

# GI Expanded Bacterial Assay (Panther Fusion® System)

## Instruções de Utilização

Apenas para fins de diagnóstico *in vitro*

Exclusivamente para exportação para os EUA

## ÍNDICE

<b>Informações gerais</b>	<b>2</b>
Utilização prevista	2
Resumo e explicação do teste	2
Princípios do procedimento	3
Resumo de segurança e desempenho	4
Advertências e precauções	4
Requisitos de armazenamento e manuseamento de reagentes	7
Colheita e armazenamento de espécimes	8
Transporte de espécimes	9
<b>Panther Fusion System</b>	<b>10</b>
Reagentes e materiais fornecidos para o Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay	10
Materiais necessários, mas disponíveis em separado	11
Procedimento de teste do Panther Fusion System	12
Notas sobre o procedimento	13
<b>Controlo de qualidade</b>	<b>14</b>
Controlos negativo e positivo	14
Controlo interno	14
<b>Interpretação de resultados</b>	<b>15</b>
<b>Limitações</b>	<b>16</b>
<b>Desempenho analítico</b>	<b>17</b>
Sensibilidade analítica	17
Inclusividade/Reatividade – Ensaios em meio húmido	18
Inclusividade/Reatividade – Análise <i>in silico</i>	20
Especificidade analítica: reatividade cruzada e interferência microbiana – Ensaio em meio húmido	20
Cinfeção/interferência competitiva	23
Interferência	24
Contaminação por transferência	26
Reprodutibilidade	28
<b>Desempenho clínico</b>	<b>30</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>33</b>
<b>Informações de contacto</b>	<b>34</b>

## Informações gerais

### Utilização prevista

O Panther Fusion® GI Expanded Bacterial Assay é um teste diagnóstico *in vitro* de PCR multiplex em tempo real para a deteção e diferenciação rápida e qualitativa de *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. cholerae*), *Escherichia coli* O157 e *Plesiomonas shigelloides*. Os ácidos nucleicos são isolados e purificados a partir de amostras de fezes preservadas recolhidas de indivíduos que apresentam sinais e sintomas de gastroenterite.

Este ensaio destina-se a auxiliar no diagnóstico diferencial de infecções por *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. cholerae*), *Escherichia coli* O157 e *Plesiomonas shigelloides*. Os resultados deste ensaio devem ser utilizados em conjunto com a apresentação clínica, resultados laboratoriais e informação epidemiológica e não devem ser utilizados como base única para o diagnóstico, tratamento ou outras decisões de gestão do doente. Os resultados positivos não excluem a coinfecção com outros organismos que não são detetados por este teste e podem não ser a causa única ou definitiva da doença do paciente. Resultados negativos no contexto de doença clínica compatível com gastroenterite poderão dever-se a infecção por agentes patogénicos não detetados por este teste, ou causas não infeciosas tais como colite ulcerosa, síndrome do intestino irritável, ou doença de Crohn. Este ensaio foi concebido para ser utilizado no Panther Fusion® System.

### Resumo e explicação do teste

A diarreia aguda é uma das principais causas de consultas ambulatoriais, hospitalização e perda de qualidade de vida tanto em ambientes domésticos quanto entre aqueles que viajam para o exterior. O impacto global das doenças transmitidas por alimentos é substancial, estimando-se que 600 milhões de pessoas adoeçam, resultando em 420 000 mortes por ano.<sup>1</sup> Os Centros de Controlo e Prevenção de Doenças (CDC) estimaram 48 milhões de casos de doenças transmitidas por alimentos anualmente nos EUA, levando a 128 000 hospitalizações e 3000 mortes.<sup>2</sup> A diarreia aguda está associada a custos de saúde estimados em mais de 150 milhões de dólares.<sup>3</sup>

A gastroenterite infeciosa pode ser causada por uma variedade de organismos bacterianos, virais e parasitas. Os sintomas por si só não podem ser usados para distinguir a causa da infecção, tornando as ferramentas de diagnóstico rápidas e precisas essenciais para orientar o tratamento e a gestão do paciente.

O CDC estima que a *Y. enterocolitica* causa 116 716 doenças, 637 hospitalizações e 34 mortes nos Estados Unidos todos os anos.<sup>4</sup> As crianças são infetadas com mais frequência do que os adultos, e a infecção é mais comum no inverno.<sup>5</sup>

A vibriose causa cerca de 80 000 doenças e 100 mortes nos Estados Unidos todos os anos. A maioria das infecções ocorre de maio a outubro, quando as temperaturas da água são mais quentes.<sup>6</sup> Estima-se que cerca de 52 000 dessas doenças sejam o resultado da ingestão de alimentos contaminados.<sup>6</sup> Estima-se que a espécie mais comumente relatada, *V. parahaemolyticus*, cause 45 000 doenças por ano nos Estados Unidos.<sup>5</sup>

Estima-se que 265 000 infecções por shigatoxina *Escherichia coli* (STEC) ocorram a cada ano nos Estados Unidos, com STEC O157 a causar cerca de 36% dessas infecções.<sup>4</sup> Os especialistas em saúde pública baseiam-se em estimativas e não em números reais de infecções, porque nem todas as infecções por STEC são diagnosticadas.<sup>7</sup>

Os surtos de doença diarreica têm sido associados a água contaminada e ostras contendo *P. shigelloides*, e foi observada uma redução na gravidade e duração dos sintomas após terapia antimicrobiana apropriada.<sup>8</sup>

## Princípios do procedimento

O Panther Fusion System automatiza totalmente o processamento de amostras, incluindo a lise de amostras, a captura de ácido nucleico, a amplificação e a deteção para o Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay. A captura e eluição de ácidos nucleicos são feitas num tubo individual no Panther Fusion System. O eluído é transferido para o tubo de reação do Panther Fusion System que contém os reagentes do ensaio. A PCR (RT-PCR) multiplex, em tempo real, é depois realizada para o ácido nucleico eluído no Panther Fusion System.

**Processamento de amostras:** Antes do processamento e realização de testes no Panther Fusion System, os espécimes são transferidos para um tubo multitemplo Aptima® que contém o meio de transporte de espécimes (STM) para lisar as células, libertar os ácidos nucleicos e protegê-los da degradação durante o armazenamento.

**Captura e eluição do ácido nucleico:** Um controlo interno (IC-B) é automaticamente adicionado a cada espécime através do reagente de captura B Panther Fusion de trabalho (wFCR-B), para monitorizar a interferência durante o processamento, a amplificação e a deteção de espécimes, causada pela falha de reagentes ou por substâncias inibitórias. Os espécimes são primeiro incubados num reagente alcalino (FER-B) para permitir a lise celular. O ácido nucleico libertado durante a fase de lise hibridiza-se em partículas magnéticas no wFCR-B. As partículas de captura são então separadas da matriz residual da amostra num campo magnético por uma série de etapas de lavagem com um detergente suave. O ácido nucleico capturado é depois eluído das partículas magnéticas com um reagente de baixa força iônica (tampão de eluição Panther Fusion).

**Nota:** O Panther Fusion System adiciona o IC-B ao reagente de captura B Panther Fusion (FCR-B). Depois de adicionar o IC-B ao FCR-B, este passa a ser referido como wFCR-B (FCR-B de trabalho).

**Amplificação de PCR multiplex e deteção de fluorescência:** A mistura principal para reação em dose unitária liofilizada é reconstituída com o tampão de reconstituição I Panther Fusion e, em seguida, combinada com o ácido nucleico eluído num tubo de reação. O reagente de óleo Panther Fusion é adicionado para evitar a evaporação durante a reação da PCR.

Os "primers" e sondas específicos do alvo amplificam os alvos através da reação em cadeia da polimerase enquanto medem simultaneamente a fluorescência dos alvos multiplexados. O Panther Fusion System compara o sinal de fluorescência a um "cut-off" predeterminado, para produzir um resultado qualitativo pela presença ou ausência de cada analito.

Os analitos e o canal utilizado para a sua deteção no Panther Fusion System estão resumidos na tabela abaixo:

Analito	Gene-alvo	Canal do instrumento
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>InvA</i> (antigénio invasivo A)	FAM
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>gyrB</i> (girase B)	HEX
<i>Vibrio vulnificus</i>	<i>gyrB</i> (girase B)	HEX
<i>Vibrio cholerae</i>	<i>ompW</i> (proteína de membrana externa W)	HEX
<i>Escherichia coli</i> O157	<i>rfbE</i> (perosamina sintase-O-antigénio)	ROX
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>hugA</i> (gene de utilização de heme A)	RED647
Controlo interno	Não aplicável	RED677

## Resumo de segurança e desempenho

O Resumo de segurança e desempenho (SSP, Summary of Safety and Performance) está disponível na base de dados europeia de dispositivos médicos (Eudamed), onde está associado aos identificadores do dispositivo (UDI-DI básico). Para localizar o SSP para o Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay, consulte o Identificador único do dispositivo básico (BUDI): 54200455DIAGPFGIEXBACUK.

## Advertências e precauções

- A. Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- B. Leia atentamente todo este folheto informativo e o Manual de instruções do Panther®/Panther Fusion System.
- C. Para utilização profissional.
- D. O reagente estimulador B Panther Fusion (FER-B) é corrosivo, nocivo por ingestão e provoca queimaduras cutâneas e lesões oculares graves.
- E. Este procedimento só deve ser feito por pessoal com a respetiva formação profissional na utilização deste ensaio e no manuseamento de materiais potencialmente infeciosos. Se ocorrer um derrame, desinfete imediatamente, respeitando os procedimentos locais apropriados.

## Relacionadas com o laboratório

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

## Relacionadas com os espécimes

- I. Os espécimes podem ser infeciosos. Respeite as precauções universais quando realizar este ensaio. A administração do laboratório deve estabelecer métodos adequados de manuseamento e eliminação. Este procedimento de diagnóstico só pode ser realizado por pessoal com a formação profissional adequada em manuseamento de materiais infeciosos.
- J. As datas de validade indicadas nos tubos multitemplo Aptima® referem-se à transferência da amostra para o tubo e não ao teste da amostra. Os espécimes recolhidos/transferidos em qualquer data anterior a estas datas de expiração podem ser testados, desde que tenham sido transportados e conservados de acordo com o folheto informativo adequado, mesmo que as datas de expiração tenham sido ultrapassadas.
- K. Mantenha as condições de conservação adequadas durante o transporte de espécimes, para garantir a integridade do espécime. A estabilidade do espécime noutras condições de transporte que não as recomendadas não foi avaliada.

- L. Evite a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento de espécimes. Os espécimes podem conter níveis extremamente elevados de bactérias ou outros organismos. Certifique-se de que os recipientes de espécimes não entrem em contacto uns com os outros e elimine os materiais usados sem passá-los por cima de quaisquer recipientes abertos. Mude de luvas se estas entrarem em contacto com espécimes.

#### Relacionadas com o ensaio

- M. Não use os reagentes ou controlos depois da respetiva data de expiração.
- N. Conserve os componentes de ensaio nas condições de conservação recomendadas. Consulte as secções *Requisitos de armazenamento e manuseamento de reagentes* e *Procedimento de teste do Panther Fusion System* para obter mais informações.
- O. Não combine quaisquer reagentes ou fluidos de ensaio. Não ateste reagentes ou fluidos; o Panther Fusion System verifica os níveis de reagentes.
- P. Evite a contaminação microbiana ou com nuclease dos reagentes.
- Q. Os requisitos de controlo de qualidade têm de ser respeitados em conformidade com os regulamentos locais, regionais e/ou nacionais, ou requisitos de certificação, e os procedimentos de controlo de qualidade predefinidos do seu laboratório.
- R. Não use o cartucho de ensaio se a bolsa de conservação estiver comprometida, ou se a película do cartucho de ensaio não estiver intacta. Contacte a Assistência técnica da Hologic® em qualquer um dos casos.
- S. Não utilize os pacotes de fluidos se o selo de alumínio vazar. Contacte a Assistência técnica da Hologic caso isto aconteça.
- T. Manuseie os cartuchos de ensaio com cuidado. Não deixe que os cartuchos de ensaio caiam ou invertam. Evite a exposição prolongada à luz ambiente.
- U. Alguns reagentes deste kit estão marcados com informações sobre perigos.

**Nota:** A comunicação dos perigos reflete as classificações das Fichas de Dados de Segurança (FDS) da União Europeia (UE). Para consultar informações de comunicação de perigos específicas da sua região, consulte a respetiva Ficha de dados de segurança na Biblioteca de fichas de dados de segurança em: [www.hologicsds.com](http://www.hologicsds.com). Para obter mais informações sobre os símbolos, consulte a legenda dos símbolos em <http://www.hologic.com/package-inserts>.

Informações de perigos para a UE	
<b>Panther Fusion Enhancer Reagent B (FER-B)</b> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate a 5–10%</i>	  <b>PERIGO</b> H302 – Nocivo por ingestão. H314 – Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. P264 – Lavar o rosto, as mãos e toda a pele exposta cuidadosamente após manuseamento. P270 – Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto. P330 – Enxaguar a boca. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado. P260 – Não respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. P280 – Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/protector ocular/protector facial. P301 + P330 + P331 – EM CASO DE INGESTÃO: enxaguar a boca. NÃO provocar o vômito. P303 + P361 + P353 – SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água [ou tomar um duche]. P304 + P340 – EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. P305 + P351 + P338 – SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos; Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar. P310 – Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. P321 – Tratamento específico (ver instruções de primeiros socorros suplementares no presente rótulo). P363 – Lavar a roupa contaminada antes de a voltar a usar. P405 – Armazenar em local fechado à chave.
<b>Panther Fusion Capture Reagent B (FCR-B)</b> <i>HEPES a 15–20%</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt a 10–15%</i> <i>Succinic Acid a 1–5%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate a 1–5%</i>	   H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.

## Requisitos de armazenamento e manuseamento de reagentes

A. A seguinte tabela fornece os requisitos de armazenamento e manuseamento deste ensaio.

Reagente	Armazenamento fechado	Estabilidade a bordo/aberta <sup>a</sup>	Armazenamento aberto
Cartucho de ensaio bacteriano expandido Panther Fusion GI	2 °C a 8 °C	60 dias	2 °C a 8 °C <sup>b</sup>
Reagente de captura B Panther Fusion (FCR-B)	15 °C a 30 °C	30 dias	15 °C a 30 °C
Reagente estimulador B Panther Fusion (FER-B)	15 °C a 30 °C	30 dias	15 °C a 30 °C
Controlo interno B Panther Fusion (IC-B)	2 °C a 8 °C	(Em wFCR-B)	Não aplicável
Tampão de eluição Panther Fusion	15 °C a 30 °C	60 dias	15 °C a 30 °C
Reagente de óleo Panther Fusion	15 °C a 30 °C	60 dias	15 °C a 30 °C
Tampão de reconstituição I Panther Fusion	15 °C a 30 °C	60 dias	15 °C a 30 °C
Controlo positivo bacteriano Panther Fusion GI Expanded	2 °C a 8 °C	Frasco de utilização única	Não aplicável – de utilização única
Controlo negativo Panther Fusion	2 °C a 8 °C	Frasco de utilização única	Não aplicável – de utilização única

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

<sup>a</sup> A estabilidade dentro do instrumento começa no momento em que o reagente é colocado no Panther Fusion System, para o cartucho do Panther Fusion GI Bacterial Expanded Assay, FCR-B, FER-B e IC-B. A estabilidade dentro do instrumento para o tampão de reconstituição I Panther Fusion, tampão de eluição Panther Fusion e reagente de óleo Panther Fusion começa quando o conjunto de reagentes é utilizado pela primeira vez.

<sup>b</sup> Se for retirado do Panther Fusion System, conserve o cartucho de ensaio num recipiente hermético com dessecante, à temperatura de conservação recomendada.

- B. O reagente de captura de trabalho B Panther Fusion (wFCR-B) e o reagente estimulador B Panther Fusion (FER-B) são estáveis durante 60 dias quando tapados e conservados entre 15 °C e 30 °C. Não refrigere.
- C. Os controlos permanecem estáveis até à data indicada nos frascos.
- D. Elimine quaisquer reagentes não usados que tenham ultrapassado a sua estabilidade a bordo do instrumento.
- E. Evite a contaminação cruzada durante o manuseamento e conservação de reagentes.
- F. **Não congele os reagentes.**

## Colheita e armazenamento de espécimes

**Espécimes** – Material clínico recolhido do paciente e colocado num sistema de transporte adequado. Para o Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay, isso inclui amostras fecais preservadas em meios de transporte Cary-Blair.

**Amostras** – Representa um termo mais genérico para descrever qualquer material para teste no Panther Fusion System, incluindo espécimes, espécimes transferidos para um tubo multiteste Aptima e controlos.

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

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

- A. Os tipos de espécimes incluem amostras de fezes preservadas em meios de transporte Cary-Blair.

Recolha as fezes cruas seguindo os procedimentos padrão adequados de recolha e manuseamento de fezes. Transfira as amostras de fezes para o meio de transporte Cary-Blair de acordo com as instruções do fabricante.

- B. Processamento de espécimes

1. Misture bem o espécime conservado Cary-Blair para garantir a homogeneidade imediatamente antes de o transferir para o tubo multiteste Aptima.

2. Antes do teste no Panther Fusion System, transfira a amostra para um tubo multiteste Aptima.

- a. Abra parcialmente a embalagem da zaragatoa. Retire a zaragatoa. Não toque na ponta suave nem pouse a zaragatoa sobre uma superfície. Se tocar na ponta suave, se pousar a zaragatoa ou se a deixar cair, utilize um novo Aptima® Multitest Swab Specimen Collection Kit. Submerja completamente a ponta macia da zaragatoa na amostra de fezes conservada em Cary-Blair.

**Nota:** Mergulhe apenas a ponta macia do cotonete 1 vez na parte líquida, certificando-se de que a haste cor-de-rosa não fica submersa.

- b. Destape o tubo multiteste Aptima que contém o meio de transporte. Se o conteúdo do tubo se derramar, utilize um novo Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit. Coloque a zaragatoa no tubo e rode suavemente a zaragatoa no tubo durante 5 segundos para libertar material. Deixe a zaragatoa no tubo.
  - c. Parta cuidadosamente a haste do esfregaço na linha de corte contra o lado do tubo e deite fora a parte superior da haste do esfregaço.
  - d. Coloque a tampa perfurável fornecida ou nova no tubo.

3. Conservação de espécimes antes da análise

- a. Após a colheita, os espécimes preservados Cary-Blair podem ser armazenados entre 2 °C e 8 °C durante um máximo de 72 horas antes de serem transferidos para o tubo multiteste Aptima.

**Nota:** A *Yersinia* é afetada pela temperatura e pelo tempo de armazenamento. Se as amostras não forem armazenadas adequadamente, podem ter uma recuperação reduzida e perder os resultados positivos.

b. A amostra no tubo multiteste Aptima pode ser armazenada numa das seguintes condições:

- entre 15 °C e 30 °C até 6 dias ou
- entre 2 °C e 8 °C até 30 dias ou
- ≤ -20 °C até 3 meses

**Nota:** *Minimize os ciclos de congelamento-descongelamento para evitar a potencial degradação da amostra.*

**Nota:** *Recomendamos que os espécimes transferidos para o tubo multiteste Aptima sejam conservados tapados e em posição vertical num suporte.*

#### C. Conservação de espécimes depois dos testes

1. As amostras já analisadas devem ser conservadas em posição vertical num suporte, mediante uma das seguintes condições:

- entre 15 °C e 30 °C até 6 dias ou
- entre 2 °C e 8 °C até 30 dias ou
- ≤ -20 °C até 3 meses

**Nota:** *Minimize os ciclos de congelamento-descongelamento para evitar a potencial degradação da amostra.*

2. As amostras devem ser cobertas com uma película de plástico nova e limpa, ou com folha de alumínio.

3. Se as amostras analisadas tiverem de ser congeladas ou expedidas, retire a tampa perfurável e coloque uma nova tampa não perfurável nos tubos de espécimes.

Se as amostras tiverem de ser expedidas para análise noutro local, as temperaturas recomendadas terão de ser mantidas. Antes de destapar, os tubos de transporte de espécimes têm de ser mantidos na vertical durante 5 minutos para que todo o líquido desça até à base do tubo. Evite salpicos e contaminação cruzada. Não centrifuge.

### Transporte de espécimes

Mantenha as condições de conservação de espécimes durante o transporte, conforme descrito em *Colheita e armazenamento de espécimes*.

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

## Panther Fusion System

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

### Reagentes e materiais fornecidos para o Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay

#### Embalagem do ensaio

Componentes	Referência	Armazenamento
<b>Cartucho de ensaio bacteriano expandido Panther Fusion GI, 96 testes</b> Cartucho de ensaio bacteriano expandido Panther Fusion GI, 12 testes, 8 por caixa	PRD-07121	2 °C a 8 °C
<b>Controlo interno B Panther Fusion, 960 testes</b> Tubo de controlo interno B Panther Fusion, 4 por caixa	PRD-06234	2 °C a 8 °C
<b>Controlos do ensaio bacteriano expandido Panther Fusion GI</b> Tubo de controlo positivo bacteriano Panther Fusion GI Expanded, 5 por caixa Tubo de controlo negativo Panther Fusion, 5 por caixa	PRD-07122	2 °C a 8 °C
<b>Reagente de extração B Panther Fusion, 960 testes</b> Frasco de reagente de captura B Panther Fusion, 240 testes, 4 por caixa Frasco de reagente estimulador B Panther Fusion, 240 testes, 4 por caixa	PRD-06232	15 °C a 30 °C
<b>Tampão de eluição Panther Fusion, 2400 testes</b> Embalagem do tampão de eluição Panther Fusion, 1200 testes, 2 por caixa	PRD-04334	15 °C a 30 °C
<b>Tampão de reconstituição I Panther Fusion, 1920 testes</b> Tampão de reconstituição I Panther Fusion, 960 testes, 2 por caixa	PRD-04333	15 °C a 30 °C
<b>Reagente de óleo Panther Fusion, 1920 testes</b> Reagente de óleo Panther Fusion, 960 testes, 2 por caixa	PRD-04335	15 °C a 30 °C

#### Artigos embalados individualmente

Artigos	Referência
Tabuleiros de tubos Panther Fusion, 1008 testes, 18 por caixa	PRD-04000
Kit de colheita de espécimes multiteste Aptima, embalagem de 50	PRD-03546

## Materiais necessários, mas disponíveis em separado

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

Material	Código de produto
Panther System	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Fluidos contínuos e resíduos Panther System (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de fluidos Aptima® Assay (Aptima Wash Solution, Aptima Buffer for Deactivation Fluid e Aptima Oil Reagent)	303014 (1000 testes)
Unidades multitubos (MTUs)	104772-02
Kit de sacos de resíduos Panther	902731
Tampa do recipiente de resíduos Panther	504405
Ou o Kit de execução do Panther System contém MTU, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos, fluidos de ensaio e reagentes Auto Detect <sup>a</sup>	303096 (5000 testes)
Pontas, 1000 µl, com filtro, deteção de líquido, condutoras e descartáveis:	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128 MME-04110
Tampas perfuráveis Aptima (opcionais)	105668
Tampas não perfuráveis de substituição (opcionais)	103036A
Tampas de substituição para frascos de reagentes de extração	CL0040
Lixívia, solução de hipoclorito de sódio de 5% a 8,25%(0,7 M a 1,16 M)	—
<b>Nota:</b> Consulte o <i>Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System</i> para obter instruções sobre como preparar a solução de hipoclorito de sódio diluído.	—
Luvas sem pó descartáveis	—

<sup>a</sup> Necessário apenas para ensaios Aptima que usam a tecnologia TMA.

## Materiais opcionais

Material	Código de produto
Vórtex de bancada (VWR Analog Vortex Mixer 120V, código de produto 10153-838) ou equivalente	—

## Procedimento de teste do Panther Fusion System

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

### A. Preparação da área de trabalho

1. Limpe as superfícies de trabalho com uma solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Permita que a solução de hipoclorito de sódio entre em contacto com as superfícies por, pelo menos, 1 minuto e depois lave com água desionizada (DI). Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio. Cubra a superfície da bancada com capas limpas, absorventes, com forro de plástico, indicadas para bancadas de laboratórios.

### B. Preparação de reagentes

1. Retire os frascos de IC-B, FCR-B e FER-B do meio de conservação.
2. Misture o FCR-B, agitando suavemente até à ressuspensão total dos grânulos. Evite formar espuma durante este passo.
3. Abra os frascos de IC-B, FCR-B e FER-B e elimine as tampas. Abra a porta de TCR na zona superior do Panther Fusion System.
4. Coloque os frascos de IC-B, FCR-B e FER-B nas posições apropriadas no carrossel de TCR.
5. Feche a porta de TCR.

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

### C. Manuseamento de espécimes

1. Confirme visualmente que cada tubo de espécime contém uma única zaragatão de colheita Aptima cor-de-rosa no tubo multitemplo Aptima. Se o tubo multitemplo Aptima não contiver nenhum esfregaço, vários esfregaços ou um esfregaço não fornecido pela Hologic, a transferência de fezes em meio Cary-Blair deve ser repetida utilizando um novo Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit.
2. Verifique o aspeto da amostra no tubo multitemplo Aptima.
  - a. Se o espécime for homogéneo, prossiga com o ensaio.
  - b. Se forem observados sólidos ou materiais mucoidais, tenha em atenção que estes podem interferir com o teste.

**Nota:** Se forem observados quaisquer sinais inválidos durante o processamento de espécimes (por exemplo, CLT, icrfu, ebh ou ebl), as amostras no tubo multitemplo Aptima podem ser agitadas em vórtex após a substituição por uma nova tampa penetrável durante 30 a 60 segundos à velocidade máxima num vórtex de bancada padrão antes de voltar a testar.

**Nota:** Prepare os espécimes de acordo com as instruções de processamento de espécimes descritas na secção Colheita e armazenamento de espécimes, antes de carregar espécimes no Panther Fusion System.

### D. Preparação do sistema

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

## Notas sobre o procedimento

### A. Controlos

1. O controlo positivo bacteriano Panther Fusion GI Expanded e o controlo negativo Panther Fusion podem ser carregados em qualquer posição do suporte, em qualquer corredor da zona de amostras no Panther Fusion System.
2. Depois de os tubos de controlo serem pipetados e processados para o Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay, são válidos por um período máximo de 30 dias (frequência de controlo configurada por um administrador) a menos que os resultados do controlo sejam inválidos ou seja carregado um novo lote de cartuchos de ensaio.
3. Cada tubo de controlo só pode ser testado uma única vez.
4. A pipetagem de espécimes do paciente começa quando se verifica uma das duas condições seguintes:
  - a. São registados resultados válidos para os controlos no sistema.
  - b. Um par de controlos está a ser processado pelo sistema.

## Controlo de qualidade

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

### Controlos negativo e positivo

Para gerar resultados válidos, tem de ser testado um conjunto de controlos de ensaio. Uma (1) réplica do controlo negativo do ensaio e do controlo positivo do ensaio tem de ser testada sempre que um novo lote de cartuchos de ensaio for carregado no Panther Fusion System ou quando o conjunto atual de controlos válidos para um lote de cartuchos ativo tiver expirado.

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

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

Se os controlos de ensaio passarem todas as verificações de validade, estes serão considerados como válidos para o intervalo de tempo especificado pelo administrador. Quando o intervalo de tempo tiver passado, os controlos do ensaio expiram no Panther Fusion System e será necessário um novo conjunto de controlos do ensaio antes de iniciar quaisquer novas amostras.

Se qualquer um dos controlos do ensaio falhar nas verificações de validade, o Panther Fusion System invalida automaticamente as amostras afetadas e será necessário um novo conjunto de controlos do ensaio antes de testar quaisquer novas amostras.

### Controlo interno

Um controlo interno é adicionado a cada amostra durante o processo de extração. Durante o processamento, os critérios de aceitação do controlo interno são automaticamente verificados pelo software do sistema Panther Fusion. A deteção do controlo interno não é necessária para amostras positivas para *Yersinia enterocolitica*, espécies de *Vibrio*, *Escherichia coli* O157 e/ou *Plesiomonas shigelloides*. O controlo interno tem de ser detetado em todas as amostras que sejam negativas para todos os analitos pretendidos; as amostras que não cumpram este critério serão comunicadas como inválidas. Cada amostra com um resultado inválido tem de ser analisada novamente.

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

## Interpretação de resultados

O Panther Fusion System determina automaticamente os resultados dos testes de amostras e controlos. Os resultados para deteção de *Yersinia enterocolitica*, espécies de *Vibrio*, *Escherichia coli* O157 e *Plesiomonas shigelloides* são apresentados separadamente. O resultado de um teste pode ser negativo, positivo ou inválido.

O primeiro resultado válido é o resultado que deve ser relatado. As amostras com resultados inválidos devem ser novamente testadas. Se o resultado não for válido após novo ensaio, deve ser colhida uma nova amostra.

A Tabela 1 mostra os possíveis resultados reportados numa execução válida com as correspondentes interpretações de resultados.

Tabela 1: Interpretação de resultados

Resultado de <i>Yersinia</i>	Resultado de <i>Vibrio</i>	Resultado de O157 <sup>a</sup>	Resultado de <i>Plesio</i>	Resultado de IC	Interpretação
Neg	Neg	Neg	Neg	Válido	<i>Yersinia enterocolitica</i> , espécies de <i>Vibrio</i> , <i>E. coli</i> O157 e <i>Plesiomonas shigelloides</i> não detetadas.
POS	Neg	Neg	Neg	Válido	<i>Yersinia enterocolitica</i> detetada.
Neg	POS	Neg	Neg	Válido	Espécies de <i>Vibrio</i> detetadas.
Neg	Neg	POS	Neg	Válido	<i>E. coli</i> O157 detetada.
Neg	Neg	Neg	POS	Válido	<i>Plesiomonas shigelloides</i> detetada.
POS	POS	Neg	Neg	Válido	<i>Yersinia enterocolitica</i> e espécies de <i>Vibrio</i> detetadas.
POS	Neg	POS	Neg	Válido	<i>Yersinia enterocolitica</i> e <i>E. coli</i> O157 detetadas.
POS	Neg	Neg	POS	Válido	<i>Yersinia enterocolitica</i> e <i>Plesiomonas shigelloides</i> detetadas.
Neg	POS	POS	Neg	Válido	Espécies de <i>Vibrio</i> e <i>E. coli</i> O157 detetadas.
Neg	POS	Neg	POS	Válido	Espécies de <i>Vibrio</i> e <i>Plesiomonas shigelloides</i> detetadas.
Neg	Neg	POS	POS	Válido	<i>E. coli</i> O157 e <i>Plesiomonas shigelloides</i> detetadas.
					<i>Yersinia enterocolitica</i> , espécies de <i>Vibrio</i> e <i>E. coli</i> O157 detetadas. As infecções por 3 bactérias são raras.
POS	POS	POS	Neg	Válido	Analise novamente para confirmar o resultado.
					<i>Yersinia enterocolitica</i> , espécies de <i>Vibrio</i> e <i>Plesiomonas shigelloides</i> detetadas. As infecções por 3 bactérias são raras.
POS	POS	Neg	POS	Válido	Analise novamente para confirmar o resultado.
					<i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>E. coli</i> O157 e <i>Plesiomonas shigelloides</i> detetadas. As infecções por 3 bactérias são raras.
POS	Neg	POS	POS	Válido	Analise novamente para confirmar o resultado.
					<i>Espécies de Vibrio</i> , <i>E. coli</i> O157 e <i>Plesiomonas shigelloides</i> detetadas. As infecções por 3 bactérias são raras. Analise novamente para confirmar o resultado.
Neg	POS	POS	POS	Válido	<i>Yersinia enterocolitica</i> , espécies de <i>Vibrio</i> , <i>E. coli</i> O157 e <i>Plesiomonas shigelloides</i> detetadas. As infecções por 4 bactérias são raras. Analise novamente para confirmar o resultado.
POS	POS	POS	POS	Válido	Inválido. Houve um erro na geração do resultado; volte a testar a amostra.
Inválido	Inválido	Inválido	Inválido	Inválido	

Neg = negativo, POS = positivo.

Nota: O resultado POS será acompanhado por valores de limites cílicos (Ct). POS/HT representa um resultado de título elevado e não terá um Ct registado.

<sup>a</sup> O Panther Fusion GI Bacterial Assay fornece resultados para os genes da toxina Shiga *stx1/stx2*. Note que foram identificadas estíples de *E. coli* O157 que não transportam os genes da toxina do tipo shiga. No entanto, o significado clínico destas estíples não-STEC O157 não foi estabelecido.

## Limitações

- A. A utilização deste ensaio está limitada ao pessoal que tem a formação profissional neste procedimento. O não cumprimento das instruções fornecidas neste folheto pode produzir resultados erróneos.
- B. A fiabilidade dos resultados depende da colheita, do transporte, da conservação e do processamento adequados dos espécimes.
- C. A contaminação só pode ser evitada pela adesão às boas práticas laboratoriais e aos procedimentos especificados neste folheto informativo.
- D. Os pós de meio Cary-Blair desidratados e os meios Cary-Blair em configuração sólida com elevado teor de agarose não foram avaliados e podem não ser compatíveis com as fases de processamento das amostras do ensaio.
- E. O desempenho deste teste só foi validado com fezes humanas colhidas em meio de transporte líquido Cary-Blair, de acordo com as instruções do fabricante do meio.
- F. Este produto não deve ser utilizado para testar amostras de fezes em fixador.

## Desempenho analítico

### Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica (Limite de Deteção ou LoD) do Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay foi determinada através do teste de diluições de matrizes de fezes de Cary-Blair (CBS) negativas processadas, enriquecidas com culturas bacterianas de *Yersinia* (2 estirpes), *Vibrio* (3 estirpes), *Plesiomonas* (2 estirpes), e STEC O157 (2 estirpes). Um mínimo de 24 repetições foi testado com cada um dos 3 lotes de reagentes. O LoD para cada analito foi determinado por análise Probit para cada lote de reagente e foi confirmado com 24 réplicas adicionais utilizando um único lote de reagente em configurações de analito único e multianalito. A sensibilidade analítica é definida como a concentração mais baixa na qual  $\geq 95\%$  de todas as réplicas apresentaram resultados positivos, conforme resumido na Tabela 2.

Tabela 2: Sensibilidade analítica

Estirpe	Concentração de LoD (CFU/mL) <sup>a</sup>	
	Tubo multiteste Aptima	Fezes preservadas
<i>Yersinia enterocolitica</i> , 33114	91	1820
<i>Yersinia enterocolitica</i> , 1375, O:8	94	1880
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> , EB101	90	1800
<i>Vibrio vulnificus</i> , B9629	10	200
<i>Vibrio cholerae</i> , 8021	33	660
STEC O157:H7, EDL 931	53	1060
O157:NM, CDC 92-3073	357	7140
<i>Plesiomonas shigelloides</i> , CDC 3085-55	65	1300
<i>Plesiomonas shigelloides</i> , GNI 14	34	680

CFU = unidades formadoras de colónias.

<sup>a</sup> As concentrações de analitos no tubo multiteste Aptima são  $\sim 20\times$  diluídas em comparação com as fezes preservadas ( $\sim 150\ \mu\text{l}$  de fezes preservadas em  $\sim 3\ \text{ml}$  de STM)

## Inclusividade/Reatividade – Ensaios em meio húmido

A inclusividade/reatividade do Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay foi determinada através do teste de estirpes bacterianas na matriz CBS negativa processada. Cada estirpe foi testada em triplicado a 3X LoD com 1 lote de reagentes em configuração de um ou vários analitos. Para as estirpes não detetadas a 3X LoD, foram efetuados testes adicionais a concentrações mais elevadas até ser observada uma positividade de 100%. A Tabela 3 mostra a concentração mais baixa de cada estirpe na qual foi observada uma positividade de 100%.

*Tabela 3: Resumo de inclusividade/reatividade para os analitos do GI Expanded Bacterial Assay*

Organismo	ATCC# ou origem	Estirpe/Serovar/Serótipo/ Propriedades antigénicas	Concentração de teste (3X LoD) (CFU/ml)	
			Tubo multitemplo Aptima	Fezes preservadas
<i>Yersinia enterocolitica</i>	BEI NR-207	CDC 497-70, O:8	282	5640
	BEI NR-212	NCTC 11175, O:3	282	5640
	23715	Billups-1803-68, O:8	282	5640
	49 397	1375, O:8 <sup>c</sup>	282	5640
	NCTC 10463	P 77, O:5, 27	282	5640
	CCUG 4588	Tipo 2, O:9	282	5640
	CCUG 8050	N/A	282	5640
	CCUG 8232	Tipo 5, O:1, 2, 3   O:2, 3   O:3/XI	282	5640
	CCUG 8234	Tipo 4	282	5640
	55 075	O:9	282	5640
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	27 729	WA, Tipo 1, O:8	282	5640
	BEI NR-21990	48057, O4: K12	270	5400
	BEI NR-21992	KXV 755, O4: K41	270	5400
	BAA-242	VP250, O1:KUT	270	5400
	27 969	FC 1011	270	5400
	BAA-241	VP232, O4:K68	270	5400
	33 845	117 [CDC KC830]	270	5400
	43 996	NCTC 10884 [70/116655]	270	5400
	33 846	205 [9302]	270	5400
	49 529	MDL 3875-7-83, O4:K12	270	5400
	CCUG 34902	N/A	270	5400
	CCUG 67711	N/A	270	5400
	33 847	279 [11590]	270	5400

Tabela 3: Resumo de inclusividade/reatividade para os analitos do GI Expanded Bacterial Assay (continuação)

Organismo	ATCC# ou origem	Estirpe/Serovar/Serótipo/ Propriedades antigénicas	Concentração de teste (3X LoD) (CFU/ml)	
			Tubo multiteste Aptima	Fezes preservadas
<i>Vibrio vulnificus</i>	33 817	329 [CDC B3547], Biotipo 2	33	660
	BAA-86	CDC 9505-95	33	660
	CCUG 38297	N/A	33	660
	CCUG 47321	N/A	33	660
	29 306	CDC A1402 [P. Baumann 328]	33	660
	43 382	VVL1	33	660
	29 307	CDC A8694	33	660
<i>Vibrio cholerae</i>	CCUG 38297	N/A <sup>b</sup>	55	1110
	BEI NR-147	N 16961, O:1	99	1980
	BEI NR-148	CVD 101, O:1	99	1980
	BEI NR-149	Nanking 32/123, O:2	99	1980
	BEI NR-152	Nanking 32/124 (NCTC 8042), O:7	99	1980
	14033	NCTC 8457 [R. Hugh 1092], O1, Inaba	99	1980
	9459	AMC 20-A-10 [R. Hugh 583], Inaba	99	1980
	CCUG 2573	NAG/NCV	99	1980
	CCUG 2569	NAG/NCV	99	1980
	CCUG 4070	Não O-1	99	1980
	CCUG 21589	18	99	1980
	CCUG 56875	N/A	99	1980
STEC O157: H7	CCUG 53725	O1/O139	99	1980
	CCUG14542	NA	99	1980
	9458	AMC 20-A-41 [R. Hugh 582], Ogawa	99	1980
	25 870	569B	99	1980
	43 890	CDC C984 [CDC 3526-87], H7	159	3180
	43 895	CDC EDL 933, H7	159	3180
	43 894	CDC EDL 932, H7	159	3180
	700 927	EDL 933, H7:K-	159	3180
	700 375	CDC 94-G7771, NM	1197	23 940
	700 377	CDC 92-3099, NM	1197	23 940
STEC O157: NM	700 378	CDC 92-3073, NM	1197	23 940
	AR Bank # 427 <sup>a</sup>	N/A	1197	23 940
	AR Bank # 428 <sup>a</sup>	N/A	1197	23 940
	AR Bank # 429 <sup>a</sup>	N/A	1197	23 940
	AR Bank # 430 <sup>a</sup>	N/A	1197	23 940

Tabela 3: Resumo de inclusividade/reatividade para os analitos do GI Expanded Bacterial Assay (continuação)

Organismo	ATCC# ou origem	Estirpe/Serovar/Serótipo/ Propriedades antigénicas	Concentração de teste (3X LoD) (CFU/ml)	
			Tubo multiteste Aptima	Fezes preservadas
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	14 030	CDC 16408 [Ferguson and Henderson C27, RH 864], O:17	195	3900
	51 903	GNI 14 <sup>c</sup>	195	3900
	51 572	CIP 69.35 [2886]	195	3900
	CCUG 7041A	O17: H2	195	3900
	CCUG 9221	O17	195	3900
	CCUG 14309	O17: H2	195	3900
	CCUG 14597	N/A	195	3900

CFU = unidades formadoras de colônias.

<sup>a</sup> Estas estirpes foram avaliadas utilizando o LoD mais elevado dos 2 serotipos, que é o serotipo NM.

<sup>b</sup> Para esta estirpe, foi observada uma positividade de 100% a ~ 5X LoD. A análise *in silico* mostrou 100% de homologia com a região de amplificação.

<sup>c</sup> Estirpes utilizadas para estabelecer o LoD.

## Inclusividade/Reatividade – Análise *in silico*

A inclusividade do Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay foi avaliada utilizando a análise de inclusão *in silico* para cada analito. A análise *in silico* foi realizada utilizando sequências de analito disponíveis na base de dados do NCBI e na base de dados de sequências de shotgun do genoma completo. Para cada analito, as sequências de oligonucleotídeos correspondentes (primers e sondas) foram avaliadas em relação às sequências da base de dados. Todas as sequências com comprimentos insuficientes (não abrangendo a totalidade da região do amplicon) foram excluídas da análise.

Com base na análise *in silico* de todas as sequências disponíveis até 30 de maio de 2023 nas bases de dados, prevê-se que o Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay detete 99,9% de 1054 sequências de *Yersinia Enterocolitica*, 99,5% de 1337 sequências de *Vibrio parahaemolyticus*, 99,1% de 1180 sequências de *Vibrio vulnificus*, 98,0% de 1189 sequências de *Vibrio cholerae*, 100% de 2004 sequências de STEC O157 e 91,5% de 47 sequências de *Plesiomonas shigelloides* avaliadas.

## Especificidade analítica: reatividade cruzada e interferência microbiana – Ensaio em meio húmido

A especificidade analítica (reatividade cruzada) e a interferência microbiana do Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay foram avaliadas na presença de microrganismos não visados que estão filogeneticamente relacionados com os analitos do ensaio ou que se encontram potencialmente em espécimes clínicos. Os painéis constituídos por 109 bactérias, vírus, parasitas e leveduras listados na Tabela 4 foram testados na matriz CBS negativa processada, na ausência e na presença dos analitos do Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay a 3X LoD. Exceto quando indicado, as bactérias, leveduras e parasitas foram avaliados a  $10^6$  CFU/ml ou  $10^6$  cópias de rRNA/ml ou  $10^6$  células/ml; os vírus foram avaliados a  $10^5$  TCID<sub>50</sub>/ml. Se se observou reatividade cruzada ou interferência nos testes iniciais, o organismo foi testado em concentrações mais baixas até se observar o resultado esperado. Não foi observada qualquer reatividade cruzada ou interferência microbiana com nenhum dos organismos testados no Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay nas concentrações indicadas.

Tabela 4: Microrganismos testados para reatividade cruzada e interferência microbiana

Micro-organismo	Concentração de teste	Micro-organismo	Concentração de teste
<i>Arcobacter cryaerophilus</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Enterococcus faecalis</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Enterobacter aerogenes</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Enterobacter cloacae</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Trabulsiella guamensis</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Escherichia fergusonii</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	10 <sup>6</sup> cópias de rRNA/ml	<i>Escherichia hermanii</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Escherichia coli</i> (não-shigatoxigénica)	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Escherichia vulneris</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Giardia lamblia</i> BG-A <sup>a</sup>	10 <sup>6</sup> cópias/ml	<i>Gardnerella vaginalis</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Cyclospora</i> <sup>a</sup>	10 <sup>6</sup> cópias/ml	<i>Helicobacter pylori</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Cryptosporidium</i> <sup>a</sup>	10 <sup>6</sup> cópias/ml	<i>Klebsiella oxytoca</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Norovírus (Noro GII)</i> <sup>a</sup>	10 <sup>6</sup> cópias/ml	<i>Klebsiella ozaenae</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Astrovírus</i> <sup>a</sup>	10 <sup>6</sup> cópias/ml	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Sapovírus (GII)</i> <sup>a</sup>	10 <sup>5</sup> cópias/ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Enterovírus (Ent V)</i> <sup>a</sup>	10 <sup>5</sup> cópias/ml	<i>Lactobacillus crispatus</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Rinovírus</i> <sup>a</sup>	10 <sup>5</sup> cópias/ml	<i>Lactococcus lactis</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Coronavírus 229E</i>	10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Listeria grayi</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Coxsakeivírus tipo B4</i>	10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Adenovírus Tipo 7A</i>	10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	<i>Morganella morganii</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Rotavírus</i> <sup>A</sup>	10 <sup>5</sup> cópias/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Anaerococcus tetradius</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Peptostreptococcus micros</i>	10 <sup>6</sup> cópias de rRNA/ml
<i>Abiotrophia defectiva</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Photobacterium damselae</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Acinetobacter baumannii</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Prevotella bivia</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Prevotella melaninogenica</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Aeromonas hydrophila</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	10 <sup>6</sup> cópias de rRNA/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Proteus penneri</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Anaerococo vaginalis</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Providencia alcalifaciens</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Arcobacter butzleri</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Providencia rettgeri</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Bacillus cereus</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Providencia stuartii</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Bacteroides vulgatus</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Serratia liquefaciens</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Serratia marcescens</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Bifidobacterium longum</i>	10 <sup>6</sup> cópias de rRNA/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml

Tabela 4: Microrganismos testados para reatividade cruzada e interferência microbiana (continuação)

Micro-organismo	Concentração de teste	Micro-organismo	Concentração de teste
<i>Campylobacter fetus</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Campylobacter hyoilealis</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Campylobacter rectus</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Streptococcus anginosus</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Campylobacter sputorum</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Yersinia bercovieri</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Citrobacter freundii</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Citrobacter koseri</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Yersinia rohdei</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Clostridium difficile</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Campylobacter lari</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Entamoeba histolytica</i>	10 <sup>4</sup> células/ml
<i>Clostridium ramosum</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Megasphaera elsdenii</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Clostridium sordellii</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Chlamydia trachomatis</i>	10 <sup>5</sup> IFU/ml
<i>Clostridium tertium</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml <sup>b</sup>	<i>Leptotrichia buccalis</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Collinsella aerofaciens</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Cytomegalovirus</i>	10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Salmonella enterica</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Cronobacter sakazakii</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Campylobacter jejuni</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Edwardsiella tarda</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Shigella sonnei</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Egglerthella lenta</i>	10 <sup>6</sup> cópias de rRNA/ml	STEC - <i>stx1</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
STEC - <i>stx2</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Vibrio mimicus</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Vibrio fluvialis</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Yersinia frederiksenii</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Vibrio furnissii</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Yersinia kristensenii</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml
<i>Vibrio metschnikovii</i>	10 <sup>6</sup> CFU/ml	<i>Vibrio alginolyticus</i> <sup>b</sup>	10 <sup>4</sup> CFU/ml

CFU = unidades formadoras de colónias, IFU = unidades formadoras de inclusão, cópias de rRNA = cópias de ácido ribonucleico ribossómico, TCID<sub>50</sub> = dose infeciosa mediana em cultura de tecidos.

<sup>a</sup> Foram utilizadas transcrições *in vitro* para avaliar a reatividade cruzada e a interferência microbiana, uma vez que não se encontram facilmente disponíveis vírus em cultura ou ácido nucleico purificado de genoma completo.

<sup>b</sup> A reatividade cruzada foi observada em concentrações de  $\geq 10^5$  CFU/ml.

## Coinfeção/interferência competitiva

A interferência competitiva no Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay foi avaliada em triplicado usando pares de analitos de ensaio em concentrações baixas/altas em matriz CBS negativa processada. O analito de baixa concentração foi testado a 3X LoD contra um analito de alta concentração a  $10^6$  CFU/ml. Além disso, os analitos também foram testados na ausência de um segundo analito.

Se foi observada menos de 100% de positividade para o analito de baixa concentração, o analito de alta concentração foi diluído até ser atingida uma concentração em que 100% de positividade foi alcançada para o analito de baixa concentração. A concentração mais elevada de analito concorrente em que o analito de baixa concentração manteve uma positividade de 100% é apresentada na Tabela 5. Quando os analitos foram testados em alta concentração, todos os resultados para outros analitos mantiveram a positividade esperada; não foi observada qualquer interferência concorrencial.

Tabela 5: Resumo dos resultados da coinfeção

Analito 1		Analito 2		<i>Yersinia</i> % Pos	<i>Vibrio</i> % Pos	STEC O157 % Pos	<i>Plesiomonas</i> % Pos
Nome	3X LoD (CFU/ml) <sup>a</sup>	Nome	Conc. elevada (CFU/ml) <sup>1</sup>				
Yersinia	282	Negativo	NA	Negativo	NA	0%	0%
		Nenhum	0	100%	0%	0%	0%
		<i>Vibrio</i> <sup>b</sup>	$10^4$	100%	100%	0%	0%
		STEC O157	$10^6$	100%	0%	100%	0%
Vibrio	270	<i>Plesiomonas</i>	$10^6$	100%	0%	0%	100%
		Nenhum	0	0%	100%	0%	0%
		<i>Yersinia</i>	$10^6$	100%	100%	0%	0%
		STEC O157	$10^6$	0%	100%	100%	0%
STEC O157	1197	<i>Plesiomonas</i>	$10^6$	0%	100%	0%	100%
		Nenhum	0	0%	0%	100%	0%
		<i>Yersinia</i>	$10^6$	100%	0%	100%	0%
		<i>Vibrio</i> <sup>b</sup>	$10^4$	0%	100%	100%	0%
<i>Plesiomonas</i>	195	<i>Plesiomonas</i>	$10^6$	0%	0%	100%	100%
		Nenhum	0	0%	0%	0%	100%
		<i>Yersinia</i>	$10^6$	100%	0%	0%	100%
		<i>Vibrio</i> <sup>b</sup>	$10^6$	0%	100%	0%	100%
Nenhum	0	STEC O157	$10^6$	0%	0%	100%	100%
		<i>Yersinia</i>	$10^6$	100%	0%	0%	0%
		<i>Vibrio</i>	$10^6$	0%	100%	0%	0%
		STEC O157	$10^6$	0%	0%	100%	0%
<i>Plesiomonas</i>	195	<i>Plesiomonas</i>	$10^6$	0%	0%	0%	100%

CFU = unidades formadoras de colónias, Conc = concentração, Pos = positivo.

<sup>a</sup> Concentração de analito em tubo multitemplo Aptima.

<sup>b</sup> Foram observados resultados positivos inferiores a 100% para o analito 1 com *Vibrio* a  $\geq 10^5$  CFU/ml.

## Interferência

Os potenciais efeitos inibitórios de substâncias endógenas e exógenas que podem estar presentes numa amostra foram avaliados no Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay. Concentrações clinicamente relevantes de substâncias potencialmente interferentes foram adicionadas à matriz CBS negativa processada e testadas na ausência e na presença de analitos GI Expanded Bacterial Assay a 3X LoD. Os testes foram realizados em triplicado. As substâncias e as concentrações de teste são apresentadas na Tabela 6.

Não foi observado qualquer impacto no desempenho do Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay para nenhuma das substâncias nas concentrações testadas.

*Tabela 6: Substâncias testadas quanto a interferências*

<b>Tipo de substância</b>	<b>Nome genérico</b>	<b>Ingrediente(s) ativos(s)</b>	<b>Concentração de ensaio<sup>a, b, c</sup></b>
Antibióticos	Amoxicilina	Amoxicilina	0,7 µg/ml
	Ampicilina	Ampicilina	0,9 µg/ml
	Doxiciclina	Doxiciclina	0,2 µg/ml
	Metronidazol	Metronidazol	1,5 µg/ml
	Neosporin®	Sulfato de polimixina B, bacitracina-zinco, sulfato de neomicina	1,3% p/v
Antimicrobianos e antifúngicos	Toalhetes antissépticos BZK	Cloreto de benzalcônio	1,3% v/v
	Nistatina	Nistatina	1,3% v/v
	Suposório Dulcolax®	Bisacodil	75 ng/ml
	Colace®	Docusato de sódio	3,0 µg/ml
Laxantes e amaciadores de fezes	Enema de óleo mineral Fleet®	Óleo mineral	1,3% v/v
	Ex-Lax®	Senósidos	0,8 µg/ml
	Miralax®	Polietilenoglicol 3350	0,1 mg/ml
	Leite de magnésia	Hidróxido de magnésio, Hidróxido de alumínio	1,3% v/v
	Visicol®	Fosfato de sódio	53 ng/ml
Antidiarreico	Imodium	Cloridrato de loperamida	0,1 µg/ml
Antiprurido	Vagisil®	Benzocaína	1,3% p/v
	Preparation H®	Hidrocortisona	1,3% p/v
Anti-inflamatório	Cloridrato de fenilefrina (para hemorroidas)	Cloridrato de fenilefrina	0,4 ng/ml
	Mesalazina (apenas Rx, para a doença de Crohn/colite ulcerosa)	Ácido salicílico	0,4 µg/ml
	Aleve®	Naproxeno sódico	4,5 µg/ml

Tabela 6: Substâncias testadas quanto a interferências (continuação)

Tipo de substância	Nome genérico	Ingrediente(s) ativos(s)	Concentração de ensaio <sup>a, b, c</sup>
Antiácido	Pepto-Bismol®	Subsalicilato de bismuto	1,3% v/v
	Tums®	Carbonato de cálcio	55 µg/ml
Material de contraste radiopaco	Sulfato de bário	Sulfato de bário	0,1 mg/ml
Lubrificantes e protetores da pele	Lubrificante pessoal de geleia de glicerina K-Y®	Glicerina	1,3% p/v
	Vaseline® Original 100% Pura Vaseline Branca	Petrolato	1,3% p/v
	Desitin®	Óxido de zinco	1,3% p/v
Espermicida	Gel contraceptivo vaginal Options Conceptrol®	Nonoxinol-9	1,3% p/v
Endógeno	Colesterol	Colesterol	50 µg/ml
	Ácidos gordos	Ácido palmítico	16 µg/ml
	Ácidos gordos	Ácido esteárico	34 µg/ml
	Triglicéridos totais (Gordura fecal, intralipídica)	Triglicéridos	1,3% v/v
	Bílis humana	Bilirrubina conjugada	5,0 µg/ml
	Urina	Urina humana	1,3% v/v
	Sangue total humano	Sangue/hemoglobina	1,3% v/v
	Mucina	Proteína de mucina purificada	0,05% p/v

<sup>a</sup> Concentração de analito em tubo multitemplo Aptima.

<sup>b</sup> v/v: volume por volume.

<sup>c</sup> p/v peso por volume.

Os espécimes de fezes preparados em vários meios de conservação foram avaliados quanto ao potencial impacto no desempenho do Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay. Os meios conservantes avaliados incluem 10 tipos diferentes de meios de transporte Cary-Blair de diferentes fornecedores e meios conservantes contendo fixadores mostrados na Tabela 7. Todos os meios foram testados com analitos GI Expanded Bacterial Assay a 3X LoD. Foi observado um desempenho comparável com todos os meios Cary-Blair. Foi observada uma interferência comparável quando as amostras foram processadas em meios que continham fixadores.

Tabela 7: Meios conservantes de fezes testados quanto a interferências

Meios Cary-Blair	
Meio de cultura e sensibilidade (C&S)	Meio de protocolo Cary-Blair
Meio de transporte Cary-Blair c/ indicador	Meios de transporte entéricos (ETM)
Para-Pak® C&S	Meio Cary-Blair Puritan® 2 ml <sup>a</sup>
Para-Pak® Enteric Plus	Meio Cary-Blair Puritan® 5 ml <sup>a</sup>
Frasco para transporte de fezes Cardinal Health™ C&S	Sistema de recolha, transporte e preservação Copan® FecalSwab®
Meio fixador (foi observada interferência)	
Formalina tamponada Fisher® a 10%	
Formalina tamponada Para-Pak® a 10%	
Para-Pak® LV-PVA	

<sup>a</sup> O desempenho clínico não foi estabelecido para estes meios.

## Contaminação por transferência

O Panther Fusion GI Bacterial Assay e o GI Expanded Bacterial Assay pertencem à mesma família de ensaios que utilizam as fezes Cary-Blair como tipo de amostra e seguem etapas idênticas de processamento do ensaio. A contaminação por transferência foi avaliada usando o Panther Fusion GI Bacterial Assay como um ensaio representativo e demonstrou uma taxa de contaminação de 0%.

## Precisão/repetibilidade intralaboratorial

O Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay com precisão laboratorial foi avaliado com um painel de 5 membros constituído por analitos de ensaio em matriz CBS negativa processada. O painel de 5 membros incluiu 1 membro do painel negativo, 2 de analito único (*Yersinia*) e 2 multianalito (com *Vibrio*, STEC O157 e *Plesiomonas*). Os painéis foram testados por 3 operadores em 2 execuções por dia, utilizando 3 lotes de reagentes em 3 Panther Fusion Systems durante 9 dias.

Os membros do painel são descritos na Tabela 8, juntamente com um resumo da concordância com os resultados esperados, Ct médio, análise da variabilidade entre lotes de reagentes, operadores, instrumentos, dias, entre e dentro de execuções e global (total).

Tabela 8: Resumo da análise da variabilidade Ct

Painel	Descrição	Analito	Concordante/N	Concordância % <sup>a</sup>	Ct médio	Entre lotes		Entre instrumentos		Entre operadores		Entre dias		Entre execuções		Intra-execução		Total	
						DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
1	Negativo (Controlo interno)	Negativo (Controlo 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	Pos. baixo (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	Pos. mod. (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	0,00	0,41	1,23	0,42	1,26
4	Pos. baixo (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	0,00	<0,01	0,03	0,25	0,73	0,26	0,78
5	Pos. mod. (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	0,00	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 = limite cíclico, CV = coeficiente de variação, Mod = moderado, N = tamanho da amostra, Pos = positivo, DP = desvio padrão.

<sup>a</sup> Concordância com o resultado esperado de positividade do painel.

## Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay foi avaliada em 3 locais dos EUA usando 1 membro negativo do painel e 4 membros do painel positivos para 1 ou 3 alvos. Os testes foram realizados durante 5 dias por 6 operadores (2 em cada local) utilizando 1 lote de reagentes de ensaio. Cada execução incluiu 3 réplicas de cada membro do painel.

Um membro negativo do painel foi criado usando uma matriz composta por espécimes de fezes negativos para todos os alvos de ensaio preservados em meios Cary-Blair processados em STM. Os membros positivos do painel foram criados enriquecendo as concentrações de 1,5X LoD (baixo positivo) ou 3X LoD (moderadamente positivo) dos analitos alvo na matriz negativa.

A concordância com os resultados esperados foi de 100% para todos os componentes dos membros do painel para *Yersinia*, *Vibrio*, STEC O157 e *Plesiomonas* (Tabela 9).

*Tabela 9: Concordância dos resultados do Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay com os resultados esperados*

Concordância com os resultados esperados			
Descrição	Analito	N	% (IC de 95%)
Neg	Controlo interno	89/89	100 (95,9–100)
	<i>Yersinia</i> <sup>c</sup>	90/90	100 (95,9–100)
	<i>Vibrio</i> <sup>c</sup>	90/90	100 (95,9–100)
	STEC O157	90/90	100 (95,9–100)
	<i>Plesiomonas</i> <sup>c</sup>	90/90	100 (95,9–100)
Baixo Pos <sup>a</sup>	<i>Yersinia</i> <sup>c,d</sup>	90/90	100 (95,9–100)
	<i>Vibrio</i> <sup>c</sup>	90/90	100 (95,9–100)
	STEC O157	90/90	100 (95,9–100)
	<i>Plesiomonas</i> <sup>c</sup>	90/90	100 (95,9–100)
Pos. mod. <sup>b</sup>	<i>Yersinia</i> <sup>c,d</sup>	90/90	100 (95,9–100)
	<i>Vibrio</i> <sup>c</sup>	90/90	100 (95,9–100)
	STEC O157	90/90	100 (95,9–100)
	<i>Plesiomonas</i> <sup>c</sup>	90/90	100 (95,9–100)

IC = intervalo de confiança da pontuação, Mod = moderado, N = tamanho da amostra, Neg = negativo, Pos = positivo.

<sup>a</sup> Baixo Pos = Todos os alvos são 1,5X LoD.

<sup>b</sup> Pos. mod. = Todos os alvos são 3X LoD.

<sup>c</sup> As estirpes de *Yersinia enterocolitica*, STEC O157 e *Plesiomonas shigelloides* foram utilizadas para construir os painéis positivos.

<sup>d</sup> Foi obtido um (1) resultado falso-positivo de *Vibrio* para um membro do painel moderadamente positivo de *Yersinia*.

A variabilidade do sinal foi medida como %CV dos valores de Ct. A variabilidade total do sinal foi de ≤1,61% (DP ≤0,55) para todos os componentes do painel (Tabela 10). Para as fontes de variação, exceto o fator "intraexecuções", os valores de %CV foram ≤1,03% para todos os componentes do painel. A variabilidade do sinal foi de ≤1,01% (DP ≤0,33) para os controlos positivos do Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay (Tabela 11).

Tabela 10: Variabilidade do sinal do Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay GI por alvo e concentração

Descrição	Analito	N	Entre instalações		Entre operador/ execução <sup>c</sup>		Entre dias		Intra- execução		Total		
			Ct médio	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
Baixo Pos <sup>a</sup>	<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
Pos. mod. <sup>b</sup>	<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 = limite cíclico, CV = coeficiente de variação, Mod = moderado, N = tamanho da amostra, Pos = positivo, DP = desvio padrão.

Nota: A análise foi realizada usando o procedimento SAS MIXED, que aplica um limite inferior de 0 a todos os componentes de variância no modelo por padrão. Se um componente de variância for 0, o DP e %CV serão exibidos como 0,00

<sup>a</sup> Baixo Pos = Todos os alvos são 1,5X LoD.

<sup>b</sup> Pos. mod. = Todos os alvos são 3X LoD.

<sup>c</sup> Entre operadores pode ser confundido com Entre execuções; assim, as estimativas Entre operadores e Entre execuções são combinadas em Entre operadores/execuções.

Tabela 11: Variabilidade do sinal dos controlos positivos do Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay

Controlo	Analito	N	Entre instalações		Entre operadores		Entre dias		Intra- dias		Total		
			Ct médio	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	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 = limite cíclico, CV = coeficiente de variação, N = tamanho da amostra, Pos = positivo, DP = desvio padrão.

Nota: A análise foi realizada usando o procedimento SAS MIXED, que aplica um limite inferior de 0 a todos os componentes de variância no modelo por padrão. Se um componente de variância for 0, o DP e %CV serão exibidos como 0,00.

## Desempenho clínico

Foi realizado um estudo multicêntrico utilizando espécimes de fezes remanescentes em meio conservante Cary-Blair recolhidas como parte do cuidado de rotina de pacientes em 10 clínicas dos EUA de pacientes pediátricos ou adultos com suspeita de gastroenterite aguda. Todos os espécimes foram testados com o Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay e com ensaios comparadores: uma PCR mais sequenciação bidirecional (executada em duplicado) para STEC O157 e um teste de amplificação de ácido nucleico (NAAT) aprovado pela FDA para todos os outros alvos. Um NAAT alternativo aprovado pela FDA foi usado para testes de resolução discordante, se aplicável. A percentagem de concordância positiva (PPA) e negativa (NPA), com os respetivos ICs de 95% bilaterais, foi calculada em relação aos resultados do comparador, por alvo e por categoria de amostra.

Um total de 1548 espécimes prospektivos e 251 espécimes retrospectivos foram incluídos no estudo; 94 espécimes foram excluídos das análises de desempenho (por exemplo, indivíduos duplicados, resultados inválidos de Panther Fusion GI Expanded Bacterial ou comparadores para todos os alvos). Foram avaliados mais 189 espécimes artificiais para complementar os dados prospektivos e retrospectivos para todos os alvos. Dos 1919 espécimes testados em ensaios bacterianos expandidos válidos do Panther Fusion GI, 36 (1,9%) apresentaram resultados iniciais inválidos. Após o novo teste, 25 dos 36 espécimes apresentaram resultados válidos, totalizando 11 (0,6%) espécimes com resultados finais inválidos. O conjunto de dados final consistiu em 1894 espécimes avaliáveis; nem todos foram avaliáveis para todos os analitos. As informações demográficas para os 1705 espécimes prospektivos e retrospectivos avaliáveis são fornecidas na Tabela 12.

Tabela 12: Resumo dos dados demográficos

	N total (%)	N prospetivo (%)	N retrospectivo (%)
Espécimes totais	1705	1523	182
Sexo	Feminino	888 (52,1)	793 (52,1)
	Masculino	817 (47,9)	730 (47,9)
Grupo etário	0 a 28 dias	7 (0,4)	7 (0,5)
	29 dias a <2 anos	74 (4,3)	67 (4,4)
	2 a 5 anos	55 (3,2)	50 (3,3)
	6 a 11 anos	68 (4,0)	66 (4,3)
	12 a 17 anos	73 (4,3)	71 (4,7)
	18 a 21 anos	47 (2,8)	44 (2,9)
	22 a 64 anos	825 (48,4)	724 (47,5)
	≥65 anos	556 (32,6)	494 (32,4)
			62 (34,1)

N = tamanho da população.

As características de desempenho para deteção de *Yersinia*, *Vibrio*, STEC O157 e *Plesiomonas* são mostradas da Tabela 13 até à Tabela 16.

Tabela 13: Desempenho Clínico – *Yersinia* spp.

Origem do espécime	N	TP	FP	TN	FN	Prevalência <sup>a</sup> (%)	% de PPA (IC de 95%) <sup>b</sup>	% de NPA (IC de 95%) <sup>b</sup>
Prospectivo (fresco)	1507	10	9 <sup>c</sup>	1487	1 <sup>d</sup>	0,7	90,9 (62,3, 98,4)	99,4 (98,9, 99,7)
Retrospectivo (congelado)	182	15	3 <sup>e</sup>	164	0	N/A <sup>f</sup>	100 (79,6, 100)	98,2 (94,9, 99,4)
Artificial (congelado)	189	63	0	126	0	N/A <sup>f</sup>	100 (94,3, 100)	100 (97,0, 100)

IC = intervalo de confiança, FN = falso negativo, FP = falso positivo, N = tamanho da amostra,  
NPA = concordância percentual negativa, PPA = concordância percentual positiva, TN = verdadeiro negativo,  
TP = verdadeiro positivo.

<sup>a</sup> Prevalência do estudo comunicada com base em testes comparadores.

<sup>b</sup> Pontuação IC.

<sup>c</sup> 6 de 9 espécimes prospectivos falso-positivos discordantes foram positivos para *Yersinia* pelo NAAT alternativo.

<sup>d</sup> O espécime prospectivo falso-negativo discordante foi negativo para *Yersinia* pelo NAAT alternativo.

<sup>e</sup> Os 3 espécimes retrospectivos falso-positivos discordantes foram positivos para *Yersinia* pelo NAAT alternativo.

<sup>f</sup> O cálculo da prevalência não é aplicável.

Tabela 14: Desempenho clínico – *Vibrio* spp.

Origem do espécime	N	TP	FP	TN	FN	Prevalência <sup>a</sup> (%)	% de PPA (IC de 95%) <sup>b</sup>	% de NPA (IC de 95%) <sup>b</sup>
Prospectivo (fresco)	1507	1	0	1505	1 <sup>c</sup>	0,1	50,0 (9,5, 90,5)	100 (99,7, 100)
Retrospectivo (congelado)	182	9	6 <sup>d</sup>	167	0	N/A <sup>f</sup>	100 (70,1, 100)	96,5 (92,6, 98,4)
Artificial (congelado)	189	63	1 <sup>e</sup>	125	0	N/A <sup>f</sup>	100 (94,3, 100)	99,2 (95,6, 99,9)

IC = intervalo de confiança, FN = falso negativo, FP = falso positivo, N = tamanho da amostra,  
NPA = concordância percentual negativa, PPA = concordância percentual positiva, TN = verdadeiro negativo,  
TP = verdadeiro positivo.

<sup>a</sup> Prevalência do estudo comunicada com base em testes comparadores.

<sup>b</sup> Pontuação IC.

<sup>c</sup> O espécime prospectivo falso-negativo discordante foi positivo para *Vibrio* pelo NAAT alternativo.

<sup>d</sup> Todos os 6 espécimes retrospectivos falso-positivos discordantes foram positivos para *Vibrio* pelo NAAT alternativo.

<sup>e</sup> O espécime inventado falso-positivo discordante foi negativo para *Vibrio* pelo NAAT alternativo.

<sup>f</sup> O cálculo da prevalência não é aplicável.

Tabela 15: Desempenho clínico – STEC O157

Origem do espécime	N	TP	FP	TN	FN	Prevalência <sup>a</sup> (%)	% de PPA (IC de 95%) <sup>b</sup>	% de NPA (IC de 95%) <sup>b</sup>
Prospectivo (fresco)	1522	1	2 <sup>c</sup>	1519	0	0,1	100 (20,7, 100)	99,9 (99,5, 100)
Retrospectivo (congelado)	182	3	1 <sup>d</sup>	178	0	N/A <sup>g</sup>	100 (43,9, 100)	99,4 (96,9, 99,9)
Artificial (congelado)	189	62	1 <sup>e</sup>	125	1 <sup>f</sup>	N/A <sup>g</sup>	98,4 (91,5, 99,7)	99,2 (95,6, 99,9)

IC = intervalo de confiança, FN = falso negativo, FP = falso positivo, N = tamanho da amostra,  
NPA = concordância percentual negativa, PPA = concordância percentual positiva, TN = verdadeiro negativo,  
TP = verdadeiro positivo.

<sup>a</sup> Prevalência do estudo comunicada com base em testes comparadores.

<sup>b</sup> Pontuação IC.

<sup>c</sup> 1 de 2 espécimes prospectivos falso-positivos discordantes foi negativo para STEC O157 pelo NAAT alternativo.  
O outro discordante foi positivo para O157, mas negativo para *stx1/stx2* pelo NAAT alternativo.

<sup>d</sup> O espécime retrospectivo falso-positivo discordante foi positivo para STEC O157 pelo NAAT alternativo.

<sup>e</sup> O espécime artificial falso-positivo discordante foi negativo para STEC O157 pelo NAAT alternativo.

<sup>f</sup> O espécime artificial falso-negativo discordante não foi novamente testado pelo NAAT alternativo.

<sup>g</sup> O cálculo da prevalência não é aplicável.

Tabela 16: Desempenho clínico – *Plesiomonas*

Origem do espécime	N	TP	FP	TN	FN	Prevalência <sup>a</sup> (%)	% de PPA (IC de 95%) <sup>b</sup>	% de NPA (IC de 95%) <sup>b</sup>
Prospectivo (fresco)	1507	1	1 <sup>c</sup>	1505	0	0,1	100 (20,7, 100)	99,9 (99,6, 100)
Retrospectivo (congelado)	182	8	1 <sup>d</sup>	173	0	N/A <sup>f</sup>	100 (67,6, 100)	99,4 (96,8, 99,9)
Artificial (congelado)	189	62	0	126	1 <sup>e</sup>	N/A <sup>f</sup>	98,4 (91,5, 99,7)	100 (97,0, 100)

IC = intervalo de confiança, FN = falso negativo, FP = falso positivo, N = tamanho da amostra,  
NPA = concordância percentual negativa, PPA = concordância percentual positiva, TN = verdadeiro negativo,  
TP = verdadeiro positivo.

<sup>a</sup> Prevalência do estudo comunicada com base em testes comparadores.

<sup>b</sup> Pontuação IC.

<sup>c</sup> O espécime prospectivo falso-positivo discordante foi positivo para *Plesiomonas* pelo NAAT alternativo.

<sup>d</sup> O espécime retrospectivo falso-positivo discordante foi positivo para *Plesiomonas* pelo NAAT alternativo.

<sup>e</sup> O espécime inventado falso-negativo discordante não foi novamente testado pelo NAAT alternativo.

<sup>f</sup> O cálculo da prevalência não é aplicável.

Não foram detetadas coinfecções pelo Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay ou pelos métodos comparadores em espécimes prospectivos e retrospectivos.

## Bibliografia

1. As primeiras estimativas globais de sempre da OMS sobre doenças de origem alimentar revelam que as crianças com menos de 5 anos representam quase um terço das mortes. Publicado a 3 de dezembro de 2015. Consultado a 27 de maio de 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. Data de publicação desconhecida. Burden of foodborne illness: Overview. U.S. Department of Health & Human Services. Consultado a 27 de maio de 2025, de [https://archive.cdc.gov/www\\_cdc\\_gov/foodborneburden/estimates-overview.html](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. Atualizado a 14 de maio de 2024. Consultado a 2 de junho de 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. Consultado a 30 de maio de 2025. <https://ph.health.mil/cdt/cphe-cdt-e-coli-shiga-toxin-producing-ref.pdf>
8. Morris JG Jr, Horneman A. *Plesiomonas shigelloides* infections. Atualizado. Calderwood SB, Baron EL, eds. Atualizado a 13 de dezembro de 2023. Consultado a 30 de maio de 2025. <https://www.uptodate.com/contents/plesiomonas-shigelloides-infections/print>

## Informações de contacto



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



**Hologic BV**  
Da Vincielaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

**Promotor australiano**  
Hologic (Australia & New  
Zealand) Pty Ltd.  
Macquarie Park NSW 2113

Para obter o endereço de e-mail e o número de telefone do suporte técnico e do apoio ao cliente nacionais específicos, visite [www.hologic.com/support](http://www.hologic.com/support).

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion e logótipos associados são marcas comerciais e/ou marcas comerciais registadas da Hologic, Inc. e/ou das respetivas subsidiárias nos EUA e/ou outros países.

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

Este produto pode estar abrangido por uma ou várias patentes nos EUA, as quais podem ser consultadas em [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

©2025 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-34378-601 Rev. 002

2025-10

Histórico de revisões	Data	Descrição
AW-34378-601 Rev. 001	Agosto de 2025	<ul style="list-style-type: none"> <li>Versão inicial.</li> </ul>
AW-34378-601 Rev. 002	Outubro de 2025	<ul style="list-style-type: none"> <li>Para <i>Clostridium tertium</i> na Tabela 4, foi removida a nota de rodapé relativa à reatividade cruzada e atualizada a concentração do teste.</li> <li>Corrigida a concentração de 3X LoD para <i>Vibrio</i> na Tabela 5 (Resultados da coinfeção).</li> <li>Dados corrigidos para a Tabela 8 (Resumo da análise da variabilidade Ct).</li> <li>Corrigido o tamanho da amostra de controlo interno para a Tabela 9 (Concordância dos resultados do Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay com os resultados esperados).</li> <li>Adicionada nota de rodapé na Tabela 9 indicando que o STEC 0157 foi utilizado para construir painéis positivos.</li> <li>Pequenas edições de texto.</li> </ul>