

GI Bacterial Assay (Panther Fusion™ System)

Istruzioni per l'uso

Solo per uso diagnostico in vitro

Solo per l'esportazione dagli USA

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 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	22
Specificità analitica: Reattività crociata e interferenza microbica - Test a umido	23
Coinfezione/interferenza competitiva	25
Interferenza	26
Contaminazione da contaminazione crociata	28
Precisione/ripetibilità all'interno del laboratorio	28
Riproducibilità	29
Prestazioni cliniche	32
Bibliografia	35
Recapiti	36

Informazioni generali

Uso previsto

Panther Fusion™ GI Bacterial Assay è un test PCR multiplex real-time diagnostico *in vitro* per il rilevamento rapido e qualitativo e la differenziazione degli acidi nucleici di *Salmonella*, *Shigella/Escherichia coli* enteroinvasivo (EIEC), *Campylobacter* (*C. coli*, *C. jejuni*) e dei geni di Shiga tossine 1 e 2 (indifferenziate) di *Escherichia coli* produttore di Shiga tossine. 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 *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella/E. coli* enteroinvasivo (EIEC) ed *Escherichia coli* produttore di Shiga tossina (STEC). 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 *Salmonella* causi ogni anno circa 1,35 milioni di casi di malattia, 26.500 ricoveri ospedalieri e 420 decessi negli Stati Uniti. Il cibo è all'origine della maggior parte di queste malattie.⁴

Si stima che la *Shigella* causi quasi mezzo milione di casi di malattia ogni anno negli Stati Uniti, il che la rende la terza malattia batterica enterica più comune. La shigellosi non è associata a una specifica stagionalità, il che è probabilmente il risultato dell'importanza della trasmissione da persona a persona nella diffusione di questa infezione.⁵

Campylobacter è causa di circa 1,5 milioni di casi di malattia ogni anno negli Stati Uniti. È una delle cause più comuni di malattia diarroica negli Stati Uniti. La sorveglianza attiva indica che ogni anno vengono diagnosticati circa 20 casi ogni 100.000 persone. Molti altri casi non vengono diagnosticati o segnalati. La maggior parte dei casi non fa parte di epidemie riconosciute e si verificano più casi in estate che in inverno.⁶⁻⁷

Si stima che ogni anno negli Stati Uniti si verifichino 265.000 infezioni da STEC, di cui circa il 36% è causato da STEC O157.⁸ 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.

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 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>Salmonella</i>	<i>InvA</i> (antigene invasivo A)	FAM
<i>Campylobacter</i>	<i>glyA</i> (serina idrossimetiltransferasi)/ <i>cadF</i> (proteina legante la fibronectina della membrana esterna)	HEX
<i>Shigella</i> /EIEC	<i>ipaH</i> (antigene plasmidico di invasione H)	ROX
STEC	<i>stx1</i> (Shiga tossina 1)/ <i>stx2</i> (Shiga tossina 2)	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 Bacterial Assay, fare riferimento al Basic Unique Device Identifier (BUDI): 54200455DIAGPFGIBACUY.

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, disinfettare 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 microbica 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	
	Panther Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B) <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5-10%</i> 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 indossarli nuovamente. P405 - Conservare sotto chiave.
	Panther Fusion Capture Reagent B (FCR-B) <i>HEPES 15-20%</i> <i>Lauril solfato, sale di litio 10-15%</i> <i>Acido succinico 1-5%</i> <i>Iidrossido di litio, monoidrato 1-5%</i> — 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.

Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

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

Reagente	Conservazione a confezione chiusa	Stabilità a bordo/ a confezione aperta ^a	Conservazione a confezione aperta
Panther Fusion GI 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 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 cartuccia del test Panther Fusion GI Bacterial Assay, il FCR-B, il FER-B e l'IC-B. La stabilità a bordo per il Panther Fusion Reconstitution Buffer I, il Panther Fusion Elution Buffer, e il 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 essiccante 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 Bacterial Assay, questo termine include feci 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 feci conservati nei terreni di trasporto Cary-Blair.

Raccogliere le feci non trattate seguendo le procedure standard di raccolta e manipolazione delle feci. Trasferire i campioni biologici di feci 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 feci 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: *Il Campylobacter 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. I campioni biologici nella provetta Aptima Multitest possono essere conservati 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 Bacterial Assay

Confezioni del test

Componenti	Codice	Conservazione
Panther Fusion GI Bacterial Assay Cartridge, 96 test Cartuccia del test Panther Fusion GI Bacterial Assay, 12 test, 8 per confezione	PRD-07113	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 Bacterial Assay Controls Provetta del Panther Fusion GI Bacterial Positive Control, 5 per confezione Provetta del Panther Fusion Negative Control, 5 per confezione	PRD-07116	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.

Materiali	N. Cat.
Panther System	303.095
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	902.731
Coperchio del contenitore di rifiuti Panther	504.405
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, conduttivi e monouso: Non tutti i prodotti sono disponibili in tutte le aree geografiche. Contattare il rappresentante per informazioni specifiche sulla regione.	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128 MME-04110
Tappi penetrabili Aptima (facoltativi)	105.668
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

Materiali	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 ulteriori informazioni procedurali, consultare il *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System).

A. Preparazione dell'area di lavoro

1. 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

1. Rimuovere i flaconi di IC-B, FCR-B e FER-B dal luogo di conservazione.
2. Miscelare FCR-B agitando delicatamente fino alla completa risospensione delle microsfere. Evitare la formazione di schiuma durante questo passaggio.
3. 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.
4. Collocare i flaconi di IC-B, FCR-B e FER-B nelle posizioni appropriate sul carosello del TCR.
5. 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

1. 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.
2. Verificare l'aspetto del campione nella provetta Aptima Multitest.
 - a. Se il campione biologico è omogeneo, procedere con il test.
 - b. 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, ebh 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 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 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 i campioni positivi a *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*/EIEC, e/o STEC. 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. I risultati per *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*/EIEC e STEC 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

Risultato <i>Salmonella</i>	<i>Campy</i> Risultato	Risultato <i>Shigella</i> /EIEC	<i>Stx1/Stx2</i> Risultato	IC Risultato	Interpretazione
Neg	Neg	Neg	Neg	Valido	<i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Shigella</i> /EIEC e STEC non rilevati.
POS	Neg	Neg	Neg	Valido	<i>Salmonella</i> rilevato.
Neg	POS	Neg	Neg	Valido	<i>Campylobacter</i> rilevato.
Neg	Neg	POS	Neg	Valido	<i>Shigella</i> /EIEC rilevato.
Neg	Neg	Neg	POS	Valido	STEC rilevato.
POS	POS	Neg	Neg	Valido	<i>Salmonella</i> e <i>Campylobacter</i> rilevati.
POS	Neg	POS	Neg	Valido	<i>Salmonella</i> e <i>Shigella</i> /EIEC rilevati.
POS	Neg	Neg	POS	Valido	<i>Salmonella</i> e STEC rilevati.
Neg	POS	POS	Neg	Valido	<i>Campylobacter</i> e <i>Shigella</i> /EIEC rilevati.
Neg	POS	Neg	POS	Valido	<i>Campylobacter</i> e STEC rilevati.
Neg	Neg	POS	POS	Valido	<i>Shigella</i> /EIEC e STEC rilevati.
POS	POS	POS	Neg	Valido	<i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> e <i>Shigella</i> /EIEC rilevati. Le infezioni da 3 batteri sono rare. Rieseguire l'analisi per confermare il risultato.
POS	POS	Neg	POS	Valido	<i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> e STEC rilevati. Le infezioni da 3 batteri sono rare. Rieseguire l'analisi per confermare il risultato.
POS	Neg	POS	POS	Valido	<i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> /EIEC e STEC rilevati. Le infezioni da 3 batteri sono rare. Rieseguire l'analisi per confermare il risultato.
Neg	POS	POS	POS	Valido	<i>Campylobacter</i> , <i>Shigella</i> /EIEC e STEC rilevati. Le infezioni da 3 batteri sono rare. Rieseguire l'analisi per confermare il risultato.
POS	POS	POS	POS	Valido	<i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Shigella</i> /EIEC e STEC 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.

Limitazioni

- A. L'utilizzo di questo test va limitato al personale formato sulla relativa procedura. La mancata osservanza delle istruzioni fornite può determinare risultati erranei.
- 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 elaborazione dei campioni del saggio.
- E. Le prestazioni di questo test sono state convalidate solo con feci umane raccolte nel terreno di trasporto 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 Bacterial Assay è stata determinata testando diluizioni della matrice Cary-Blair Stool (CBS) negativa trattata addizionata con colture batteriche di *Salmonella* (2 ceppi), *Campylobacter* (2 ceppi), *Shigella*/EIEC (2 ceppi) e STEC (2 ceppi). Un minimo di 24 replicati è stato analizzato con 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 configurazioni di analita singolo e multiplo. La sensibilità analitica è definita come la concentrazione minore a cui $\geq 95\%$ 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>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> , serovar <i>Typhimurium</i> , I, 4,5,12:i:1,2	48	960
<i>Salmonella bongori</i> , 66:z41	109	2.180
<i>Campylobacter coli</i>	16	320
<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	25	500
<i>Shigella sonnei</i>	68	1.360
EIEC O29:NM	23	460
STEC O26:H11 (<i>stx1/stx2</i>)	106	2.120
STEC O157:H7 (<i>stx1/stx2</i>)	20	400

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/reattività del test Panther Fusion GI 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. Tabella 3 mostra la concentrazione più bassa di ogni ceppo alla quale è stato osservato il 100% di positività.

Tabella 3: Riepilogo dell'inclusività/reattività per gli analiti del test GI 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>Salmonella bongori</i>	43975 ^a	CIP 82,33 ^a	327	6.540
	13.076	Enteritidis, CDC K--1891	144	2.880
	14028 ^a	Typhimurium, CDC 6516--60 ^a	144	2.880
	15.791	Sloterdijk	144	2.880
	15.611	Vellore, V1796	144	2.880
	11.646	Illinois, CDC	144	2.880
	8.391	Thompson, 2988	144	2.880
	19.430	Typhi, NCTC 8385	144	2.880
	7.378	Panama, Hochberg 2460	144	2.880
	6.962	Newport, NCTC 129	144	2.880
	8.388	Muenchen, 54	144	2.880
	8.326	Heidelberg, 16	144	2.880
	9.712	Saintpaul, 127	144	2.880
	8.387	Montevideo, 623	144	2.880
	6.539	Typhi, AMC	144	2.880
	9.150	Paratyphi A	144	2.880
	10.719	Paratyphi B, AMC 41-H-6	144	2.880
	13.428	Paratyphi C, CDC 3310-52	144	2.880
	33.062	Typhimurium, LJ211	144	2.880
	13.311	Typhimurium, NCTC 74	144	2.880
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (I)	51.956	Hadar, CDC 347	144	2.880
	51.741	DUP-103	144	2.880
	10.721	Javiana, ETS 146	144	2.880
	9.239	Oranienburg, E1093	144	2.880
	51.955	Virchow, CDC 41	144	2.880
	51.957	Agona, CDC 873	144	2.880
	BAA-2739	Mississippi, CDC 2012K-0487	144	2.880
	13.312	Choleraesuis, NCTC 5735	144	2.880
	700.136	Braenderup, NCTC 5750	144	2.880
	15.480	Dublin, HWS 51	144	2.880
	CCUG 21280	Schwarzengrund	144	2.880

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

Organismo	ATCC# o fonte	Ceppo/Serovar/Sierotipo/ Proprietà antigeniche	Concentrazione del test (3 volte il LoD) (CFU/mL)	
			Provetta Aptima Multitest	Feci conservate
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>salamae</i> (II)	6.959	NCTC 2206	144	2.880
	Univ of Calgary 2425	argC95	144	2.880
	700.148	NCTC 10252	144	2.880
	43.972	CIP 82,29	144	2.880
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> (IIIa)	12.323	CDC 3153--55	144	2.880
	12.324	CDC 1089-53	144	2.880
	13.314	NCTC 8297	144	2.880
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb)	12.325	CDC	144	2.880
	29.226	CDC 656/75	144	2.880
	43.973	CIP 82,31	144	2.880
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>houtenae</i> (IV)	29.932	16:z4,z23: -	144	2.880
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>indica</i> (VI)	43.976	CIP 102501	144	2.880
	Univ of Calgary 2430	pyrE20	144	2.880
<i>Shigella dysenteriae</i> (A)	13.313	Tipo 1, NCTC 4837	204	4.080
	49.555	Tipo 13, CDC 8008-79	204	4.080
	29.028	Tipo 3, CDC 3596-74	204	4.080
	49.551	Tipo 12, CDC 2243-66	204	4.080
	11.835	AMC 43--A--1	204	4.080
	9.361	Tipo 1, AMC 43-A-14	204	4.080
	12.021	Tipo 8, CDC 2116-52	204	4.080
	12.037	Tipo 9, CDC A-58:1646	204	4.080
	49.547	Tipo 11, CDC 3883-66	204	4.080
<i>Shigella flexneri</i> (B)	29.903	Tipo 2a, 24570	204	4.080
	12.022	Tipo 2b, CDC 3591-52	204	4.080
	9.199	Tipo 1a, AMC 43-G-68	204	4.080
	33.948	612-003	204	4.080
	11.836	Tipo 3, AMC 43-G-100	204	4.080
	12.023	Tipo 4a, CDC 5380-52	204	4.080
	12.025	Tipo 6, CDC 64	204	4.080
	700.930	Tipo 2a, 2457T	204	4.080

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

Organismo	ATCC# o fonte	Ceppo/Serovar/Sierotipo/ Proprietà antigeniche	Concentrazione del test (3 volte il LoD) (CFU/mL)	
			Provetta Aptima Multitest	Feci conservate
<i>Shigella boydii</i> (C)	8.700	Tipo 2, NCTC 12985	204	4.080
	29.928	Tipo 10, C-10	204	4.080
	9.207	Tipo 1, AMC 43-G-58	204	4.080
	BAA-1247	Tipo 20, SH-108	204	4.080
	12.030	Tipo 10, CDC 6336-52	204	4.080
	12.028	Tipo 8	204	4.080
	12.031	Tipo 11, CDC 1624-54	204	4.080
	9.905	Tipo 7, AMC 4006	204	4.080
<i>Shigella sonnei</i> (D)	9.290	AMC 43-GG9	204	4.080
	29930 ^a	WRAIR I virulento ^a	204	4.080
	11.060	4.628	204	4.080
	29.031	CDC 45-75	204	4.080
	25.931	NCDC 1120-66	204	4.080
<i>E. coli</i> enteroinvasivo (EIEC)	43.893	Tipo O124:NM, CDC EDL 1284	69	1.380
	BAA-2190	Tipo O121, 98-3306	69	1.380
	49.105	Tipo O15, 1/1/7482	69	1.380
	12.806	Tipo O124:K72 (B17):H, CDC	69	1.380
	43892 ^a	Tipo O29:NM, CDC EDL 1282 ^a	69	1.380
<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	33.560	CIP 702	75	1.500
	43.432	Tipo O:4, MK7	75	1.500
	35.920	BG 22	75	1.500
	43.459	Tipo O:40, MPD570102	75	1.500
	29.428	VPI H840	75	1.500
	33.252	C3692	75	1.500
	33291 ^a	AS-83-79 ^a	75	1.500
	700.819	NCTC 11168	75	1.500
	BAA-1062	RM 1221	75	1.500
	BAA-1234	RM3193	75	1.500
	33.292	AS-84-79	75	1.500
	35.918	BG 177	75	1.500
	43.434	Tipo O:6, C6	75	1.500
	43.435	Tipo O:7, DPH-1	75	1.500
	43.449	Tipo O:23, MK 198	75	1.500
	43.503	UA466	75	1.500
	43.472	Tipo O:5, CFJ29	75	1.500
	43.430	Tipo O:2, CJC-25	75	1.500

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

Organismo	ATCC# o fonte	Ceppo/Serovar/Sierotipo/ Proprietà antigeniche	Concentrazione del test (3 volte il LoD) (CFU/mL)	
			Provetta Aptima Multitest	Feci conservate
<i>Campylobacter coli</i>	33.559	CIP 7080 ^a	48	960
	43.488	Tipo O:56, RO 268	48	960
	43.485	Tipo O:49, A1618	48	960
	43.483	Tipo O:47, Ca 72	48	960
	43.484	Tipo O:48, Ca 77	48	960
	43.133	BG716	48	960
	43.136	BG193	48	960
	43.481	Tipo O:39, 80-102	48	960
	43.482	Tipo O:46, VanH13	48	960
	49.941	LRA 069.05.89	48	960
	BAA-372	D5708	48	960
	43.135	BG192	48	960
	43.478	Tipo O:28, 76-GA2	48	960
	BAA-1061	RM 2228	48	960
<i>E. coli</i> produttore di Shiga tossina (O157)	700.377	O157:NM (<i>stx2</i>), CDC 92-3099	60	1.200
	700.927	O157:H7:K- (<i>stx1/stx2</i>), EDL 933	60	1.200
	35150 ^a	O157:H7 (<i>stx1/stx2</i>), EDL 931	60	1.200
	43.894	O157:H7 (<i>stx1/stx2</i>), CDC EDL 932	60	1.200
	700.378	O157:NM (<i>stx1/stx2</i>), CDC 92-3073	60	1.200
	43.890	O157:H7 (<i>stx1</i>) CDC C984	60	1.200
	43.895	O157:H7 (<i>stx1/stx2</i>), CDC EDL 933	60	1.200

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

Organismo	ATCC# o fonte	Ceppo/Serovar/Sierotipo/ Proprietà antigeniche	Concentrazione del test (3 volte il LoD) (CFU/mL)	
			Provetta Aptima Multitest	Feci conservate
<i>E. coli</i> produttore di Shiga tossina (non O157)	51.435	O91:H21 (<i>stx2</i>), B2F1	318	6.360
	700.840	O111:H8 (<i>stx1/stx2</i>), B99BE001161	318	6.360
	51.434	O91:H21 (<i>stx2</i>), H414-36/89	318	6.360
	BAA-181	O111:H8 (<i>stx1/stx2</i>), CDC 1999-3249	318	6.360
	BAA-180	O111:H8 (<i>stx1</i>), CDC 1999-3302	318	6.360
	BAA-176	O113:H21 (<i>stx2</i>), CDC 2001-3004	318	6.360
	BAA-177	O113:H21 (<i>stx1/stx2</i>), CDC 2000-3159	318	6.360
	BAA-182	O104:H21 (<i>stx2</i>), CDC 1994-3023	318	6.360
	BAA-1653 ^a	O26:H11 (<i>stx1/stx2</i>), EH1534 ^a	318	6.360
	BAA-2193	O45:H2 (<i>stx1</i>), 2000-3039	318	6.360
	BAA-2210	O103:H2 (<i>stx1</i>), 2003-3112	318	6.360
	BAA-2211	O145:H25 (<i>stx2</i>), 2003-3375	318	6.360
	BAA-2219	O121:H19 (<i>stx2</i>), 2002-3211	318	6.360
	BAA-2222	O145:Nonmotile (<i>stx1/stx2</i>), 2006-3142	318	6.360
	BAA-2326	O104:H4 (<i>stx2</i>), TY-2482	318	6.360
	BAA-2196	O26:H11 (<i>stx1/stx2</i>), 2003-3014	318	6.360
	BAA-2215	O103:H11 (<i>stx1</i>), 2006-3008	318	6.360
	BAA-2213	O103:H25 (<i>stx1</i>), 2005-3546	318	6.360
	BAA-178	O104:H21(<i>stx2</i>), CDC 1994-3024	318	6.360
	BAA-184	O111:H8 (<i>stx1</i>), CDC 2000-3025	318	6.360
	BAA-2217	O146 (<i>stx2</i>), 10C-3114	318	6.360
	BAA-179	O111:H8 (<i>stx1/stx2</i>), CDC 1997-3215	318	6.360
	BAA-2129	O145:H28 (<i>stx2</i>), TW07865	318	6.360
	BAA-1652	O145:H48 (<i>stx2</i>), EH1533	318	6.360
	BAA-2192	O145:Nonmotile (<i>stx1/stx2</i>), 99-3311	318	6.360

CFU = unità formanti colonie.

^a Ceppi utilizzati per stabilire il LoD.

Analisi di inclusività/reattività *in silico*

L'inclusività del test Panther Fusion GI 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 Bacterial Assay sia in grado di rilevare il 100% di 121 sequenze valutate di *Salmonella bongori*, il 99,03% di 2.365 sequenze valutate di *Salmonella enterica*, il 96,43% di 392 sequenze valutate di *Campylobacter jejuni* il 99,09% di 1.104 sequenze valutate di *Campylobacter coli*, il 100% di 1.080 sequenze valutate di *Shigella sonnei*, il 100% di 1.164 sequenze valutate di *Shigella flexneri*, il 100% di 192 sequenze valutate di *Shigella dysenteriae*, il 100% di 364 sequenze valutate di *Shigella boydii*, il 98,71% di 387 sequenze valutate di STEC che esprimono *stx1* e il 97,35% di 1.019 sequenze valutate di STEC che esprimono *stx2*.

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 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 100 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 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. Non è stata osservata alcuna reattività crociata o interferenza microbica con nessuno dei 100 organismi testati nel test Panther Fusion GI 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>Cronobacter sakazakii</i>	10^6 CFU/mL
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	10^6 CFU/mL	<i>Edwardsiella tarda</i>	10^6 CFU/mL
<i>Streptococcus pyogenes</i>	10^6 CFU/mL	<i>Eggerthella lenta</i>	10^6 copie di rRNA/mL
<i>Trabulsiella guamensis</i>	10^6 CFU/mL	<i>Enterococcus faecalis</i>	10^6 CFU/mL
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	10^6 copie di rRNA/mL	<i>Enterobacter aerogenes</i>	10^6 CFU/mL
<i>Escherichia coli</i> (non produttore di Shiga tossina)	10^6 CFU/mL	<i>Enterobacter cloacae</i>	10^6 CFU/mL
<i>Escherichia coli</i> (non produttore di Shiga tossina O157)	10^6 CFU/mL	<i>Escherichia fergusonii</i>	10^6 CFU/mL
<i>Giardia lamblia</i> BG-A ^a	10^6 copie/mL	<i>Escherichia hermanii</i>	10^6 CFU/mL
<i>Cyclospora</i> ^a	10^6 copie/mL	<i>Escherichia vulneris</i>	10^6 CFU/mL
<i>Cryptosporidium</i> ^a	10^6 copie/mL	<i>Gardnerella vaginalis</i>	10^6 CFU/mL
<i>Norovirus</i> (Noro GI) ^a	10^5 copie/mL	<i>Helicobacter pylori</i>	10^6 CFU/mL
<i>Astrovirus</i> ^a	10^5 copie/mL	<i>Klebsiella oxytoca</i>	10^6 CFU/mL
<i>Sapovirus</i> (GI) ^a	10^5 copie/mL	<i>Klebsiella ozaenae</i>	10^6 CFU/mL
<i>Enterovirus</i> (Ent V) ^a	10^5 copie/mL	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10^6 CFU/mL
<i>Rhinovirus</i> ^a	10^5 copie/mL	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	10^6 CFU/mL
<i>Coronavirus 229E</i>	10^5 TCID ₅₀ /mL	<i>Lactobacillus crispatus</i>	10^6 CFU/mL
<i>Coxsackievirus</i> Type B4	10^5 TCID ₅₀ /mL	<i>Lactococcus lactis</i>	10^6 CFU/mL
<i>Adenovirus</i> Type 7A	10^5 TCID ₅₀ /mL	<i>Listeria grayi</i>	10^6 CFU/mL
<i>Rotavirus</i> ^a	10^5 copie/mL	<i>Listeria monocytogenes</i>	10^6 CFU/mL

Microrganismo	Concentrazione del test	Microrganismo	Concentrazione del test
<i>Anaerococcus tetradius</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Morganella morganii</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Yersinia enterocolitica</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Vibrio parahaemolyticus</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 damsela</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Acinetobacter baumannii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Prevotella bivia</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Aeromonas hydrophila</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Prevotella melaninogenica</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Alcaligenes faecalis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Proteus mirabilis</i>	10 ⁶ copie di rRNA/mL
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Proteus penneri</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Anaerococcus vaginalis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Proteus vulgaris</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Arcobacter butzleri</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Providencia alcalifaciens</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bacillus cereus</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Providencia rettgeri</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bacteroides fragilis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Providencia stuartii</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bacteroides vulgatus</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Serratia liquefaciens</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bifidobacterium longum</i>	10 ⁶ copie di rRNA/mL	<i>Serratia marcescens</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter fetus</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter rectus</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter sputorum</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Streptococcus anginosus</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Candida albicans</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Citrobacter freundii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Yersinia bercovieri</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Citrobacter koseri</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Clostridium difficile</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Yersinia rohdei</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Clostridium perfringens</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Campylobacter lari</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Clostridium ramosum</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Entamoeba histolytica</i>	10 ⁴ cellule/mL
<i>Clostridium sordellii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Megasphaera elsdenii</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Clostridium tertium</i> ^b	10 ⁶ CFU/mL	<i>Chlamydia trachomatis</i>	10 ⁵ IFU/mL
<i>Collinsella aerofaciens</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Leptotrichia buccalis</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Corynebacterium genitalium</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Cytomegalovirus</i>	10 ⁵ TCID ₅₀ /mL

CFU = unità formanti colonie, IFU = unità formanti inclusioni, copie di rRNA = copie di acido ribosomale ribonucleico,

TCID₅₀ = dose infettiva delle colture tissutali mediana.

^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 Nel test di interferenza è stata osservata una positività del 100% per *Salmonella*, *Shigella* e STEC a 10⁶ CFU/mL e il 100% di positività è stato riscontrato per *Campylobacter* a ≤10⁴ CFU/mL.

Coinfezione/interferenza competitiva

L'interferenza competitiva nel test Panther Fusion GI 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 10^6 CFU/mL. Inoltre, gli analiti sono stati testati anche in assenza di un secondo analita. 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 mostra un riepilogo dei risultati osservati nei test di interferenza competitiva.

Tabella 5: Riepilogo dei risultati della coinfezione

Analita 1		Analita 2		Salmonella % pos	Campylobacter % pos	Shigella % pos	STEC % pos
Nome	3X LoD (CFU/mL) ^a	Nome	Conc elevata (CFU/mL) ^a				
Negativo	N/D	Negativo	N/D	0%	0%	0%	0%
Salmonella	327	Nessuna	0	100%	0%	0%	0%
		Campylobacter	10^6	100%	100%	0%	0%
		Shigella	10^6	100%	0%	100%	0%
		STEC	10^6	100%	0%	0%	100%
Campylobacter	75	Nessuna	0	0%	100%	0%	0%
		Salmonella	10^6	100%	100%	0%	0%
		Shigella	10^6	0%	100%	100%	0%
		STEC	10^6	0%	100%	0%	100%
Shigella	204	Nessuna	0	0%	0%	100%	0%
		Salmonella	10^6	100%	0%	100%	0%
		Campylobacter	10^6	0%	100%	100%	0%
		STEC	10^6	0%	0%	100%	100%
STEC	318	Nessuna	0	0%	0%	0%	100%
		Salmonella	10^6	100%	0%	0%	100%
		Campylobacter	10^6	0%	100%	0%	100%
		Shigella	10^6	0%	0%	100%	100%
Nessuna	0	Salmonella	10^6	100%	0%	0%	0%
		Campylobacter	10^6	0%	100%	0%	0%
		Shigella	10^6	0%	0%	100%	0%
		STEC	10^6	0%	0%	0%	100%

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

^a Concentrazione dell'analita nella provetta Aptima Multitest.

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 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 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 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 ammorbidenti 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
Antidiarroico	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

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

Tipo di sostanza	Nome generico	Ingredienti attivi	Concentrazione del test ^{a b c}
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
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 feci preparati in diversi terreni di conservazione sono stati valutati per il potenziale impatto sulle prestazioni del test Panther Fusion GI Bacterial Assay. I conservanti 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 Panther Fusion GI Bacterial Assay a 3 volte il LoD. Con tutti i terreni Cary-Blair sono state riscontrate prestazioni comparabili. Un'interferenza analoga è stata osservata quando i campioni biologici sono stati trattati in terreni contenenti fissativi.

Tabella 7: Supporti per la conservazione delle feci 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 feci 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

Il tasso di contaminazione da contaminazione crociata del test è stato valutato utilizzando una progettazione a scacchiera con pannelli negativi e positivi costituiti dalla matrice CBS negativa processata. Un totale di 270 campioni negativi intervallati da 270 campioni positivi (arricchiti con *Salmonella* a 10⁶ CFU/mL o 9.714 volte il LoD) sono stati analizzati in 5 prove su 2 strumenti Panther Fusion. Il test Panther Fusion GI Bacterial Assay ha dimostrato un tasso di contaminazione crociata dello 0%.

Precisione/ripetibilità all'interno del laboratorio

La precisione del test Panther Fusion GI Bacterial Assay all'interno del laboratorio è stata valutata con un pannello di 3 elementi composto da analiti del test in matrice CBS negativa trattata. Il pannello di 3 elementi comprendeva 1 analita negativo e 2 multipli (con *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella* e STEC). 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 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	Bassa pos. (1,5X LoD)	<i>Salmonella</i>	162/162	100	36,0	0,12	0,33	0,00	0,00	0,07	0,19	0,18	0,50	0,22	0,61	0,51	1,41	0,60	1,66
		<i>Campylobacter</i>	162/162	100	35,1	0,06	0,17	0,04	0,11	0,04	0,12	0,03	0,08	0,19	0,55	0,31	0,87	0,37	1,06
		<i>Shigella</i>	162/162	100	36,4	0,00	0,00	0,23	0,62	0,00	0,00	0,09	0,24	0,00	0,00	0,47	1,29	0,53	1,45
		STEC	162/162	100	34,3	0,07	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,11	0,05	0,13	0,35	1,02	0,36	1,05
2	Negativo	Negativo (Controllo interno)	162/162	100	28,0	0,04	0,15	0,33	1,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,52	0,11	0,39	0,38	1,34
3	Moderata pos. (3X LoD)	<i>Salmonella</i>	162/162	100	35,1	0,22	0,62	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,16	0,26	0,74	0,39	1,11	0,52	1,48
		<i>Campylobacter</i>	162/162	100	34,3	0,08	0,24	0,04	0,11	<0,01	<0,01	0,00	0,00	0,14	0,40	0,24	0,70	0,29	0,85
		<i>Shigella</i>	162/162	100	35,4	0,12	0,34	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,39	1,09	0,41	1,14
		STEC	162/162	100	33,3	0,08	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	<0,01	<0,01	0,08	0,23	0,28	0,85	0,30	0,91

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 Bacterial Assay è stata valutata in 3 siti statunitensi utilizzando 1 elemento del pannello negativo e 2 elementi del pannello positivi per tutti e 4 i 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 feci 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 *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella* e STEC (Tabella 9).

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

Descrizione	Analita	Concordeza con i risultati attesi	
		N	% (IC al 95%)
Neg	Controllo interno	90/90	100 (95,9-100)
Bassa pos ^a	<i>Salmonella</i> ^c	90/90	100 (95,9-100)
	<i>Campylobacter</i> ^c	90/90	100 (95,9-100)
	<i>Shigella</i> /EIEC ^c	90/90	100 (95,9-100)
	STEC ^c	90/90	100 (95,9-100)
Mod pos ^b	<i>Salmonella</i> ^c	90/90	100 (95,9-100)
	<i>Campylobacter</i> ^c	90/90	100 (95,9-100)
	<i>Shigella</i> /EIEC ^c	90/90	100 (95,9-100)
	STEC ^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 *Salmonella bongori*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella sonnei* e STEC sierotipo O26 sono stati utilizzati per realizzare i pannelli positivi.

La variabilità del segnale è stata misurata come %CV dei valori Ct. La variabilità totale del segnale era ≤2,03% (DS ≤0,74) 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 ≤1,00% per tutti gli elementi del pannello. La variabilità del segnale è stata ≤0,77% (DS ≤0,25) per i controlli positivi del test Panther Fusion GI Bacterial Assay (Tabella 11).

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

Descrizione	Analita	N	Ct media	Tra siti diversi		Tra operatori/sessioni analitiche diverse ^c		Tra giorni diversi		Nella stessa sessione analitica		Totale	
				DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
Bassa pos ^a	Salmonella	90	36,4	0,00	0,00	0,36	1,00	0,12	0,32	0,63	1,74	0,74	2,03
	Campylobacter	90	35,1	0,16	0,45	0,05	0,14	0,09	0,25	0,32	0,91	0,37	1,05
	Shigella/EIEC	90	36,3	0,08	0,22	0,03	0,08	0,00	0,00	0,48	1,32	0,49	1,34
	STEC	90	34,3	0,00	0,00	0,06	0,18	0,04	0,11	0,31	0,92	0,32	0,94
Mod pos ^b	Salmonella	90	35,2	0,16	0,47	0,00	0,00	0,14	0,39	0,43	1,23	0,48	1,37
	Campylobacter	90	34,2	0,15	0,43	0,04	0,13	0,11	0,31	0,30	0,88	0,35	1,03
	Shigella/EIEC	90	35,2	0,19	0,55	0,10	0,30	0,00	0,00	0,34	0,96	0,40	1,14
	STEC	90	33,3	0,08	0,23	0,00	0,00	0,07	0,20	0,25	0,74	0,27	0,80

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 Bacterial Assay

Controllo	Analita	N	Ct media	Tra siti diversi		Tra operatori diversi		Tra giorni diversi		Nella stessa sessione analitica		Totale	
				DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
Pos	Salmonella	30	30,5	0,12	0,40	0,00	0,00	0,11	0,35	0,15	0,49	0,22	0,73
	Campylobacter	30	31,4	0,04	0,13	0,04	0,13	0,09	0,29	0,05	0,17	0,12	0,38
	Shigella/EIEC	30	31,9	0,16	0,50	0,00	0,00	0,13	0,42	0,13	0,41	0,25	0,77
	STEC	30	31,8	0,00	0,00	0,01	0,04	0,11	0,33	0,11	0,35	0,15	0,49

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 feci residue in terreno di conservazione Cary-Blair raccolti nell'ambito delle cure di routine in 8 cliniche statunitensi da pazienti pediatriche o adulti con sospetta gastroenterite acuta. Tutti i campioni biologici sono stati analizzati con il test Panther Fusion GI Bacterial Assay e con un test di confronto di amplificazione degli acidi nucleici (NAAT) approvato dalla FDA. 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 1548 campioni biologici prospettici e 261 campioni biologici retrospettivi; 69 campioni biologici sono stati esclusi dalle analisi delle prestazioni (ad esempio, individui duplicati, risultati di Panther Fusion GI Bacterial o del test di confronto non validi per tutti i target). Sono stati valutati altri 126 campioni artificiali per integrare i dati prospettici e retrospettivi relativi al *stx1/stx2* target. Dei 1896 campioni biologici analizzati in esecuzioni valide del test Panther Fusion GI Bacterial Assay, 41 (2,2%) hanno avuto risultati iniziali non validi. Al momento della ripetizione del test, 33 dei 41 campioni biologici hanno dato risultati validi, per un totale di 1888 (99,6%) campioni biologici con risultati finali validi. Il set di dati finale era composto da 1866 campioni valutabili; non tutti erano valutabili per tutti gli analiti. Le informazioni demografiche relative ai 1740 campioni valutabili (1521 prospettici e 219 retrospettivi) sono riportate nella Tabella 12.

Tabella 12: Riepilogo dei dati demografici dei soggetti

		N totale (%)	N prospettico (%)	N retrospettivo (%)
Totale campioni biologici		1.740	1.521	219
Genere	Femmina	909 (52,2)	794 (52,2)	115 (52,5)
	Maschio	831 (47,8)	727 (47,8)	104 (47,5)
Gruppo di età	da 0 a 28 giorni	7 (0,4)	7 (0,5)	0 (0)
	da 29 giorni a <2 anni	70 (4,0)	67 (4,4)	3 (1,4)
	da 2 a 5 anni	53 (3,0)	50 (3,3)	3 (1,4)
	da 6 a 11 anni	73 (4,2)	66 (4,3)	7 (3,2)
	da 12 a 17 anni	73 (4,2)	71 (4,7)	2 (0,9)
	da 18 a 21 anni	53 (3,0)	45 (3,0)	8 (3,7)
	da 22 a 64 anni	849 (48,8)	723 (47,5)	126 (57,5)
	≥65 anni	562 (32,3)	492 (32,3)	70 (32,0)

N = dimensione della popolazione

Le caratteristiche delle prestazioni per il rilevamento di *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*/EIEC e *stx1/stx2* sono riportate da Tabella 13 a Tabella 16.

Tabella 13: Prestazioni cliniche - *Salmonella* spp.

Origine del campione biologico	N	VP	FP	VN	FN	Prevalenza ^a (%)	PPA % (IC al 95%) ^b	NPA % (IC al 95%) ^b
Prospettivo (fresco)	1.520	33	2 ^c	1.484	1 ^d	2,2	97,1 (85,1; 99,5)	99,9 (99,5; 100)
Retrospettivo (congelato)	219	20	2 ^e	197	0	N/D ^f	100 (83,9; 100)	99,0 (96,4; 99,7)

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 I 2 campioni biologici prospettivi falsi positivi discordanti sono risultati positivi per *Salmonella* con il NAAT alternativo.

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

^e I 2 campioni biologici retrospettivi falsi positivi discordanti sono risultati positivi per *Salmonella* con il NAAT alternativo.

^f Il calcolo della prevalenza non è applicabile.

Tabella 14: Prestazioni cliniche - *Campylobacter* spp.

Origine del campione biologico	N	VP	FP	VN	FN	Prevalenza ^a (%)	PPA % (IC al 95%) ^b	NPA % (IC al 95%) ^b
Prospettivo (fresco)	1.520	39	2 ^c	1.478	1 ^d	2,6	97,5 (87,1; 99,6)	99,9 (99,5; 100)
Retrospettivo (congelato)	219	18	4 ^e	197	0	N/D ^f	100 (82,4; 100)	98,0 (95,0; 99,2)

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 I 2 campioni biologici prospettivi falsi positivi discordanti sono risultati negativi per *Campylobacter* con il NAAT alternativo.

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

^e 3 dei 4 campioni biologici retrospettivi falsi positivi discordanti sono risultati positivi per *Campylobacter* con il NAAT alternativo.

^f Il calcolo della prevalenza non è applicabile.

Tabella 15: Prestazioni cliniche - *Shigella/EIEC*

Origine del campione biologico	N	VP	FP	VN	FN	Prevalenza ^a (%)	PPA % (IC al 95%) ^b	NPA % (IC al 95%) ^b
Prospettivo (fresco)	1.521	27	0	1.494	0	1,8	100 (87,5; 100)	100 (99,7; 100)
Retrospettivo (congelato)	219	19	1 ^c	199	0	N/D ^d	100 (83,2; 100)	99,5 (97,2; 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 retrospettivo falso positivo discordante è risultato positivo per *Shigella/EIEC* con il NAAT alternativo.

^d Il calcolo della prevalenza non è applicabile.

Tabella 16: Prestazioni cliniche - Shiga tossine 1 e 2 (stx1/stx2)

Origine del campione biologico	N	VP	FP	VN	FN	Prevalenza ^a (%)	PPA % (IC al 95%) ^b	NPA % (IC al 95%) ^b
Prospettivo (fresco)	1.520	7	5 ^c	1.508	0	0,5	100 (64,6; 100)	99,7 (99,2; 99,9)
Retrospettivo (congelato)	219	39	8 ^d	172	0	N/D ^e	100 (91,0; 100)	95,6 (91,5; 97,7)
Artificiale (congelato)	126	63	0	63	0	N/D ^e	100 (94,3; 100)	100 (94,3; 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 I 5 campioni biologici prospettivi falsi positivi discordanti sono risultati positivi per stx1/stx2 con il NAAT alternativo.

^d Gli 8 campioni biologici retrospettivi falsi positivi discordanti sono risultati positivi per stx1/stx2 con il NAAT alternativo.

^e Il calcolo della prevalenza non è applicabile.

Le 14 coinfezioni rilevate dal test Panther Fusion GI Bacterial Assay sono descritte in Tabella 17. Nove (9) coinfezioni sono state rilevate anche dal NAAT di confronto.

Tabella 17: Coinfezioni rilevate in campioni biologici prospettivi e retrospettivi

Coinfezioni	Rilevate dal test Panther Fusion GI Bacterial Assay (n)	Confermate dal test di confronto (n)
<i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i>	1	0
<i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> /EIEC	1	0
<i>Salmonella</i> , stx1/stx2	1	0
<i>Campylobacter</i> , <i>Shigella</i> /EIEC	5	4
<i>Campylobacter</i> , stx1/stx2	5	4
<i>Shigella</i> /EIEC, stx1/stx2	1	1

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/item/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. (n.d.). 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 May;111(5):602-22. doi: 10.1038/ajg.2016.126.
4. U.S. Food and Drug Administration. Get the Facts about Salmonella. FDA. Aggiornato in data 19 marzo 2024. Consultato il 30 maggio 2025. <https://www.fda.gov/animal-veterinary/animal-health-literacy/get-facts-about-salmonella>
5. Centers for Disease Control and Prevention. Clinical Overview of Shigellosis. CDC. Aggiornato in data 18 marzo 2024. Consultato il 2 giugno 2025. <https://www.cdc.gov/shigella/hcp/clinical-overview/index.html>
6. Centers for Disease Control and Prevention. Clinical Overview of *Campylobacter*. CDC. Aggiornato al 30 gennaio 2025. Consultato il 30 maggio 2025. <https://www.cdc.gov/campylobacter/hcp/clinical-overview/index.html>
7. Centers for Disease Control and Prevention. About Campylobacter infection. CDC. Aggiornato al 10 maggio 2024. Consultato il 2 giugno 2025. <https://www.cdc.gov/campylobacter/about/index.html>
8. 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>

Recapiti



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Sponsor australiano
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-34377-701 Rev. 002
2025-11

Cronologia delle revisioni	Data	Descrizione
AW-34377-701 Rev. 001	Agosto 2025	• Versione iniziale.
AW-34377-701 Rev. 002	Novembre 2025	• Corretta la percentuale di concordanza negativa per i campioni congelati retrospettivi nella Tabella 14. • Modifiche minori al testo.