

GI Expanded Bacterial Assay (Panther Fusion® System)

Istruzioni per l'uso

Solo per uso diagnostico *in vitro*

Solo per l'esportazione dagli USA

SOMMARIO

Informazioni generali	2
Uso previsto	2
Riepilogo e spiegazione del test	2
Principi della procedura	3
Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione	4
Avvertenze e precauzioni	4
Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti	7
Raccolta e conservazione dei campioni biologici	8
Trasporto dei campioni biologici	9
Panther Fusion System	10
Reagenti e materiali forniti per il test Panther Fusion GI	10
Expanded Bacterial Assay	10
Materiali richiesti e disponibili separatamente	11
Procedura di test del Panther Fusion System	12
Note procedurali	13
Controllo della qualità	14
Controlli negativi e positivi	14
Controllo interno	14
Interpretazione dei risultati	15
Limitazioni	16
Prestazioni analitiche	17
Sensibilità analitica	17
Inclusività/Reattività - Test a umido	17
Analisi di inclusività/reattività in silico	20
Specificità analitica: Reattività crociata e interferenza microbica - Test a umido	20
Coinfezione/interferenza competitiva	22
Interferenza	23
Contaminazione da contaminazione crociata	26
Riproducibilità	27
Prestazioni cliniche	29
Bibliografia	32
Recapiti	33

Informazioni generali

Uso previsto

Panther Fusion® GI Expanded Bacterial Assay è un test PCR multiplex real-time diagnostico *in vitro* per il rilevamento rapido e qualitativo e la differenziazione di *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. cholerae*), *Escherichia coli* O157 e *Plesiomonas shigelloides*. Gli acidi nucleici vengono isolati e purificati da campioni biologici di feci conservati raccolti da soggetti che presentano segni e sintomi di gastroenterite.

Questo test è realizzato per ausilio nella diagnosi differenziale delle infezioni da *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. cholerae*), *Escherichia coli* O157 e *Plesiomonas shigelloides*. I risultati di questo test devono essere utilizzati insieme alla presentazione clinica, ai risultati di laboratorio e alle informazioni epidemiologiche e non devono essere utilizzati come unica base per la diagnosi, il trattamento o altre decisioni di gestione del paziente. I risultati positivi non escludono la coinfezione con altri organismi non rilevati da questo test e che potrebbero non costituire la causa unica o definitiva della patologia del paziente. I risultati negativi nell'ambito di una patologia clinica compatibile con la gastroenterite possono essere dovuti a un'infezione da agenti patogeni non rilevati da questo test o a cause non infettive come la colite ulcerosa, la sindrome dell'intestino irritabile o il morbo di Crohn. Questo test è destinato all'utilizzo sul Panther Fusion® System.

Riepilogo e spiegazione del test

La diarrea acuta è una delle principali cause di visite ambulatoriali, ricoveri ospedalieri e perdita di qualità della vita sia in ambito nazionale che nei viaggi all'estero. L'impatto globale delle malattie di origine alimentare è notevole: si stima che circa 600 milioni di persone si ammalino, causando 420.000 decessi all'anno.¹ Il Centers for Disease Control and Prevention (CDC) ha stimato 48 milioni di casi di malattie di origine alimentare all'anno negli Stati Uniti, che causano 128.000 ricoveri e 3.000 decessi.² La diarrea acuta è associata a costi sanitari stimati in più di 150 milioni di dollari.³

La gastroenterite infettiva può essere causata da una varietà di organismi batterici, virali e parassitari. I sintomi da soli non possono essere utilizzati per distinguere la causa dell'infezione, i che rende gli strumenti diagnostici rapidi e accurati essenziali per guidare il trattamento e la gestione del paziente.

Il CDC stima che la *Y. enterocolitica* causi ogni anno 116.716 casi di malattia, 637 ricoveri ospedalieri e 34 decessi negli Stati Uniti.⁴ I bambini sono infettati più spesso degli adulti e l'infezione è più comune in inverno.⁵

Si stima che la vibriosi causi ogni anno 80.000 casi di malattia e 100 decessi negli Stati Uniti. La maggior parte delle infezioni si verifica da maggio a ottobre, quando le temperature dell'acqua sono più calde.⁶ Si stima che circa 52.000 di questi casi di malattia siano dovuti al consumo di alimenti contaminati.⁶ Si stima che la specie più comunemente segnalata, *V. parahaemolyticus*, causi 45.000 casi di malattia ogni anno negli Stati Uniti.⁵

Si stima che ogni anno negli Stati Uniti si verifichino 265.000 infezioni da *Escherichia coli* produttore di Shiga tossine (STEC), di cui circa il 36% è causato da STEC O157.⁴ Gli esperti di salute pubblica si basano su stime piuttosto che sul numero effettivo di infezioni perché non tutte le infezioni da STEC vengono diagnosticate.⁷

I focolai di malattie diarreiche sono stati associati all'acqua contaminata e alle ostriche contenenti *P. shigelloides* e si è osservata una riduzione della gravità e della durata dei sintomi in seguito a un'adeguata terapia antimicrobica.⁸

Principi della procedura

Il Panther Fusion System automatizza completamente il trattamento dei campioni biologici, inclusi lisi del campione, cattura di acidi nucleici, amplificazione e rilevamento per il test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay. La cattura dell'acido nucleico e l'eluizione avvengono in una singola provetta sul Panther Fusion System. L'eluato viene trasferito sulla provetta di reazione del Panther Fusion System contenente i reagenti del test. La PCR multiplex real-time viene quindi eseguita per l'acido nucleico eluito sul Panther Fusion System.

Trattamento dei campioni: Prima di procedere con il trattamento e l'analisi sul Panther Fusion System, i campioni biologici vengono trasferiti su una provetta Aptima® Multitest contenente un terreno di trasporto per i campioni biologici (STM) che lisa le cellule, rilascia l'acido nucleico target e li protegge dalla degradazione durante la conservazione.

Cattura ed eluizione dell'acido nucleico: Un controllo interno (IC-B) viene aggiunto automaticamente a ciascun campione biologico tramite il Panther Fusion Capture Reagent-B di lavoro (wFCR-B) per monitorare l'interferenza durante il trattamento dei campioni biologici, l'amplificazione e il rilevamento causati da errore del reagente o sostanze inibitorie. I campioni biologici vengono dapprima incubati in un reagente alcalino (FER-B) per lisare le cellule. L'acido nucleico rilasciato durante la fase di lisi si ibrida con particelle magnetiche in wFCR-B. Le particelle di cattura vengono quindi separate dalla matrice di campione biologico residua in un campo magnetico tramite una serie di fasi di lavaggio con un detergente delicato. L'acido nucleico catturato viene poi eluito dalle particelle magnetiche con un reagente a bassa forza ionica (Panther Fusion Elution Buffer).

***Nota:** il Panther Fusion System aggiunge l'IC-B al Panther Fusion Capture Reagent-B (FCR-B). Dopo l'aggiunta di IC-B al FCR-B, questo viene chiamato wFCR-B (FCR-B di lavoro).*

Amplificazione PCR multiplex e rilevamento della fluorescenza: La miscela master di reazione a dose singola liofilizzata viene ricostituita con il Panther Fusion Reconstitution Buffer I e in seguito combinata con l'acido nucleico eluito in una provetta di reazione. Viene aggiunto Panther Fusion Oil Reagent per prevenire l'evaporazione durante la reazione di PCR.

I primer e le sonde specifiche per il target amplificano quindi i target tramite la reazione a catena della polimerasi, misurando contemporaneamente la fluorescenza dei target in multiplex. Il Panther Fusion System confronta il segnale di fluorescenza con un cutoff predeterminato per produrre un risultato qualitativo per la presenza o l'assenza di ciascun analita.

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

Analita	Gene interessato	Canale dello strumento
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>InvA</i> (Antigene invasivo A)	FAM
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>gyrB</i> (girasi B)	HEX
<i>Vibrio vulnificus</i>	<i>gyrB</i> (girasi B)	HEX
<i>Vibrio cholerae</i>	<i>ompW</i> (proteina W della membrana esterna)	HEX
<i>Escherichia coli</i> O157	<i>rfbE</i> (perosamina sintasi-O-antigene)	ROX
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>hugA</i> (gene di utilizzo dell'eme A)	RED647
Controllo interno	Non applicabile	RED677

Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione

L'SSP (Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione) è disponibile nella banca dati europea dei dispositivi medici (Eudamed), dove è collegata agli identificativi del dispositivo (UDI-DI di base). Per individuare l'SSP relativa al test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay, fare riferimento al Basic Unique Device Identifier (BUDI): 54200455DIAGPFGIEXBACUK.

Avvertenze e precauzioni

- A. Per uso diagnostico *in vitro*.
- B. Leggere attentamente questo foglietto illustrativo e il Panther®/Panther Fusion System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del Panther®/Panther Fusion System).
- C. Per uso professionale.
- D. Il Panther Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B) è corrosivo e pericoloso se ingerito; provoca inoltre gravi ustioni alla pelle e lesioni agli occhi.
- E. Solo il personale adeguatamente formato nell'utilizzo di questo test e nella manipolazione di materiali potenzialmente infettivi deve eseguire queste procedure. Se si verifica un versamento, disinfeccare immediatamente seguendo le procedure del centro appropriate.

Informazioni pertinenti al laboratorio

- F. Utilizzare solo contenitori da laboratorio monouso forniti o indicati in modo specifico come monouso.
- G. Quando si maneggiano campioni biologici e reagenti, indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio. Lavarsi accuratamente le mani dopo aver maneggiato campioni biologici e reagenti.
- H. Smaltire tutto il materiale che è entrato in contatto con campioni biologici e reagenti in conformità alle normative nazionali, internazionali e regionali in vigore.

Informazioni pertinenti ai campioni

- I. I campioni biologici potrebbero essere infettivi. Nell'eseguire questo test, adottare le precauzioni universali. I metodi adeguati di manipolazione e smaltimento vanno stabiliti dal direttore del laboratorio. L'esecuzione di questa procedura diagnostica deve essere permessa esclusivamente al personale adeguatamente formato nella manipolazione di materiali infettivi.
- J. Le date di scadenza elencate sulle provette Aptima® Multitest si riferiscono al trasferimento del campione nella provetta e non all'analisi del campione. I campioni raccolti/trasferiti in qualsiasi momento precedente a queste date di scadenza sono validi per l'analisi purché siano trasportati e conservati secondo le istruzioni incluse nel rispettivo foglietto illustrativo, anche se queste date di scadenza sono state superate.
- K. Mantenere le corrette condizioni di conservazione durante la spedizione del campione biologico per assicurarne l'integrità. La stabilità del campione biologico in condizioni di spedizione diverse da quelle raccomandate non è stata determinata.
- L. Evitare la contaminazione crociata durante i procedimenti di manipolazione dei campioni biologici. I campioni biologici possono contenere livelli di batteri o altri organismi estremamente alti. Assicurarsi che i contenitori dei campioni biologici non entrino in contatto tra di loro ed eliminare i materiali usati senza farli passare sopra i contenitori aperti. Cambiare i guanti se vengono a contatto con i campioni biologici.

Informazioni pertinenti al test

- M. Non utilizzare i reagenti e i controlli dopo la data di scadenza.
- N. Conservare i componenti dei test alle condizioni di conservazione raccomandate. Consultare *Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti e Procedura di test del Panther Fusion System* per maggiori informazioni.
- O. Non combinare liquidi o reagenti del test. Non rabboccare reagenti o liquidi: il Panther Fusion System verifica i livelli dei reagenti.
- P. Evitare la contaminazione micobica e da nucleasi dei reagenti.
- Q. I requisiti del controllo di qualità devono essere analizzati in conformità alle normative nazionali, internazionali e/o regionali in vigore o ai requisiti di accreditamento e le procedure di controllo di qualità standard del proprio laboratorio.
- R. Non utilizzare la cartuccia del test se il sacchetto di conservazione risulta compromesso o se la pellicola della cartuccia del test non è integra. Contattare l'assistenza tecnica Hologic® se dovesse verificarsi uno di questi eventi.
- S. Non utilizzare le confezioni di liquido se il sigillo della pellicola presenta delle perdite. Contattare l'assistenza tecnica Hologic se dovesse verificarsi un tale evento.
- T. Manipolare con cura le cartucce del test. Non far cadere o capovolgere le cartucce del test. Evitare l'esposizione prolungata alla luce ambientale.
- U. Alcuni reagenti del kit riportano, sulle rispettive etichette, delle indicazioni di pericolo.

Nota: Le comunicazioni di pericolo utilizzano le classificazioni delle schede di sicurezza (SDS) dell'UE. Per informazioni relative alla comunicazione sui pericoli specifiche per la propria area geografica, consultare la scheda SDS specifica dell'area geografica nella Raccolta delle schede di sicurezza all'indirizzo www.hologicsds.com. Per ulteriori informazioni sui simboli, consultare la legenda dei simboli all'indirizzo <http://www.hologic.com/package-inserts>.

Informazioni sui rischi per l'UE	
<p>Panther Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B) <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5-10%</i></p> <p> PERICOLO H302 - Nocivo se ingerito. H314 - Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.  P264 - Lavare accuratamente viso, mani ed eventuale superficie cutanea esposta dopo l'uso. P270 - Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso. P330 - Sciacquare la bocca. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato. P260 - Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P280 - Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. P301 + P330 + P331 - IN CASO DI INGESTIONE: sciacquare la bocca. NON provocare il vomito. P303 + P361 + P353 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia]. P304 + P340 - IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. P305 + P351 + P338 - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. P310 - Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico. P321 - Trattamento specifico (vedere le istruzioni supplementari per il primo soccorso nella scheda di sicurezza). P363 - Lavare gli indumenti contaminati prima di indosstrarli nuovamente. P405 - Conservare sotto chiave.</p>	
<p>Panther Fusion Capture Reagent B (FCR-B) <i>HEPES 15-20%</i> <i>Lauril sulfato, sale di litio 10-15%</i> <i>Acido succinico 1-5%</i> <i>Idrossido di litio, monoidrato 1-5%</i></p> <p> H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>	

Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

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

Reagente	Conservazione a bordo/ confezione chiusa	Stabilità a bordo/ a confezione aperta ^a	Conservazione a confezione aperta
Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay Cartridge	da 2 °C a 8 °C	60 giorni	da 2 °C a 8 °C ^b
Panther Fusion Capture Reagent-B (FCR-B)	da 15 °C a 30 °C	30 giorni	da 15 °C a 30 °C
Panther Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B)	da 15 °C a 30 °C	30 giorni	da 15 °C a 30 °C
Panther Fusion Internal Control-B (IC-B)	da 2 °C a 8 °C	(In wFCR-B)	Non applicabile
Panther Fusion Elution Buffer	da 15 °C a 30 °C	60 giorni	da 15 °C a 30 °C
Panther Fusion Oil	da 15 °C a 30 °C	60 giorni	da 15 °C a 30 °C
Panther Fusion Reconstitution Buffer I	da 15 °C a 30 °C	60 giorni	da 15 °C a 30 °C
Panther Fusion GI Expanded Bacterial Positive Control	da 2 °C a 8 °C	Fiala monouso	Non applicabile: monouso
Panther Fusion Negative Control	da 2 °C a 8 °C	Fiala monouso	Non applicabile: monouso

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

^a La stabilità a bordo inizia nel momento in cui il reagente viene collocato sul Panther Fusion System per la Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay Cartridge, il FCR-B, il FER-B e l'IC-B. La stabilità a bordo per Panther Fusion Reconstitution Buffer I, Panther Fusion Elution Buffer e Panther Fusion Oil Reagent inizia quando la confezione di reagente viene utilizzata per la prima volta.

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

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

Raccolta e conservazione dei campioni biologici

Campioni biologici – Materiale clinico raccolto dal paziente e collocato in un apposito sistema di trasporto. Per il test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay, questo include fuci non trattate conservate in terreni di trasporto Cary-Blair.

Campioni – Rappresenta un termine più generico per descrivere qualsiasi materiale da analizzare sul Panther Fusion System tra cui campioni biologici, campioni biologici trasferiti in una provetta Aptima Multitest e controlli.

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

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

- A. I tipi di campioni biologici includono campioni di fuci conservati nei terreni di trasporto Cary-Blair.

Raccogliere le fuci non trattate seguendo le procedure standard di raccolta e manipolazione delle fuci. Trasferire i campioni biologici di fuci non trattate nel terreno di trasporto Cary-Blair secondo le istruzioni del produttore.

- B. Trattamento dei campioni biologici

1. Mescolare accuratamente il campione biologico conservato in Cary-Blair per garantirne l'omogeneità immediatamente prima del trasferimento nella provetta Aptima Multitest.

2. Prima di eseguire il test sul Panther Fusion System, trasferire il campione biologico in una provetta Aptima Multitest.

- a. Aprire parzialmente la confezione del bastoncino. Rimuovere il bastoncino. Non toccare la punta morbida del bastoncino ed evitare che entri in contatto con qualsiasi superficie. Se si tocca la punta morbida del bastoncino, se quest'ultima entra in contatto con qualsiasi superficie oppure se si fa cadere il bastoncino, utilizzare un nuovo kit di raccolta dei campioni di tampone Aptima® Multitest. Immergere completamente la punta morbida del tampone nel campione biologico di fuci conservato in Cary-Blair.

Nota: *Immergere solo la punta morbida del tampone per 1 volta nella parte liquida, assicurandosi che il gambo rosa non venga sommerso.*

- b. Stappare la provetta Aptima Multitest contenente il terreno di trasporto. In caso di versamento del contenuto della provetta, utilizzare un nuovo kit di raccolta dei campioni di tampone Aptima Multitest. Inserire il tampone nella provetta e ruotare delicatamente il tampone nella provetta per 5 secondi per rilasciare il materiale. Lasciare il tampone nella provetta.
- c. Spezzare attentamente il tampone in corrispondenza della linea indicatrice contro la parete della provetta e smaltire la porzione superiore del bastoncino.
- d. Chiudere la provetta con il tappo fornito o con il nuovo tappo perforabile.

3. Conservazione dei campioni biologici prima dell'analisi

- a. Dopo la raccolta, i campioni biologici conservati in Cary-Blair possono essere conservati a 2 °C-8 °C per un massimo di 72 ore prima di essere trasferiti nella provetta Aptima Multitest.

Nota: *Yersinia è influenzato dalla temperatura e dal tempo di conservazione.*

Se i campioni non sono conservati in modo appropriato, possono avere un recupero ridotto e perdere i risultati positivi.

b. Il campione biologico nella provetta Aptima Multitest può essere conservato in una delle seguenti condizioni:

- da 15 °C a 30 °C fino a 6 giorni o
- da 2 °C a 8 °C fino a 30 giorni o
- ≤-20 °C fino a 3 mesi

Nota: Ridurre al minimo i cicli di congelamento e scongelamento per evitare la potenziale degradazione del campione.

Nota: Si raccomanda di mantenere i campioni biologici trasferiti nella provetta Aptima Multitest tappati e in posizione verticale all'interno di una rastrelliera.

C. Conservazione dei campioni dopo l'analisi

1. I campioni analizzati devono essere conservati in posizione verticale all'interno della rastrelliera a una delle seguenti condizioni:

- da 15 °C a 30 °C fino a 6 giorni o
- da 2 °C a 8 °C fino a 30 giorni o
- ≤-20 °C fino a 3 mesi

Nota: Ridurre al minimo i cicli di congelamento e scongelamento per evitare la potenziale degradazione del campione.

2. I campioni devono essere coperti con una nuova barriera pulita di pellicola in plastica o di un foglio in alluminio.

3. Se i campioni analizzati devono essere congelati o spediti, rimuovere i tappi penetrabili dalle provette dei campioni e sostituirli con nuovi tappi non penetrabili. Se i campioni devono essere spediti per essere sottoposti ad analisi in un'altra struttura, occorre mantenere le temperature consigliate. Prima di rimuovere i tappi, occorre tenere le provette di trasporto del campione biologico in posizione verticale per 5 minuti per portare tutto il liquido verso il basso sul fondo della provetta. Evitare schizzi e contaminazione crociata. Non centrifugare.

Trasporto dei campioni biologici

Mantenere le condizioni di conservazione del campione biologico durante il trasporto come descritto in *Raccolta e conservazione dei campioni biologici*.

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

Panther Fusion System

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

Reagenti e materiali forniti per il test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay

Confezioni del test

Componenti	Codice	Conservazione
Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay Cartridge, 96 test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay Cartridge, 12 test, 8 per confezione	PRD-07121	da 2 °C a 8 °C
Panther Fusion Internal Control-B, 960 Test Provetta del Panther Fusion Internal Control-B, 4 per confezione	PRD-06234	da 2 °C a 8 °C
Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay Controls Provetta del Panther Fusion GI Expanded Bacterial Positive Control, 5 per confezione Provetta del Panther Fusion Negative Control, 5 per confezione	PRD-07122	da 2 °C a 8 °C
Panther Fusion Extraction Reagent-B, 960 Test Flacone di Panther Fusion Capture Reagent-B, 240 test, 4 per confezione Flacone di Panther Fusion Enhancer Reagent-B, 240 test, 4 per confezione	PRD-06232	da 15 °C a 30 °C
Panther Fusion Elution Buffer, 2400 test Confezione di Panther Fusion Elution Buffer, 1.200 test, 2 per confezione	PRD-04334	da 15 °C a 30 °C
Panther Fusion Reconstitution Buffer I, 1920 test Panther Fusion Reconstitution Buffer I, 960 test, 2 per confezione	PRD-04333	da 15 °C a 30 °C
Panther Fusion Oil Reagent, 1920 test Panther Fusion Oil Reagent, 960 test, 2 per confezione	PRD-04335	da 15 °C a 30 °C

Articoli confezionati singolarmente

Articoli	Codice
Panther Fusion Tube Trays, 1.008 test, 18 vassoi per confezione	PRD-04000
Kit di raccolta dei campioni biologici Aptima Multitest, confezione da 50	PRD-03546

Materiali richiesti e disponibili separatamente

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

Materiale	N. Cat.
Panther System	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Smaltimento continuo di liquidi e rifiuti Panther System (Panther Plus)	PRD-06067
Kit di liquidi per test Aptima® (Soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente dell'olio Aptima)	303014 (1.000 test)
Unità multiprovetta (MTU)	104772-02
Kit dei sacchetti di rifiuti Panther	902731
Coperchio del contenitore di rifiuti Panther	504405
Oppure kit procedurale Panther System contiene unità multiprovette (MTU), sacchetti di scarico, coperchi del contenitore di scarico, liquidi di dosaggio e reagenti Auto Detect ^a	303096 (5.000 test)
Puntali, 1.000 µL, filtrati, rilevatori di liquido, conduttori e monouso:	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128 MME-04110
Non tutti i prodotti sono disponibili in tutte le aree geografiche. Contattare il rappresentante per informazioni specifiche sulla regione.	—
Tappi penetrabili Aptima (facoltativi)	105668
Tappi non penetrabili di ricambio (facoltativi)	103036A
Tappi di sostituzione del flacone di reagente di estrazione	CL0040
Candeggina, soluzione di ipoclorito di sodio al 5-8,25% (da 0,7 M a 1,16 M)	—
Nota: per le istruzioni sulla preparazione della soluzione di ipoclorito di sodio diluita, consultare il <i>Panther/Panther Fusion System Operator's Manual</i> (Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System).	—
Guanti monouso senza talco	—

^a Necessario solo per i test Aptima che utilizzano la tecnologia TMA.

Materiali opzionali

Materiale	N. Cat.
Vortex da banco (miscelatore analogico Vortex VWR 120V, n. cat. 10153-838) o equivalente	—

Procedura di test del Panther Fusion System

Nota: Per informazioni procedurali aggiuntive, consultare il Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System).

A. Preparazione dell'area di lavoro

- Passare sulle superfici di lavoro una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5–3,5% (0,35–0,5 M). Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici per almeno 1 minuto e risciacquare con acqua deionizzata (DI). Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco con teli da banco di laboratorio puliti, assorbenti e plastificati.

B. Preparazione del reagente

- Rimuovere i flaconi di IC-B, FCR-B e FER-B dal luogo di conservazione.
- Miscelare FCR-B agitando delicatamente fino alla completa risospensione delle microsfere. Evitare la formazione di schiuma durante questo passaggio.
- Aprire i flaconi di IC-B, FCR-B e FER-B e smaltirne i tappi. Aprire lo sportello del TCR sullo scomparto superiore del Panther Fusion System.
- Collocare i flaconi di IC-B, FCR-B e FER-B nelle posizioni appropriate sul carosello del TCR.
- Chiudere lo sportello del TCR.

Nota: Il Panther Fusion System aggiunge l'IC-B sul FCR-B. Dopo l'aggiunta di IC-B al FCR-B, questo viene chiamato wFCR-B (FCR-B di lavoro). Se wFCR-B e FER-B vengono rimossi dal sistema, utilizzare nuovi tappi e conservare immediatamente conformemente alle corrette condizioni di conservazione.

C. Manipolazione dei campioni biologici

- Verificare visivamente che ogni provetta di campione biologico contenga un singolo tampone di raccolta Aptima rosa nella provetta Aptima Multitest. Se la provetta Aptima Multitest non contiene alcun tampone, più tamponi o un tampone non fornito da Hologic, il trasferimento delle feci nel terreno Cary-Blair deve essere ripetuto utilizzando un nuovo kit di raccolta dei campioni con tampone Aptima Multitest.
- Verificare l'aspetto del campione nella provetta Aptima Multitest.
 - Se il campione biologico è omogeneo, procedere con il test.
 - Se si osservano materiali solidi o mucoidi, tenere presente che questi possono interferire con il test.

Nota: Se durante il trattamento dei campioni vengono rilevati flag non validi (ad esempio CLT, icrfu, ebf o ebl), i campioni nella provetta Aptima Multitest possono essere agitati con un vortex dopo aver sostituito il tappo con uno nuovo perforabile per 30-60 secondi alla massima velocità su un vortex da banco standard prima di ripetere il test.

Nota: Preparare i campioni biologici in base alle istruzioni per il trattamento dei campioni biologici contenute nella sezione Raccolta e conservazione dei campioni biologici prima di caricarli sul Panther Fusion System.

D. Preparazione del sistema

Per istruzioni sulla configurazione del Panther Fusion System, tra cui il caricamento di campioni, reagenti, cartucce del test e liquidi universali, consultare Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System).

Note procedurali**A. Controlli**

1. Il Panther Fusion GI Expanded Bacterial Positive Control e il Panther Fusion Negative Control possono essere caricati in qualsiasi posizione dello scomparto dei campioni, in qualsiasi corsia dello scomparto campione sul Panther Fusion System.
2. Quando le provette di controllo vengono pipettate e trattate per il test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay, sono valide fino a 30 giorni (frequenza del controllo configurata da un amministratore) a meno che i risultati del controllo risultino non validi o non venga caricata una nuova cartuccia del test.
3. Ciascuna provetta di controllo può essere analizzata una volta.
4. Il pipettaggio dei campioni biologici del paziente inizia dopo aver soddisfatto 1 delle seguenti 2 condizioni:
 - a. I risultati validi dei controlli sono stati registrati nel sistema.
 - b. Alcuni controlli sono in fase di trattamento da parte del sistema.

Controllo della qualità

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

Controlli negativi e positivi

Per generare risultati validi è necessario analizzare una serie di controlli del test. Un (1) replicato del controllo del test negativo e del controllo del test positivo deve essere analizzato ogni volta che un nuovo lotto di cartucce del test viene caricato sul Panther Fusion System o quando la serie corrente di controlli validi per un lotto di cartucce attive è scaduta.

Il Panther Fusion System è stato configurato in modo da richiedere sessioni analitiche dei controlli del test in base a un intervallo specificato dall'amministratore di un massimo di 30 giorni. Il software sul Panther Fusion System avvisa l'operatore quando sono necessari controlli del test e non avvia nuovi test finché i controlli del test non vengono caricati e non hanno iniziato il trattamento.

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

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

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

Controllo interno

Durante il processo di estrazione, viene aggiunto un controllo interno a ciascun campione. Durante il trattamento, i criteri di accettabilità del controllo interno vengono verificati automaticamente dal software del Panther Fusion System. Il rilevamento del controllo interno non è richiesto per campioni positivi a *Yersinia enterocolitica*, specie *Vibrio*, *Escherichia coli* O157 e/o *Plesiomonas shigelloides*. Il controllo interno deve essere rilevato in tutti i campioni negativi per tutti gli analiti previsti; i campioni che non soddisfano tali criteri saranno segnalati come non validi. Ogni campione con un risultato non valido deve essere rianalizzato.

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

Interpretazione dei risultati

Il Panther Fusion System determina automaticamente i risultati del test per campioni e controlli. Risultati per *Yersinia enterocolitica*, specie *Vibrio*, *Escherichia coli* O157 e *Plesiomonas shigelloides* sono riportati separatamente. Un risultato del test può essere negativo, positivo o non valido.

Il primo risultato valido è il risultato da riportare sul referto. I campioni con risultati non validi devono essere rianalizzati. Se il risultato non è valido al momento del test, è necessario raccogliere un nuovo campione biologico.

Tabella 1 mostra i possibili risultati riportati in una sessione analitica valida con le interpretazioni dei risultati corrispondente.

Tabella 1: Interpretazione dei risultati

<i>Yersinia</i> Risultato	<i>Vibrio</i> Risultato	O157 Risultato^a	<i>Plesio</i> Risultato	IC Risultato	Interpretazione
Neg	Neg	Neg	Neg	Valido	<i>Yersinia enterocolitica</i> , specie <i>Vibrio</i> , <i>E.coli</i> O157 e <i>Plesiomonas shigelloides</i> non rilevati.
POS	Neg	Neg	Neg	Valido	<i>Yersinia enterocolitica</i> rilevato.
Neg	POS	Neg	Neg	Valido	Specie <i>Vibrio</i> rilevata.
Neg	Neg	POS	Neg	Valido	<i>E. coli</i> O157 rilevato.
Neg	Neg	Neg	POS	Valido	<i>Plesiomonas shigelloides</i> rilevato.
POS	POS	Neg	Neg	Valido	<i>Yersinia enterocolitica</i> e specie <i>Vibrio</i> rilevati.
POS	Neg	POS	Neg	Valido	<i>Yersinia enterocolitica</i> e <i>E. coli</i> O157 rilevati.
POS	Neg	Neg	POS	Valido	<i>Yersinia enterocolitica</i> e <i>Plesiomonas shigelloides</i> rilevati.
Neg	POS	POS	Neg	Valido	Specie <i>Vibrio</i> e <i>E. coli</i> O157 rilevati.
Neg	POS	Neg	POS	Valido	Specie <i>Vibrio</i> e <i>Plesiomonas shigelloides</i> rilevati.
Neg	Neg	POS	POS	Valido	<i>E. coli</i> O157 e <i>Plesiomonas shigelloides</i> rilevati.
POS	POS	POS	Neg	Valido	<i>Yersinia enterocolitica</i> , specie <i>Vibrio</i> e <i>E. coli</i> O157 rilevati. Le infezioni da 3 batteri sono rare. Rieseguire l'analisi per confermare il risultato.
POS	POS	Neg	POS	Valido	<i>Yersinia enterocolitica</i> , specie <i>Vibrio</i> e <i>Plesiomonas shigelloides</i> rilevati. Le infezioni da 3 batteri sono rare. Rieseguire l'analisi per confermare il risultato.
POS	Neg	POS	POS	Valido	<i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>E. coli</i> O157 e <i>Plesiomonas shigelloides</i> rilevati. Le infezioni da 3 batteri sono rare. Rieseguire l'analisi per confermare il risultato.
Neg	POS	POS	POS	Valido	Specie <i>Vibrio</i> , <i>E. coli</i> O157 e <i>Plesiomonas shigelloides</i> rilevati. Le infezioni da 3 batteri sono rare. Rieseguire l'analisi per confermare il risultato.
POS	POS	POS	POS	Valido	<i>Yersinia enterocolitica</i> , specie <i>Vibrio</i> , <i>E. coli</i> O157 e <i>Plesiomonas shigelloides</i> rilevati. Le infezioni da 4 batteri sono rare. Rieseguire l'analisi per confermare il risultato.
Non valido	Non valido	Non valido	Non valido	Non valido	Non valido. Si è verificato un errore nella generazione del risultato; riesaminare il campione biologico.

Neg = negativo, POS = positivo.

Nota: il risultato POS sarà accompagnato dai valori della soglia di ciclo (Ct). POS/HT rappresenta un risultato di titolo elevato e non viene riportata la Ct.

^a Il test Panther Fusion GI Bacterial Assay fornisce risultati per i geni della Shiga tossina stx1/stx2. Si noti che sono stati identificati ceppi di *E. coli* O157 che non portano i geni della tossina tipo Shiga. Tuttavia, l'importanza clinica di questi ceppi non-STEC O157 non è stata stabilita.

Limitazioni

- A. L'utilizzo di questo test va limitato al personale formato sulla relativa procedura. La mancata osservanza delle istruzioni fornite può determinare risultati erronei.
- B. L'affidabilità dei risultati è subordinata alla raccolta, al trasporto, alla conservazione e al trattamento adeguati del campione biologico.
- C. Evitare la contaminazione aderendo alle buone pratiche di laboratorio e alle procedure specificate nel presente foglietto illustrativo.
- D. Le polveri di terreno Cary-Blair disidratate e i terreni Cary-Blair in configurazione solida ad alto contenuto di agarosio non sono stati valutati e potrebbero non essere compatibili con le fasi di trattamento dei campioni del saggio.
- E. Le prestazioni di questo test sono state convalidate solo con feci umane raccolte nel terreno di trasporto di Cary Blair liquido, secondo le istruzioni del produttore del terreno.
- F. Questo prodotto non deve essere utilizzato per analizzare campioni di feci in fissativo.

Prestazioni analitiche

Sensibilità analitica

La sensibilità analitica (limite di rilevazione o LoD) del test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay è stata determinata testando diluizioni della matrice Cary-Blair Stool (CBS) negativa trattata addizionata con colture batteriche di *Yersinia* (2 ceppi), *Vibrio* (3 ceppi), *Plesiomonas* (2 ceppi) e STEC O157 (2 ceppi). Un minimo di 24 replicati è stato analizzato per ciascuno dei 3 lotti di reagente. Il LoD per ciascun analita è stato determinato dall'analisi Probit per ciascun lotto di reagente ed è stato confermato con altri 24 replicati utilizzando un singolo lotto di reagenti in configurazione di analita singolo e multiplo. La sensibilità analitica è definita come la concentrazione minore a cui ≥95% di tutti i replicati analizzati sono risultati positivi, come riepilogato nella Tabella 2.

Tabella 2: Sensibilità analitica

Ceppo	Concentrazione LoD (CFU/mL) ^a	
	Provetta Aptima Multitest	Feci conservate
<i>Yersinia enterocolitica</i> , 33114	91	1.820
<i>Yersinia enterocolitica</i> , 1375, O:8	94	1.880
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> , EB101	90	1.800
<i>Vibrio vulnificus</i> , B9629	10	200
<i>Vibrio cholerae</i> , 8021	33	660
STEC O157:H7, EDL 931	53	1.060
O157:NM, CDC 92-3073	357	7.140
<i>Plesiomonas shigelloides</i> , CDC 3085-55	65	1.300
<i>Plesiomonas shigelloides</i> , GNI 14	34	680

CFU = unità formanti colonie.

^a Le concentrazioni degli analiti nella provetta Aptima Multitest sono diluite di circa 20 volte rispetto alle feci conservate (~150 µL di feci conservate in ~3 mL STM).

Inclusività/Reattività - Test a umido

L'inclusività/reactività del test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay è stata determinata analizzando i ceppi batterici nella matrice CBS negativa trattata. Ogni ceppo è stato testato in triplicato a 3 volte il LoD con 1 lotto di reagenti in configurazione di analita singolo o multiplo. Per i ceppi non rilevati a 3 volte il LoD, sono state eseguite ulteriori analisi in corrispondenza di concentrazioni più alte fino a quando non è stata osservata una positività del 100%. La Tabella 3 mostra la concentrazione più bassa di ciascun ceppo in cui è stata osservata una positività del 100%.

Tabella 3: Riepilogo dell'inclusività/reattività per gli analiti del test GI Expanded Bacterial

Organismo	ATCC# o fonte	Ceppo/Serovar/Sierotipo/Proprietà antigeniche	Concentrazione del test (3 volte il LoD) (CFU/mL)	
			Provetta Aptima Multitest	Feci conservate
<i>Yersinia enterocolitica</i>	BEI NR-207	CDC 497-70, O:8	282	5.640
	BEI NR-212	NCTC 11175, O:3	282	5.640
	23715	Billups-1803-68, O:8	282	5.640
	49397	1375, O:8 ^c	282	5.640
	NCTC 10463	P 77, O:5, 27	282	5.640
	CCUG 4588	Tipo 2, O:9	282	5.640
	CCUG 8050	N/D	282	5.640
	CCUG 8232	Tipo 5, O:1, 2, 3 O:2, 3 O:3/XI	282	5.640
	CCUG 8234	Tipo 4	282	5.640
	55075	O:9	282	5.640
	27729	WA, Tipo 1, O:8	282	5.640
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	BEI NR-21990	48057, O4: K12	270	5.400
	BEI NR-21992	KXV 755, O4: K41	270	5.400
	BAA-242	VP250, O1:KUT	270	5.400
	27969	FC 1011	270	5.400
	BAA-241	VP232, O4:K68	270	5.400
	33845	117 [CDC KC830]	270	5.400
	43996	NCTC 10884 [70/116655]	270	5.400
	33846	205 [9302]	270	5.400
	49529	MDL 3875-7-83, O4:K12	270	5.400
	CCUG 34902	N/D	270	5.400
	CCUG 67711	N/D	270	5.400
	33847	279 [11590]	270	5.400
<i>Vibrio vulnificus</i>	33817	329 [CDC B3547], Biotipo 2	33	660
	BAA-86	CDC 9505-95	33	660
	CCUG 38297	N/D	33	660
	CCUG 47321	N/D	33	660
	29306	CDC A1402 [P. Baumann 328]	33	660
	43382	VVL1	33	660
	29307	CDC A8694	33	660
	CCUG 38297	N/A ^b	55	1.110

Tabella 3: Riepilogo dell'inclusività/reattività per gli analiti del test GI Expanded Bacterial (continua)

Organismo	ATCC# o fonte	Ceppo/Serovar/Sierotipo/Proprietà antigeniche	Concentrazione del test (3 volte il LoD) (CFU/mL)	
			Provetta Optima Multitest	Feci conservate
<i>Vibrio cholerae</i>	BEI NR-147	N16961, O:1	99	1.980
	BEI NR-148	CVD 101, O:1	99	1.980
	BEI NR-149	Nanking 32/123, O:2	99	1.980
	BEI NR-152	Nanking 32/124 (NCTC 8042), O:7	99	1.980
	14033	NCTC 8457 [R. Hugh 1092], O1, Inaba	99	1.980
	9459	AMC 20-A-10 [R. Hugh 583], Inaba	99	1.980
	CCUG 2573	NAG/NCV	99	1.980
	CCUG 2569	NAG/NCV	99	1.980
	CCUG 4070	Non O-1	99	1.980
	CCUG 21589	18	99	1.980
	CCUG 56875	N/D	99	1.980
	CCUG 53725	O1/O139	99	1.980
STEC O157: H7	CCUG14542	N/D	99	1.980
	9458	AMC 20-A-41 [R. Hugh 582], Ogawa	99	1.980
	25870	569B	99	1.980
	43890	CDC C984 [CDC 3526-87], H7	159	3.180
	43895	CDC EDL 933, H7	159	3.180
	43894	CDC EDL 932, H7	159	3.180
	700927	EDL 933, H7:K-	159	3.180
	700375	CDC 94-G7771, NM	1.197	23.940
STEC O157: NM	700377	CDC 92-3099, NM	1.197	23.940
	700378	CDC 92-3073, NM	1.197	23.940
	AR Bank # 427 ^a	N/D	1.197	23.940
	AR Bank # 428 ^a	N/D	1.197	23.940
	AR Bank # 429 ^a	N/D	1.197	23.940
	AR Bank # 430 ^a	N/D	1.197	23.940
	14030	CDC 16408 [Ferguson e Henderson C27, RH 864], O:17	195	3.900
	51903	GNI 14 ^c	195	3.900
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	51572	CIP 69,35 [2886]	195	3.900
	CCUG 7041A	O17: H2	195	3.900
	CCUG 9221	O17	195	3.900
	CCUG 14309	O17: H2	195	3.900
	CCUG 14597	N/D	195	3.900

CFU = unità formanti colonie.

^a Questi ceppi sono stati valutati utilizzando il LoD più alto dei 2 sierotipi, ovvero il sierotipo NM.^b Per questo ceppo è stato osservato il 100% di positività a ~ 5 volte il LoD. L'analisi *in silico* ha mostrato il 100% di omologia rispetto alla regione di amplificazione.^c Ceppi utilizzati per stabilire il LoD.

Analisi di inclusività/reattività *in silico*

L'inclusività del test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay è stata valutata utilizzando l'analisi di inclusività *in silico* per ogni analita. L'analisi *in silico* è stata eseguita utilizzando le sequenze degli analiti disponibili nel database NCBI e nel database delle sequenze shotgun dell'intero genoma. Per ogni analita, le sequenze oligonucleotidiche corrispondenti (primer e sonde) sono state valutate rispetto alle sequenze del database. Tutte le sequenze di lunghezza insufficiente (che non coprono l'intera regione dell'amplicone) sono state escluse dall'analisi.

In base all'analisi *in silico* di tutte le sequenze disponibili fino al 30 maggio 2023 nei database, si prevede che il test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay sia in grado di rilevare il 99,9% di 1.054 sequenze valutate di *Yersinia Enterocolitica*, il 99,5% di 1.337 sequenze valutate di *Vibrio parahaemolyticus*, il 99,1% di 1.180 sequenze valutate di *Vibrio vulnificus*, il 98,0% di 1.189 sequenze valutate di *Vibrio cholerae*, il 100% di 2.004 sequenze valutate di STEC O157 e il 91,5% di 47 sequenze valutate di *Plesiomonas shigelloides*.

Specificità analitica: Reattività crociata e interferenza microbica - Test a umido

La specificità analitica (reattività crociata) e l'interferenza microbica per il test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay sono state valutate in presenza di microrganismi non target filogeneticamente correlati agli analiti del test o potenzialmente presenti nei campioni clinici. I pannelli composti da 109 batteri, virus, parassiti e lieviti elencati in Tabella 4 sono stati testati in una matrice CBS negativa trattata in assenza e in presenza di analiti del test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay a 3 volte il LoD. Eccetto dove indicato, batteri, lieviti e parassiti sono stati valutati a 10^6 CFU/mL o 10^6 copie di rRNA/mL o 10^6 cellule/mL; i virus sono stati valutati a 10^5 TCID₅₀/mL. Se nei test iniziali è stata osservata una reattività crociata o un'interferenza, l'organismo è stato testato a concentrazioni inferiori fino a quando non è stato osservato il risultato atteso. Non è stata osservata alcuna reattività crociata o interferenza microbica con nessuno degli organismi testati nel test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay alle concentrazioni indicate.

Tabella 4: Microrganismi testati per la reattività crociata e l'interferenza microbica

Microrganismo	Concentrazione del test	Microrganismo	Concentrazione del test
<i>Arcobacter cryaerophilus</i>	10^6 CFU/mL	<i>Enterococcus faecalis</i>	10^6 CFU/mL
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	10^6 CFU/mL	<i>Enterobacter aerogenes</i>	10^6 CFU/mL
<i>Streptococcus pyogenes</i>	10^6 CFU/mL	<i>Enterobacter cloacae</i>	10^6 CFU/mL
<i>Trabulsiella guamensis</i>	10^6 CFU/mL	<i>Escherichia fergusonii</i>	10^6 CFU/mL
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	10^6 copie di rRNA/mL	<i>Escherichia hermannii</i>	10^6 CFU/mL
<i>Escherichia coli</i> (non produttore di Shiga tossina)	10^6 CFU/mL	<i>Escherichia vulneris</i>	10^6 CFU/mL
<i>Giardia lamblia</i> BG-A ^a	10^6 copie/mL	<i>Gardnerella vaginalis</i>	10^6 CFU/mL
<i>Cyclospora</i> ^a	10^6 copie/mL	<i>Helicobacter pylori</i>	10^6 CFU/mL
<i>Cryptosporidium</i> ^a	10^6 copie/mL	<i>Klebsiella oxytoca</i>	10^6 CFU/mL
Norovirus (Noro GII) ^a	10^6 copie/mL	<i>Klebsiella ozaenae</i>	10^6 CFU/mL
Astrovirus ^a	10^6 copie/mL	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10^6 CFU/mL

Tabella 4: Microrganismi testati per la reattività crociata e l'interferenza microbica (continua)

Microrganismo	Concentrazione del test	Microrganismo	Concentrazione del test
Sapovirus (GII) ^a	10 ⁵ copie/mL	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	10 ⁶ CFU/mL
Enterovirus (Ent V) ^a	10 ⁵ copie/mL	<i>Lactobacillus crispatus</i>	10 ⁶ CFU/mL
Rhinovirus ^a	10 ⁵ copie/mL	<i>Lactococcus lactis</i>	10 ⁶ CFU/mL
Coronavirus 229E	10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Listeria grayi</i>	10 ⁶ CFU/mL
Coxsackievirus tipo B4	10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Listeria monocytogenes</i>	10 ⁶ CFU/mL
Adenovirus tipo 7A	10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Morganella morganii</i>	10 ⁶ CFU/mL
Rotavirus ^a	10 ⁵ copie/mL	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Anaerococcus tetradius</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Peptostreptococcus micros</i>	10 ⁶ copie di rRNA/mL
<i>Abiotrophia defectiva</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Photobacterium damselae</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Acinetobacter baumannii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Prevotella bivia</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Prevotella melaninogenica</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Aeromonas hydrophila</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Proteus mirabilis</i>	10 ⁶ copie di rRNA/mL
<i>Alcaligenes faecalis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Proteus penneri</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Proteus vulgaris</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Anaerococcus vaginalis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Providencia alcalifaciens</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Arcobacter butzleri</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Providencia rettgeri</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bacillus cereus</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Providencia stuartii</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bacteroides fragilis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bacteroides vulgatus</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Serratia liquefaciens</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Serratia marcescens</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bifidobacterium longum</i>	10 ⁶ copie di rRNA/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter fetus</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter hyoilealis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter rectus</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Streptococcus anginosus</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter sputorum</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Candida albicans</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Yersinia bercovieri</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Citrobacter freundii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Citrobacter koseri</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Yersinia rohdei</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Clostridium difficile</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Campylobacter lari</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Clostridium perfringens</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Entamoeba histolytica</i>	10 ⁴ cellule/mL
<i>Clostridium ramosum</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Megasphaera elsdenii</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Clostridium sordellii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Chlamydia trachomatis</i>	10 ⁵ IFU/mL
<i>Clostridium tertium</i>	10 ⁴ CFU/mL	<i>Leptotrichia buccalis</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Collinsella aerofaciens</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Cytomegalovirus</i>	10 ⁵ TCID ₅₀ /mL
<i>Corynebacterium genitalium</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Salmonella enterica</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Cronobacter sakazakii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Campylobacter jejuni</i>	10 ⁶ CFU/mL

Tabella 4: Microrganismi testati per la reattività crociata e l'interferenza microbica (continua)

Microrganismo	Concentrazione del test	Microrganismo	Concentrazione del test
<i>Edwardsiella tarda</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Shigella sonnei</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Eggerthella lenta</i>	10 ⁶ copie di rRNA/mL	STEC - stx1	10 ⁶ CFU/mL
STEC - stx2	10 ⁶ CFU/mL	<i>Vibrio mimicus</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Vibrio fluvialis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Yersinia frederiksenii</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Vibrio furnissii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Yersinia kristensenii</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Vibrio metschnikovii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Vibrio alginolyticus</i> ^b	10 ⁴ CFU/mL

CFU = unità formanti colonie, IFU = unità formanti inclusioni, copie di rRNA = copie di acido ribosomale ribonucleico, TCID₅₀ = dose infettiva delle colture tissutali media.

^a I trascritti *in vitro* sono stati utilizzati per valutare la reattività crociata e l'interferenza microbica, poiché non sono facilmente disponibili virus in coltura o acidi nucleici purificati dall'intero genoma.

^b La reattività crociata è stata osservata a concentrazioni ≥10⁵ CFU/mL.

Coinfezione/interferenza competitiva

L'interferenza competitiva nel test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay è stata valutata in triplicato utilizzando coppie di analiti del test a concentrazioni basse/alte in una matrice CBS negativa trattata. L'analita a bassa concentrazione è stato testato a 3 volte il LoD contro un analita ad alta concentrazione a 10⁶ CFU/mL. Inoltre, gli analiti sono stati testati anche in assenza di un secondo analita. Se si osservava una positività inferiore al 100% per l'analita a bassa concentrazione, l'analita ad alta concentrazione veniva diluito fino a raggiungere una concentrazione in cui si otteneva una positività del 100% dell'analita a bassa concentrazione. La più alta concentrazione dell'analita concorrente alla quale l'analita a bassa concentrazione ha mantenuto il 100% di positività è mostrata in Tabella 5. Quando gli analiti sono stati testati ad alta concentrazione, tutti i risultati per gli altri analiti hanno mantenuto la positività prevista; non è stata osservata alcuna interferenza competitiva.

Tabella 5: Riepilogo dei risultati della co-infezione

Analita 1		Analita 2		<i>Yersinia</i> % pos	<i>Vibrio</i> % pos	STEC O157 % pos	<i>Plesiomonas</i> % pos
Nome	3X LoD (CFU/mL) ^a	Nome	Conc elevata (CFU/mL) ¹				
Negativo	N/D	Negativo	N/D	0%	0%	0%	0%
		Nessuna	0	100%	0%	0%	0%
		<i>Vibrio</i> ^b	10 ⁴	100%	100%	0%	0%
<i>Yersinia</i>		282	STEC O157	10 ⁶	100%	0%	100%
	270	<i>Plesiomonas</i>	10 ⁶	100%	0%	0%	100%
		Nessuno	0	0%	100%	0%	0%
		<i>Yersinia</i>	10 ⁶	100%	100%	0%	0%
<i>Vibrio</i>		STEC O157	10 ⁶	0%	100%	100%	0%
		<i>Plesiomonas</i>	10 ⁶	0%	100%	0%	100%

Tabella 5: Riepilogo dei risultati della co-infezione (continua)

		Nessuna	0	0%	0%	100%	0%
STEC O157	1.197	<i>Yersinia</i>	10^6	100%	0%	100%	0%
		<i>Vibrio</i> ^b	10^4	0%	100%	100%	0%
		<i>Plesiomonas</i>	10^6	0%	0%	100%	100%
		Nessuna	0	0%	0%	0%	100%
<i>Plesiomonas</i>	195	<i>Yersinia</i>	10^6	100%	0%	0%	100%
		<i>Vibrio</i> ^b	10^6	0%	100%	0%	100%
		STEC O157	10^6	0%	0%	100%	100%
		<i>Yersinia</i>	10^6	100%	0%	0%	0%
Nessuna	0	<i>Vibrio</i>	10^6	0%	100%	0%	0%
		STEC O157	10^6	0%	0%	100%	0%
		<i>Plesiomonas</i>	10^6	0%	0%	0%	100%

CFU = unità formanti colonie, Conc = concentrazione, Pos = positivo.

^a Concentrazione dell'analita nella provetta Aptima Multitest.

^b Sono stati osservati risultati positivi inferiori al 100% per l'analita 1 con *Vibrio* a $\geq 10^5$ CFU/mL.

Interferenza

I potenziali effetti inibitori di sostanze endogene ed esogene che possono essere presenti in un campione biologico sono stati valutati nel test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay. Concentrazioni clinicamente rilevanti di sostanze potenzialmente interferenti sono state aggiunte alla matrice CBS negativa processata e testate in assenza e in presenza degli analiti del test GI Expanded Bacterial a 3 volte il LoD. I test sono stati eseguiti in triplicato. Le sostanze e le concentrazioni dei test sono riportate in Tabella 6.

Non è stato osservato alcun impatto sulle prestazioni del test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay per nessuna delle sostanze alle concentrazioni testate.

Tabella 6: Sostanze testate per l'interferenza

Tipo di sostanza	Nome generico	Ingredienti attivi	Concentrazione del test^{a, b, c}
Antibiotici	Amoxicillina	Amoxicillina	0,7 µg/mL
	Ampicillina	Ampicillina	0,9 µg/mL
	Doxiciclina	Doxiciclina	0,2 µg/mL
	Metronidazolo	Metronidazolo	1,5 µg/mL
	Neosporina®	Polimixina B solfato, bacitracina zinco, neomicina solfato	1,3% p/v
Antimicrobico e antimicotico	Salviette antisettiche BZK	Cloruro di benzalconio	1,3% v/v
	Nistatina	Nistatina	1,3% v/v
Lassativi e ammorbidente delle feci	Dulcolax® supposta	Bisacodile	75 ng/mL
	Colace®	Docusato sodico	3,0 µg/mL
	Clistere di olio minerale Fleet®	Olio minerale	1,3% v/v
	Ex-Lax®	Sennosidi	0,8 µg/mL
	Miralax®	Polietilenglicole 3350	0,1 mg/mL
	Latte di magnesia	Idrossido di magnesio, idrossido di alluminio	1,3% v/v
	Visicol®	Fosfato di sodio	53 ng/mL
Antidiarreico	Imodium	Loperamide cloridrato	0,1 µg/mL
Antiprurito	Vagisil®	Benzocaina	1,3% p/v
	Preparazione H®	Idrocortisone	1,3% p/v
Antinfiammatorio	Fenilefrina cloridrato (per le emorroidi)	Fenilefrina cloridrato	0,4 ng/mL
	Mesalazina (solo su prescrizione medica, per la malattia di Crohn/ colite ulcerosa)	Acido salicilico	0,4 µg/mL
	Aleve®	Naprossene sodico	4,5 µg/mL
Antiacido	Pepto-Bismol®	Subsalicilato di bismuto	1,3% v/v
	Tums®	Carbonato di calcio	55 µg/mL
Materiale di contrasto radiopaco	Solfato di bario	Solfato di bario	0,1 mg/mL
Lubrificanti e protettivi per la pelle	Gel lubrificante intimo K-Y® con glicerina	Glicerina	1,3% p/v
	Vaselina bianca pura al 100% Vaseline®	Petrolato	1,3% p/v
	Desitin®	Ossido di zinco	1,3% p/v
Spermicida	Gel contraccettivo vaginale Options Conceptrol®	Nonossinolo-9	1,3% p/v

Tabella 6: Sostanze testate per l'interferenza (continua)

Tipo di sostanza	Nome generico	Ingredienti attivi	Concentrazione del test ^{a, b, c}
Sostanza endogena	Colesterolo	Colesterolo	50 µg/mL
	Acidi grassi	Acido palmitico	16 µg/mL
	Acidi grassi	Acido stearico	34 µg/mL
	Trigliceridi, totali (grasso fecale, Intralipid)	Trigliceridi	1,3% v/v
	Bile umana	Bilirubina coniugata	5,0 µg/mL
	Urina	Urina umana	1,3% v/v
	Sangue intero umano	Sangue/emoglobina	1,3% v/v
	Mucina	Proteina mucina purificata	0,05% p/v

^a Concentrazione dell'analita nella provetta Aptima Multitest.^b v/v: volume per volume.^c p/v peso per volume.

I campioni biologici di fuci preparati in diversi terreni di conservazione sono stati valutati per il potenziale impatto sulle prestazioni del test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay. I terreni di conservazione valutati comprendono 10 diversi tipi di terreni di trasporto di Cary-Blair di diversi fornitori e terreni di conservazione contenenti i fissativi indicati in Tabella 7. Tutti i terreni sono stati testati con gli analiti del test GI Expanded Bacterial a 3 volte il LoD. Con tutti i terreni Cary-Blair sono state riscontrate prestazioni comparabili. Un'interferenza analogica è stata osservata quando i campioni biologici sono stati trattati in terreni contenenti fissativi.

Tabella 7: Supporti per la conservazione delle fuci testati per verificare la presenza di interferenze

Terreni Cary-Blair	
Terreno Culture & Sensitivity (C&S)	Terreno Protocol Cary Blair
Terreno di trasporto Cary Blair con indicatore	Terreno di trasporto Enteric (ETM)
Para-Pak® C&S	Terreno Puritan® Cary-Blair 2mL ^a
Para-Pak® Enteric Plus	Terreno Puritan® Cary-Blair 5mL ^a
Fiala di trasporto delle fuci Cardinal Health™ C&S	Sistema di raccolta, trasporto e conservazione Copan® FecalSwab® ^a
Terreni fissativi (è stata osservata un'interferenza)	
Fisher® formalina tamponata al 10%	
Para-Pak® formalina tamponata al 10%	
Para-Pak® LV-PVA	

^a Le prestazioni cliniche non sono state stabilite per questi supporti.

Contaminazione da contaminazione crociata

Panther Fusion GI Bacterial Assay e Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay appartengono alla stessa famiglia di test, utilizzano entrambi le feci in terreno Cary Blair come tipo di campione e seguono identiche fasi di elaborazione del test. La contaminazione crociata è stata valutata utilizzando Panther Fusion GI Bacterial Assay come test rappresentativo e ha dimostrato un tasso di contaminazione crociata dello 0%.

Precisione/ripetibilità all'interno del laboratorio

La precisione del test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay all'interno del laboratorio è stata valutata con un pannello di 5 elementi composto da analiti del test in matrice CBS negativa trattata. Il pannello di 5 elementi comprendeva 1 analita negativo, 2 analiti singoli (*Yersinia*) e 2 multipli (con *Vibrio*, STEC O157 e *Plesiomonas*). I pannelli sono stati testati da 3 operatori su 2 sessioni analitiche al giorno, utilizzando 3 lotti di reagenti su 3 Panther Fusion System nell'arco di 9 giorni.

Gli elementi del pannello sono descritti nella Tabella Tabella 8, insieme a un riepilogo della concordanza con i risultati attesi e l'analisi Ct media e della variabilità tra lotti di reagenti, operatori, strumenti, giorni, tra diverse sessioni analitiche, nella stessa sessione analitica e complessiva (totale).

Tabella 8: Riepilogo dell'analisi della variabilità del Ct

Pannello	Descrizione	Analita	Concordanza/N	Concordanza % ^a	Ct media	Tra lotti diversi		Tra strumenti diversi		Tra operatori diversi		Tra giorni diversi		Tra sessioni analitiche diverse		Nella stessa sessione analitica		Totale	
						DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
1	Negativo	Negativo (Controllo interno)	162/162	100	28,0	0,11	0,39	0,32	1,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,42	0,14	0,51	0,39	1,39
2	Bassa pos. (1,5X LoD)	<i>Yersinia</i>	162/162	100	34,6	0,07	0,20	0,08	0,23	0,04	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,48	1,39	0,50	1,43
3	Moderata pos. (1,5X LoD)	<i>Yersinia</i>	162/162	100	33,7	0,03	0,08	0,09	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,41	1,23	0,42	1,26	
4	Bassa pos. (1,5X LoD)	<i>Vibrio</i>	162/162	100	33,7	0,12	0,35	0,07	0,21	0,01	0,04	0,00	0,00	0,17	0,52	0,23	0,69	0,32	0,95
		STEC O157	162/162	100	32,4	0,02	0,08	0,04	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,34	0,28	0,87	0,31	0,95
		<i>Plesiomonas</i>	162/162	100	33,8	0,08	0,25	0,05	0,14	0,00	0,00	0,00	<0,01	0,03	0,25	0,73	0,26	0,78	
5	Moderata pos. (3X LoD)	<i>Vibrio</i>	162/162	100	32,7	0,07	0,21	0,12	0,37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,57	0,20	0,06	0,30	0,93
		STEC O157	162/162	100	31,3	0,02	0,08	0,06	0,20	0,00	0,00	0,03	0,10	0,00	0,21	0,68	0,22	0,72	
		<i>Plesiomonas</i>	162/162	100	33,1	0,05	0,17	<0,01	0,03	0,01	0,03	0,06	0,17	0,00	0,00	0,19	0,56	0,20	0,61

Ct = soglia di ciclo, CV = coefficiente di variazione, Mod = moderato, N = dimensione del campione, Pos = positivo, DS = deviazione standard.

^a Concordanza con il risultato atteso di positività del pannello.

Riproducibilità

La riproducibilità del test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay è stata valutata in 3 siti statunitensi utilizzando 1 elemento del pannello negativo e 4 elementi del pannello positivi per 1 o 3 target. I test sono stati eseguiti per 5 giorni da 6 operatori (2 per ogni sito) utilizzando 1 lotto di reagenti per il test. Ciascuna sessione analitica comprendeva 3 replicati di ciascun elemento del pannello.

Un elemento del pannello negativo è stato creato utilizzando una matrice composta da campioni biologici di fuci negativi per tutti i target del test conservati in terreni Cary-Blair trattati in STM. Gli elementi positivi del pannello sono stati creati aggiungendo concentrazioni 1,5 volte il LoD (debolmente positivo) o 3 volte il LoD (moderatamente positivo) degli analiti target nella matrice negativa.

La concordanza con i risultati attesi è stata del 100% per tutti gli elementi del pannello per *Yersinia*, *Vibrio*, STEC O157 e *Plesiomonas* (Tabella 9).

Tabella 9: Concordanza dei risultati del test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay con i risultati attesi

Concordanza con i risultati attesi			
Descrizione	Analita	N	% (IC al 95%)
Bassa pos ^a	Neg	Controllo interno	89/89 100 (95,9-100)
		<i>Yersinia</i> ^c	90/90 100 (95,9-100)
		<i>Vibrio</i> ^c	90/90 100 (95,9-100)
		STEC O157 ^c	90/90 100 (95,9-100)
Mod pos ^b		<i>Plesiomonas</i> ^c	90/90 100 (95,9-100)
		<i>Yersinia</i> ^{c d}	90/90 100 (95,9-100)
		<i>Vibrio</i> ^c	90/90 100 (95,9-100)
		STEC O157 ^c	90/90 100 (95,9-100)
		<i>Plesiomonas</i> ^c	90/90 100 (95,9-100)

IC = intervallo di confidenza del punteggio, Mod = moderato, N = dimensione del campione, Neg = negativo, Pos = positivo.

^a Bassa pos. = Tutti i bersagli sono 1,5 volte il LoD.

^b Mod pos = Tutti i bersagli sono 3 volte il LoD.

^c *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio parahaemolyticus*, STEC O157 e *Plesiomonas shigelloides* sono stati utilizzati per realizzare i pannelli positivi.

^d Un (1) risultato falso positivo *Vibrio* è stato ottenuto per un elemento moderatamente positivo del pannello *Yersinia*.

La variabilità del segnale è stata misurata come %CV dei valori Ct. La variabilità totale del segnale era ≤1,61% (DS ≤0,55) per tutti gli elementi del pannello (Tabella 10). Per le fonti di variazione, ad eccezione del fattore "all'interno di una sessione", i valori %CV erano ≤1,03% per tutti gli elementi del pannello. La variabilità del segnale è stata ≤1,01% (DS ≤0,33) per i controlli positivi del test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay (Tabella 11).

Tabella 10: Variabilità del segnale del test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay in base a target e concentrazione

Descrizione	Analita	N	Tra siti diversi		Tra operatori/sessioni analitiche diverse ^c		Tra giorni diversi		Nella stessa sessione analitica		Totale		
			Ct media	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
Bassa pos ^a	<i>Yersinia</i>	90	34,7	0,17	0,50	0,21	0,61	0,09	0,27	0,44	1,25	0,52	1,51
	<i>Vibrio</i>	90	33,7	0,16	0,49	0,08	0,25	0,00	0,00	0,26	0,77	0,32	0,95
	STEC O157	90	32,4	0,17	0,53	0,13	0,41	0,00	0,00	0,30	0,92	0,37	1,14
	<i>Plesiomonas</i>	90	33,9	0,16	0,47	0,06	0,17	0,00	0,00	0,32	0,94	0,36	1,06
Mod pos ^b	<i>Yersinia</i>	90	33,8	0,35	1,03	0,19	0,58	0,07	0,21	0,37	1,08	0,55	1,61
	<i>Vibrio</i>	90	32,7	0,20	0,60	0,09	0,26	0,11	0,35	0,22	0,68	0,33	1,01
	STEC O157	90	31,4	0,24	0,75	0,08	0,27	0,07	0,21	0,26	0,81	0,36	1,16
	<i>Plesiomonas</i>	90	33,2	0,22	0,67	0,12	0,37	0,00	0,00	0,26	0,78	0,36	1,09

Ct = soglia di ciclo, CV = coefficiente di variazione, Mod = moderato, N = dimensione del campione, Pos = positivo, DS = deviazione standard.

Nota: l'analisi è stata eseguita con la procedura SAS MIXED, che applica per impostazione predefinita un limite inferiore di 0 a tutte le componenti della varianza nel modello. Se una componente della varianza è pari a 0, la DS e la %CV vengono visualizzate come 0,00

^a Bassa pos. = Tutti i bersagli sono 1,5 volte il LoD.

^b Mod pos = Tutti i bersagli sono 3 volte il LoD.

^c Tra operatori diversi può essere confuso con Tra sessioni analitiche diverse; pertanto, Tra operatori diversi e Tra sessioni analitiche diverse sono combinati in Tra operatori/sessioni analitiche diverse.

Tabella 11: Variabilità del segnale dei controlli positivi del test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay

Controllo	Analita	N	Tra siti diversi		Tra operatori diversi		Tra giorni diversi		Nella stessa giorni diversi		Totale		
			Ct media	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
Pos	<i>Yersinia</i>	30	32,7	0,22	0,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25	0,75	0,33	1,01
	<i>Vibrio</i>	30	33,4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29	0,86	0,29	0,86
	STEC O157	30	31,5	0,11	0,35	0,00	0,00	0,07	0,23	0,26	0,83	0,29	0,93
	<i>Plesiomonas</i>	30	32,9	0,05	0,16	0,08	0,23	0,12	0,37	0,24	0,74	0,29	0,87

Ct = soglia di ciclo, CV = coefficiente di variazione, N = dimensione del campione, Pos = positivo, DS = deviazione standard.

Nota: l'analisi è stata eseguita con la procedura SAS MIXED, che applica per impostazione predefinita un limite inferiore di 0 a tutte le componenti della varianza nel modello. Se una componente della varianza è pari a 0, la DS e la %CV vengono visualizzate come 0,00.

Prestazioni cliniche

È stato condotto uno studio multicentrico che ha utilizzato campioni biologici di fuci residue in terreno di conservazione Cary-Blair raccolti nell'ambito delle cure di routine in 10 cliniche statunitensi da pazienti pediatrici o adulti con sospetta gastroenterite acuta. Tutti i campioni biologici sono stati analizzati con Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay e con test di confronto: una PCR più sequenziamento bidirezionale (eseguito in duplicato) per STEC O157 e un test di amplificazione degli acidi nucleici (NAAT) approvato dalla FDA per tutti gli altri target. Per i test di risoluzione discordante è stato utilizzato un NAAT alternativo approvato dalla FDA, se applicabile. Sono state calcolate le percentuali di concordanza positiva (PPA) e negativa (NPA), con i corrispondenti punteggi IC bilaterale al 95%, rispetto ai risultati del test di confronto, per target e per categoria di campioni biologici.

Nello studio sono stati arruolati in totale 1.548 campioni biologici prospettici e 251 campioni biologici retrospettivi; 94 campioni biologici sono stati esclusi dalle analisi di performance (per esempio, individui duplicati, risultati di Panther Fusion GI Expanded Bacterial o del test di confronto non validi per tutti i target). Sono stati valutati altri 189 campioni artificiali per integrare i dati prospettici e retrospettivi relativi a tutti i target. Dei 1.919 campioni biologici analizzati in esecuzioni valide del test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay, 36 (1,9%) hanno avuto risultati iniziali non validi. Al momento della ripetizione del test, 25 dei 36 campioni biologici hanno dato risultati validi, per un totale di 11 (0,6%) campioni con risultati finali non validi. Il set di dati finale era composto da 1.894 campioni valutabili; non tutti erano valutabili per tutti gli analiti. Le informazioni demografiche relative ai 1.705 campioni valutabili, prospettici e retrospettivi, sono riportate in Tabella 12.

Tabella 12: Riepilogo dei dati demografici dei soggetti

		N totale (%)	N prospettico (%)	N retrospettivo (%)
Totale campioni biologici		1.705	1.523	182
Genere	Femmina	888 (52,1)	793 (52,1)	95 (52,2)
	Maschio	817 (47,9)	730 (47,9)	87 (47,8)
da 0 a 28 giorni		7 (0,4)	7 (0,5)	0 (0)
da 29 giorni a <2 anni		74 (4,3)	67 (4,4)	7 (3,8)
da 2 a 5 anni		55 (3,2)	50 (3,3)	5 (2,7)
Gruppo di età	da 6 a 11 anni	68 (4,0)	66 (4,3)	2 (1,1)
	da 12 a 17 anni	73 (4,3)	71 (4,7)	2 (1,1)
	da 18 a 21 anni	47 (2,8)	44 (2,9)	3 (1,6)
	da 22 a 64 anni	825 (48,4)	724 (47,5)	101 (55,5)
	≥65 anni	556 (32,6)	494 (32,4)	62 (34,1)

N = dimensione della popolazione.

Le caratteristiche delle prestazioni per il rilevamento di *Yersinia*, *Vibrio*, STEC O157 e *Plesiomonas* sono riportate da Tabella 13 a Tabella 16.

Tabella 13: Prestazioni cliniche - *Yersinia spp.*

Origine del campione biologico	N	VP	FP	VN	FN	Prevalenza ^a (%)	PPA % (IC al 95%) ^b	NPA % (IC al 95%) ^b
Prospettico (fresco)	1.507	10	9 ^c	1.487	1 ^d	0,7	90,9 (62,3; 98,4)	99,4 (98,9; 99,7)
Retrospettivo (congelato)	182	15	3 ^e	164	0	N/D ^f	100 (79,6; 100)	98,2 (94,9; 99,4)
Artificiale (congelato)	189	63	0	126	0	N/D ^f	100 (94,3; 100)	100 (97,0; 100)

IC = intervallo di confidenza, FN = falso negativo, FP = falso positivo, N = dimensione del campione, NPA = percentuale di concordanza negativa, PPA = percentuale di concordanza positiva, VN = vero negativo, VP = vero positivo.

^a Prevalenza dello studio riportata in base ai test di confronto.

^b IC del punteggio.

^c 6 dei 9 campioni biologici prospettici falsi positivi discordanti sono risultati positivi per *Yersinia* con il NAAT alternativo.

^d Il campione biologico prospettico falso negativo discordante è risultato negativo per *Yersinia* con il NAAT alternativo.

^e I 3 campioni biologici retrospettivi falsi positivi discordanti sono risultati positivi per *Yersinia* con il NAAT alternativo.

^f Il calcolo della prevalenza non è applicabile.

Tabella 14: Prestazioni cliniche - *Vibrio spp.*

Origine del campione biologico	N	VP	FP	VN	FN	Prevalenza ^a (%)	PPA % (IC al 95%) ^b	NPA % (IC al 95%) ^b
Prospettico (fresco)	1.507	1	0	1.505	1 ^c	0,1	50,0 (9,5; 90,5)	100 (99,7; 100)
Retrospettivo (congelato)	182	9	6 ^d	167	0	N/D ^f	100 (70,1; 100)	96,5 (92,6; 98,4)
Artificiale (congelato)	189	63	1 ^e	125	0	N/D ^f	100 (94,3; 100)	99,2 (95,6; 99,9)

IC = intervallo di confidenza, FN = falso negativo, FP = falso positivo, N = dimensione del campione, NPA = percentuale di concordanza negativa, PPA = percentuale di concordanza positiva, VN = vero negativo, VP = vero positivo.

^a Prevalenza dello studio riportata in base ai test di confronto.

^b IC del punteggio.

^c Il campione biologico prospettico falso negativo discordante è risultato positivo per *Vibrio* con il NAAT alternativo.

^d Tutti i 6 campioni biologici retrospettivi falsi positivi discordanti sono risultati positivi per *Vibrio* con il NAAT alternativo.

^e Il campione biologico artificiale falso positivo discordante è risultato negativo per *Vibrio* con il NAAT alternativo.

^f Il calcolo della prevalenza non è applicabile.

Tabella 15: Prestazioni cliniche - STEC O157

Origine del campione biologico	N	VP	FP	VN	FN	Prevalenza ^a (%)	PPA % (IC al 95%) ^b	NPA % (IC al 95%) ^b
Prospettico (fresco)	1.522	1	2 ^c	1.519	0	0,1	100 (20,7; 100)	99,9 (99,5; 100)
Retrospettivo (congelato)	182	3	1 ^d	178	0	N/D ^g	100 (43,9; 100)	99,4 (96,9; 99,9)
Artificiale (congelato)	189	62	1 ^e	125	1 ^f	N/D ^g	98,4 (91,5; 99,7)	99,2 (95,6; 99,9)

IC = intervallo di confidenza, FN = falso negativo, FP = falso positivo, N = dimensione del campione, NPA = percentuale di concordanza negativa, PPA = percentuale di concordanza positiva, VN = vero negativo, VP = vero positivo.

^a Prevalenza dello studio riportata in base ai test di confronto.

^b IC del punteggio.

^c 1 dei 2 campioni biologici prospettici falsi positivi discordanti è risultato negativo per STEC O157 con il NAAT alternativo. L'altro discordante è risultato positivo per O157 ma negativo per stx1/stx2 con il NAAT alternativo.

^d Il campione biologico retrospettivo falso positivo discordante è risultato positivo per STEC O157 con il NAAT alternativo.

^e Il campione artificiale falso positivo discordante è risultato negativo per STEC O157 con il NAAT alternativo.

^f Il campione artificiale falso negativo discordante non è stato ritestato con il NAAT alternativo.

^g Il calcolo della prevalenza non è applicabile.

Tabella 16: Prestazioni cliniche - *Plesiomonas*

Origine del campione biologico	N	VP	FP	VN	FN	Prevalenza ^a (%)	PPA % (IC al 95%) ^b	NPA % (IC al 95%) ^b
Prospettico (fresco)	1.507	1	1 ^c	1.505	0	0,1	100 (20,7; 100)	99,9 (99,6; 100)
Retrospettivo (congelato)	182	8	1 ^d	173	0	N/D ^f	100 (67,6; 100)	99,4 (96,8; 99,9)
Artificiale (congelato)	189	62	0	126	1 ^e	N/D ^f	98,4 (91,5; 99,7)	100 (97,0; 100)

IC = intervallo di confidenza, FN = falso negativo, FP = falso positivo, N = dimensione del campione, NPA = percentuale di concordanza negativa, PPA = percentuale di concordanza positiva, VN = vero negativo, VP = vero positivo.

^a Prevalenza dello studio riportata in base ai test di confronto.

^b IC del punteggio.

^c Il campione biologico prospettico falso positivo discordante è risultato positivo per *Plesiomonas* con il NAAT alternativo.

^d Il campione biologico retrospettivo falso positivo discordante è risultato positivo per *Plesiomonas* con il NAAT alternativo.

^e Il campione artificiale falso negativo discordante non è stato ritestato con il NAAT alternativo.

^f Il calcolo della prevalenza non è applicabile.

Nessuna coinfezione è stata rilevata dal test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay o dai metodi di confronto nei campioni biologici prospettici e retrospettivi.

Bibliografia

1. WHO's first ever global estimates of foodborne diseases find children under 5 account for almost one third of deaths. Pubblicato il 3 dicembre 2015. Consultato il 27 maggio 2025. <https://www.who.int/news-room/detail/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths>
2. Centers for Disease Control and Prevention. Data di pubblicazione sconosciuta. Burden of foodborne illness: Overview. U.S. Department of Health & Human Services. Recuperato il 27 maggio 2025 da https://archive.cdc.gov/www_cdc_gov/foodborneburden/estimates-overview.html
3. Riddle MS, DuPont HL, Connor BA. ACG Clinical Guideline: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Acute Diarrheal Infections in Adults. Am J Gastroenterol. 2016;111(5):602–622. doi:10.1038/ajg.2016.141
4. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. Emerg Infect Dis. 2011;17(1):7–15. doi:10.3201/eid1701.P11101
5. Ong KL, Gould LH, Chen DL, Jones TF, Scheftel J, Webb TH, Mody RK, Mahon BE. Changing epidemiology of *Yersinia enterocolitica* infections: markedly decreased rates in young black children, Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet), 1996–2009. Clin Infect Dis. 2012 Jun;54 Suppl 5(0 5):S385–90. doi: 10.1093/cid/cis053.
6. Centers for Disease Control and Prevention. About *Vibrio* Infection. CDC. Aggiornato al 14 maggio 2024. Consultato il 2 giugno 2025. <https://www.cdc.gov/vibrio/about/index.html>
7. Armed Forces Health Surveillance Division. *Escherichia coli*, Shiga Toxin-Producing (STEC) Reference Sheet. U.S. Department of Defense; 2022. Consultato il 30 maggio 2025. <https://ph.health.mil/cdt/cphe-cdt-e-coli-shiga-toxin-producing-ref.pdf>
8. Morris JG Jr, Horneman A. *Plesiomonas shigelloides* infections. UpToDate. Calderwood SB, Baron EL, eds. Aggiornato al 13 dicembre 2023. Consultato il 30 maggio 2025. <https://www.uptodate.com/contents/plesiomonas-shigelloides-infections/print>

Recapiti



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



Hologic BV
Da Vinci laan 5
1930 Zaventem
Belgium

Sponsor austaliano
Hologic (Australia & New
Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Per l'indirizzo e-mail e il numero di telefono dell'Assistenza tecnica e del servizio di assistenza clienti specifici del paese, visitare il sito web www.hologic.com/support.

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

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

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

©2025 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-34378-701 Rev. 001
2025-10

Cronologia delle revisioni	Data	Descrizione
AW-34378-701 Rev. 001	Ottobre 2025	• Versione iniziale.