca, Histaminum hydrochloricum, Sumpor | 5 % v/v |
| Pastila za grlo | Cepacol Extra Strength | Benzokain, mentol | 0,7 mg/mL |
| Antivirusni lijek | Relenza® ² | Zanamivir | 3,3 mg/mL |
| | TamiFlu ² | Oseltamivir | 400 µg/mL |
| | Virazol ² | Ribavirin | 10,5 µg/mL |
| Antibiotik, mast za nos | Bactroban krema ² | Mupirocin | 1,6 µg/mL |
| Antibiotik, sistemski | Tobramicin | Tobramicin | 33,1 µg/mL |

¹ v/v: volumen po volumenu² Testirani aktivni sastojci

Preciznost testa

Preciznost testa Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV unutar laboratorija procijenjena je s 5-članim panelom koji se sastojao od virusa u negativnom kliničkom NP brisu VTM/UTM matrice. Petočlano povjerenstvo uključivalo je jednog negativnog i četiri dvostruko pozitivna člana. Panele su testirala dva rukovatelja u dva ciklusa dnevno, koristeći tri serije reagensa na tri sustava Panther Fusion tijekom dvanaest dana.

Članovi panela opisani su u Tablici 7, zajedno sa sažetkom sporazuma s očekivanim rezultatima i Ct srednjom vrijednosti i analizom varijabilnosti između serija reagensa, operatera, instrumenata, između i unutar ciklusa, te sve zajedno ukupno.

Tablica 7: Varijabilnost signala testa Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV od strane člana panela

| Panel | Opis | Analit | Dogovoreno/N* | Sporazum (%) | Srednja vrijednost Ct | Između serija | | Između instrumenta | | Između korisnika | | Između dana | | Između ciklusa | | Unutar Pokreni | | Ukupno | |
|-------|-------------------------------------|------------------|---------------|--------------|-----------------------|---------------|--------|--------------------|--------|------------------|--------|-------------|--------|----------------|--------|----------------|--------|--------|--------|
| | | | | | | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) | SD | CV (%) |
| 1 | Neg. | Interna Kontrola | 95/96 | 99 | 33,7 | 0,19 | 0,57 | 0,08 | 0,23 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,21 | 0,62 | 0,29 | 0,86 | 0,42 | 1,23 |
| 2 | SARS-CoV-2/ Gripa A Nis. poz. | Gripa A | 96/96 | 100 | 35,1 | 0,33 | 0,93 | 0,06 | 0,17 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,30 | 0,85 | 0,56 | 1,59 | 0,72 | 2,04 |
| | | SARS-CoV-2 | 96/96 | 100 | 35,9 | 0,00 | 0,00 | 0,13 | 0,36 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,60 | 1,67 | 0,61 | 1,71 |
| 3 | Gripa B/RSV Nis. poz. | Gripa B | 96/96 | 100 | 36,0 | 0,14 | 0,40 | 0,09 | 0,25 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,36 | 0,99 | 0,39 | 1,09 |
| | | RSV | 96/96 | 100 | 36,1 | 0,12 | 0,33 | 0,28 | 0,77 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,37 | 1,04 | 0,53 | 1,46 | 0,71 | 1,97 |
| 4 | SARS-CoV-2/ Gripa A Umj. poz. | Gripa A | 96/96 | 100 | 33,9 | 0,23 | 0,66 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,19 | 0,56 | 0,00 | 0,00 | 0,47 | 1,37 | 0,55 | 1,63 |
| | | SARS-CoV-2 | 96/96 | 100 | 34,7 | 0,21 | 0,62 | 0,16 | 0,45 | 0,06 | 0,17 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,45 | 1,30 | 0,52 | 1,51 |
| 5 | Gripa B/RSV umj. poz. | Gripa B | 96/96 | 100 | 34,7 | 0,15 | 0,44 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,06 | 0,18 | 0,28 | 0,80 | 0,32 | 0,93 |
| | | RSV | 96/96 | 100 | 34,5 | 0,10 | 0,30 | 0,18 | 0,51 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,40 | 1,15 | 0,44 | 1,29 |

*Slaganje s očekivanim pozitivnim rezultatom panela.

Nis. poz.= nisko pozitivan 2x LoD.

Umj. poz.= umjereno pozitivan 5x LoD.

Napomena: Varijabilnost nekih čimbenika može biti brojčano negativna, što se može dogoditi ako je varijabilnost zbog tih čimbenika vrlo mala. Kada se to dogodi, SD=0 i CV=0 %.

Prijenosna kontaminacija

Stopa prijenosne kontaminacije testa demonstrirana je upotrebom epruvete s poboljšanim izravnim opterećenjem (komplet za prikupljanje RespDirect) pomoću dizajna kontrolne ploče, s pločama izrađenim od objedinjene kliničke matrice. Ukupno 300 negativnih uzoraka isprepletenih s 301 pozitivnim uzorkom (s dodatkom gripe A do 1×10^4 TCID₅₀/mL ili 90,909X LoD) testirano je u 5 ciklusa na dva instrumenta Panther Fusion. Test Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV imao je stopu prijenosa od 0 %.

Ekvivalentnost uređaja za prikupljanje

Ekvivalencija između uzoraka NP prikupljenih u VTM/UTM i eSTM procijenjena je testiranjem pojedinačnih negativnih uzoraka i konstruiranih pozitivnih ploča pripremljenih od uparenih negativnih kliničkih uzoraka briseva NP prikupljenih od pacijenata sa simptomima respiratorne infekcije. Konstruirani paneli pripremljeni su dodavanjem uzoraka NP pojedinačnih donora sa SARS-CoV-2, gripom A, gripom B i RSV-om na 2X i 5X LoD.

Rezultati negativnih i konstruiranih ploča pokazali su slično slaganje između dva uređaja za prikupljanje (Tablica 8).

Tablica 8: Rezultati negativnih i konstruiranih panela sastavljenih od uparenih pojedinačnih kliničkih uzoraka NP donora, prikupljenih sa svakim uređajem za prikupljanje dodatkom SARS-CoV-2, gripe A, gripe B i RSV-a

| Analit | Koncentracija uzorka | N po uređaju za prikupljanje | VTM/UTM % pozitivan | RespDirect % pozitivan |
|-------------------------------|----------------------|------------------------------|---------------------|------------------------|
| Ne postoji (negativan uzorak) | 0 | 181 | 0 | 0 |
| SARS-CoV-2 | 2X LoD | 50 | 100 | 98 |
| | 5X LoD | 50 | 100 | 100 |
| Gripa A | 2X LoD | 25 | 100 | 100 |
| | 5X LoD | 25 | 100 | 100 |
| Gripa B | 2X LoD | 25 | 100 | 100 |
| | 5X LoD | 25 | 100 | 100 |
| RSV | 2X LoD | 25 | 100 | 100 |
| | 5X LoD | 25 | 100 | 100 |

Klinička učinkovitost

Klinička izvedba testa Panther Fusion SARS-CoV-2/gripa A/B/RSV procijenjena je u usporedbi s testom amplifikacije nukleinske kiseline (NAAT) prema FDA-ovom odobrenju za hitnu upotrebu (EUA) i testom koji je odobrio FDA Gripa/RSV NAAT koji koristi pojedinačne ostatke kliničkih NP ispitaka u VTM/UTM prikupljenih od pacijenata sa znakovima i simptomima respiratorne infekcije. Za procjenu, u svakom testu je testirana kombinacija negativnih ispitaka, pozitivnih na SARS-CoV-2, pozitivnih na gripu A, pozitivnih na gripu B i pozitivnih na RSV.

Sporazum o pozitivnom postotku (PPA) i sporazum o negativnom postotku (NPA) za SARS-CoV-2 izračunati su u odnosu na NAAT test koji je odobrila FDA EUA kao referentni rezultat, kao što je prikazano u tablici 9. Test je pokazao pozitivne i negativne postotke dogovora od 98,1 % odnosno 98,5 % za SARS-CoV-2.

Za gripu A, gripu B i RSV, PPA i NPA su izračunati u odnosu na test NAAT za Gripu/RSV koji je potvrdio FDA, kao referentni rezultat, kao što je prikazano u tablici 10 za gripu A, tablici 11 za gripu B i tablici 12 za RSV. Test je pokazao pozitivan i negativan postotak slaganja od 100,0 % odnosno 99,6 % za gripu A, 98,1 % i 99,6 % za gripu B te 98,1 % i 100,0 % za RSV.

Tablica 9: Klinička učinkovitost za SARS-CoV-2

| SARS-CoV-2 | | Test NAAT autoriziran od FDA-a i EUA-a | | |
|----------------------------------------|-----------|----------------------------------------|-------------------|--------|
| | | Pozitivan | Negativan | Ukupno |
| Test Panther Fusion SARS/gripa A/B/RSV | Pozitivan | 52 | 4 | 56 |
| | Negativan | 1 | 256 | 257 |
| | Ukupno | 53 | 260 | 313 |
| Pozitivno slaganje (95 % CI) | | 98,1 % | (90,1 % – 99,7 %) | |
| Negativno slaganje (95 % CI) | | 98,5 % | (96,1 % – 99,4 %) | |

Tablica 10: Klinička učinkovitost za gripu A

| Gripa A | | Test potvrđen od FDA-a | | |
|----------------------------------------|-----------|------------------------|--------------------|--------|
| | | Pozitivan | Negativan | Ukupno |
| Test Panther Fusion SARS/gripa A/B/RSV | Pozitivan | 52 | 1 | 53 |
| | Negativan | 0 | 260 | 260 |
| | Ukupno | 52 | 261 | 313 |
| Pozitivno slaganje (95 % CI) | | 100,0 % | (93,1 % – 100,0 %) | |
| Negativno slaganje (95 % CI) | | 99,6 % | (97,9 % – 99,9 %) | |

Tablica 11: Klinička učinkovitost za gripu B

| Gripa B | | Test potvrđen od FDA-a | | |
|----------------------------------------|-----------|------------------------|-------------------|--------|
| | | Pozitivan | Negativan | Ukupno |
| Panther Fusion Test SARS/gripa A/B/RSV | Pozitivan | 52 | 1 | 53 |
| | Negativan | 1 | 259 | 260 |
| | Ukupno | 53 | 260 | 313 |
| Pozitivno slaganje (95 % CI) | | 98,1 % | (90,1 % – 99,7 %) | |
| Negativno slaganje (95 % CI) | | 99,6 % | (97,9 % – 99,9 %) | |

Tablica 12: Klinička učinkovitost za RSV

| RSV | | Test potvrđen od FDA-a | | |
|----------------------------------------|-----------|------------------------|--------------------|--------|
| | | Pozitivan | Negativan | Ukupno |
| Panther Fusion Test SARS/gripa A/B/RSV | Pozitivan | 52 | 0 | 52 |
| | Negativan | 1 | 260 | 261 |
| | Ukupno | 53 | 260 | 313 |
| Pozitivno slaganje (95 % CI) | | 98,1 % | (90,1 % – 99,7 %) | |
| Negativno slaganje (95 % CI) | | 100,0 % | (98,5 % – 100,0 %) | |

Bibliografija

1. Centri za kontrolu i prevenciju bolesti. <https://www.cdc.gov/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html>. Pristupljeno 17. kolovoza 2021.
2. Centri za kontrolu i prevenciju bolesti. <https://www.cdc.gov/rsv/about/symptoms.html>. Pristupljeno 17. kolovoza 2021.
3. Centri za kontrolu i prevenciju bolesti. <https://www.cdc.gov/flu/professionals/antivirals/summary-clinicians.htm>.
4. Akers IE, Weber R, Sax H, Böni J, Trkola A, Kuster SP. Influence of time to diagnosis of severe influenza on antibiotic use, length of stay, isolation precautions, and mortality: a retrospective study. *Influenza Other Respir Viruses*. 2017;11(4):337-344. doi:10.1111/irv.12454.
5. Couch, R.B. and Kasel, J.A. 1995. Influenza in *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial, and Chlamydial Infections*. 7th Edition. 431-446.
6. Harper, S.A., Fukida, K., Uyeki, T.M., Cox, N.J., and Bridges, C.B. 2005. Prevention and Control of Influenza. *MMWR*. 54(RR08):1-40.
7. World Health Organization. Influenza (Seasonal). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/>.
8. Centri za kontrolu i prevenciju bolesti. Respiratory Syncytial Virus (RSV) Research & Surveillance. <https://www.cdc.gov/rsv/research/us-surveillance.html>. Pristupljeno 30. kolovoza 2021.
9. Centri za kontrolu i prevenciju bolesti. <https://www.cdc.gov/flu/symptoms/index.html>. Pristupljeno 17. kolovoza 2021.
10. Centri za kontrolu i prevenciju bolesti. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html>. Pristupljeno 17. kolovoza 2021.
11. Cucinotta D, Vanelli M. WHO Declares COVID-19 a Pandemic. *Acta Biomed*. 2020 Mar 19;91(1):157-160. doi: 10.23750/abm.v91i1.9397. PMID: 32191675; PMCID: PMC7569573.

Kontaktni podaci



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Za adresu e-pošte i telefonski broj za tehničku podršku te korisničku službu za određenu zemlju posjetite www.hologic.com/support.

Hologic, Aptima, Panther i Panther Fusion i pridruženi logotipovi zaštitni su znakovi i/ili registrirani zaštitni znakovi tvrtke Hologic, Inc. i/ili njezinih podružnica u SAD-u i/ili drugim zemljama.

Svi drugi zaštitni znakovi koji se mogu pojaviti u ovom prilogu vlasništvo su svojih vlasnika.

Ovaj proizvod može biti obuhvaćen jednim ili više patenata u SAD-u koji su identificirani na www.hologic.com/patents.

©2022 – 2023. Hologic, Inc. Sva prava pridržana.

AW-25328-2501 Rev. 002
2023-08