

# GI Bacterial Assay (Panther Fusion™ System)

Istruzioni per l'uso

Solo per uso diagnostico in vitro

Solo per l'esportazione dagli USA

## SOMMARIO

|                                                                                    |           |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Informazioni generali</b>                                                       | <b>2</b>  |
| 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         |
| <b>Panther Fusion System</b>                                                       | <b>10</b> |
| 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        |
| <b>Controllo della qualità</b>                                                     | <b>14</b> |
| Controlli negativi e positivi                                                      | 14        |
| Controllo interno                                                                  | 14        |
| <b>Interpretazione dei risultati</b>                                               | <b>15</b> |
| <b>Limitazioni</b>                                                                 | <b>16</b> |
| <b>Prestazioni analitiche</b>                                                      | <b>17</b> |
| 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        |
| <b>Prestazioni cliniche</b>                                                        | <b>32</b> |
| <b>Bibliografia</b>                                                                | <b>35</b> |
| <b>Recapiti</b>                                                                    | <b>36</b> |

## 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.<sup>1</sup> 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.<sup>2</sup> La diarrea acuta è associata a costi sanitari stimati in più di 150 milioni di dollari.<sup>3</sup>

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.<sup>4</sup>

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.<sup>5</sup>

*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.<sup>6-7</sup>

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.<sup>8</sup> 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><br>(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](http://www.hologicsds.com). Per ulteriori informazioni sui simboli, consultare la legenda dei simboli all'indirizzo <http://www.hologic.com/package-inserts>.

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

## Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

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

| Reagente                                     | Conservazione a confezione chiusa | Stabilità a bordo/ a confezione aperta <sup>a</sup> | Conservazione a confezione aperta |
|----------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------|
| Panther Fusion GI Bacterial Assay Cartridge  | da 2 °C a 8 °C                    | 60 giorni                                           | da 2 °C a 8 °C <sup>b</sup>       |
| 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.

<sup>a</sup> 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.

<sup>b</sup> 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 1 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 1 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    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|------------------|
| <b>Panther Fusion GI Bacterial Assay Cartridge, 96 test</b><br>Cartuccia del test Panther Fusion GI Bacterial Assay, 12 test, 8 per confezione                                                              | PRD-07113 | da 2 °C a 8 °C   |
| <b>Panther Fusion Internal Control-B, 960 Test</b><br>Provetta del Panther Fusion Internal Control-B, 4 per confezione                                                                                      | PRD-06234 | da 2 °C a 8 °C   |
| <b>Panther Fusion GI Bacterial Assay Controls</b><br>Provetta del Panther Fusion GI Bacterial Positive Control, 5 per confezione<br>Provetta del Panther Fusion Negative Control, 5 per confezione          | PRD-07116 | da 2 °C a 8 °C   |
| <b>Panther Fusion Extraction Reagent-B, 960 Test</b><br>Flacone di Panther Fusion Capture Reagent-B, 240 test, 4 per confezione<br>Flacone di Panther Fusion Enhancer Reagent-B, 240 test, 4 per confezione | PRD-06232 | da 15 °C a 30 °C |
| <b>Panther Fusion Elution Buffer, 2400 test</b><br>Confezione di Panther Fusion Elution Buffer, 1.200 test, 2 per confezione                                                                                | PRD-04334 | da 15 °C a 30 °C |
| <b>Panther Fusion Reconstitution Buffer I, 1920 test</b><br>Panther Fusion Reconstitution Buffer I, 960 test, 2 per confezione                                                                              | PRD-04333 | da 15 °C a 30 °C |
| <b>Panther Fusion Oil Reagent, 1920 test</b><br>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™<br>(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<br>contiene unità multiprovette (MTU), sacchetti di scarico, coperchi del contenitore di scarico, liquidi di dosaggio e reagenti Auto Detect <sup>a</sup>                                                                                                                        | 303096 (5.000 test)                                                                                        |
| Puntali, 1.000 µL, filtrati, rilevatori di liquido, conduttivi e monouso:<br><br>Non tutti i prodotti sono disponibili in tutte le aree geografiche. Contattare il rappresentante per informazioni specifiche sulla regione.                                                                                           | 901121 (10612513 Tecan)<br>903031 (10612513 Tecan)<br>MME-04134 (30180117 Tecan)<br>MME-04128<br>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)<br><br><b>Nota:</b> 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                                                                                                                                                                                                                                                                                             | —                                                                                                          |

<sup>a</sup> 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) <sup>a</sup> |                 |
|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------|
|                                                                                   | Provetta Aptima Multitest                | Feci conservate |
| <i>S. enterica subsp. enterica</i> , serovar <i>Typhimurium</i> , I, 4,5,12:i:1,2 | 48                                       | 960             |
| <i>Salmonella bongori</i> , 66:z41                                                | 109                                      | 2180            |
| <i>Campylobacter coli</i>                                                         | 16                                       | 320             |
| <i>Campylobacter jejuni subsp. jejuni</i>                                         | 25                                       | 500             |
| <i>Shigella sonnei</i>                                                            | 68                                       | 1360            |
| EIEC O29:NM                                                                       | 23                                       | 460             |
| STEC O26:H11 ( <i>stx1/stx2</i> )                                                 | 106                                      | 2120            |
| STEC O157:H7 ( <i>stx1/stx2</i> )                                                 | 20                                       | 400             |

CFU = unità formanti colonie.

<sup>a</sup> 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 configurazioni 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/<br>Proprietà antigeniche | Concentrazione del test (3 volte il LoD)<br>(CFU/mL) |                 |
|----------------------------------------------------------|--------------------|---------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------|
|                                                          |                    |                                                   | Provetta Aptima Multitest                            | Feci conservate |
| <i>Salmonella bongori</i>                                | 43975 <sup>a</sup> | CIP 82,33                                         | 327                                                  | 6540            |
|                                                          | 13.076             | Enteritidis, CDC K--1891                          | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 14028 <sup>a</sup> | Typhimurium, CDC 6516--60                         | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 15.791             | Sloterdijk                                        | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 15.611             | Vellore, V1796                                    | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 11.646             | Illinois, CDC                                     | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 8.391              | Thompson, 2988                                    | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 19.430             | Typhi, NCTC 8385                                  | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 7.378              | Panama, Hochberg 2460                             | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 6.962              | Newport, NCTC 129                                 | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 8.388              | Muenchen, 54                                      | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 8.326              | Heidelberg, 16                                    | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 9.712              | Saintpaul, 127                                    | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 8.387              | Montevideo, 623                                   | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 6.539              | Typhi, AMC                                        | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 9.150              | Paratyphi A                                       | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 10.719             | Paratyphi B, AMC 41-H-6                           | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 13.428             | Paratyphi C, CDC 3310-52                          | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 33.062             | Typhimurium, LJ211                                | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 13.311             | Typhimurium, NCTC 74                              | 144                                                  | 2880            |
| <i>Salmonella enterica</i><br>subsp. <i>enterica</i> (I) | 51.956             | Hadar, CDC 347                                    | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 51.741             | DUP-103                                           | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 10.721             | Javiana, ETS 146                                  | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 9.239              | Oranienburg, E1093                                | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 51.955             | Virchow, CDC 41                                   | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 51.957             | Agona, CDC 873                                    | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | BAA-2739           | Mississippi, CDC 2012K-0487                       | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 13.312             | Choleraesuis, NCTC 5735                           | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 700.136            | Braenderup, NCTC 5750                             | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | 15.480             | Dublin, HWS 51                                    | 144                                                  | 2880            |
|                                                          | CCUG 21280         | Schwarzengrund                                    | 144                                                  | 2880            |

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

| Organismo                                                     | ATCC# o fonte           | Ceppo/Serovar/Sierotipo/<br>Proprietà antigeniche | Concentrazione del test (3 volte il LoD)<br>(CFU/mL) |                 |
|---------------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------|
|                                                               |                         |                                                   | Provetta Aptima Multitest                            | Feci conservate |
| <i>Salmonella enterica</i><br>subsp. <i>salamae</i> (II)      | 6.959                   | NCTC 2206                                         | 144                                                  | 2880            |
|                                                               | Univ of Calgary<br>2425 | argC95                                            | 144                                                  | 2880            |
|                                                               | 700.148                 | NCTC 10252                                        | 144                                                  | 2880            |
|                                                               | 43.972                  | CIP 82,29                                         | 144                                                  | 2880            |
| <i>Salmonella enterica</i><br>subsp. <i>arizonae</i> (IIIa)   | 12.323                  | CDC 3153--55                                      | 144                                                  | 2880            |
|                                                               | 12.324                  | CDC 1089-53                                       | 144                                                  | 2880            |
|                                                               | 13.314                  | NCTC 8297                                         | 144                                                  | 2880            |
| <i>Salmonella enterica</i><br>subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb) | 12.325                  | CDC                                               | 144                                                  | 2880            |
|                                                               | 29.226                  | CDC 656/75                                        | 144                                                  | 2880            |
|                                                               | 43.973                  | CIP 82,31                                         | 144                                                  | 2880            |
| <i>Salmonella enterica</i><br>subsp. <i>houtenae</i> (IV)     | 29.932                  | 16:z4,z23: -                                      | 144                                                  | 2880            |
| <i>Salmonella enterica</i><br>subsp. <i>indica</i> (VI)       | 43.976                  | CIP 102501                                        | 144                                                  | 2880            |
|                                                               | Univ of Calgary<br>2430 | pyrE20                                            | 144                                                  | 2880            |
| <i>Shigella dysenteriae</i> (A)                               | 13.313                  | Tipo 1, NCTC 4837                                 | 204                                                  | 4080            |
|                                                               | 49.555                  | Tipo 13, CDC 8008-79                              | 204                                                  | 4080            |
|                                                               | 29.028                  | Tipo 3, CDC 3596-74                               | 204                                                  | 4080            |
|                                                               | 49.551                  | Tipo 12, CDC 2243-66                              | 204                                                  | 4080            |
|                                                               | 11.835                  | AMC 43--A--1                                      | 204                                                  | 4080            |
|                                                               | 9.361                   | Tipo 1, AMC 43-A-14                               | 204                                                  | 4080            |
|                                                               | 12.021                  | Tipo 8, CDC 2116-52                               | 204                                                  | 4080            |
|                                                               | 12.037                  | Tipo 9, CDC A-58:1646                             | 204                                                  | 4080            |
|                                                               | 49.547                  | Tipo 11, CDC 3883-66                              | 204                                                  | 4080            |
| <i>Shigella flexneri</i> (B)                                  | 29.903                  | Tipo 2a, 24570                                    | 204                                                  | 4080            |
|                                                               | 12.022                  | Tipo 2b, CDC 3591-52                              | 204                                                  | 4080            |
|                                                               | 9.199                   | Tipo 1a, AMC 43-G-68                              | 204                                                  | 4080            |
|                                                               | 33.948                  | 612-003                                           | 204                                                  | 4080            |
|                                                               | 11.836                  | Tipo 3, AMC 43-G-100                              | 204                                                  | 4080            |
|                                                               | 12.023                  | Tipo 4a, CDC 5380-52                              | 204                                                  | 4080            |
|                                                               | 12.025                  | Tipo 6, CDC 64                                    | 204                                                  | 4080            |
|                                                               | 700.930                 | Tipo 2a, 2457T                                    | 204                                                  | 4080            |

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

| Organismo                                           | ATCC# o fonte      | Ceppo/Serovar/Sierotipo/<br>Proprietà antigeniche | Concentrazione del test (3 volte il LoD)<br>(CFU/mL) |                 |
|-----------------------------------------------------|--------------------|---------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------|
|                                                     |                    |                                                   | Provetta Aptima Multitest                            | Feci conservate |
| <i>Shigella boydii</i> (C)                          | 8.700              | Tipo 2, NCTC 12985                                | 204                                                  | 4080            |
|                                                     | 29.928             | Tipo 10, C-10                                     | 204                                                  | 4080            |
|                                                     | 9.207              | Tipo 1, AMC 43-G-58                               | 204                                                  | 4080            |
|                                                     | BAA-1247           | Tipo 20, SH-108                                   | 204                                                  | 4080            |
|                                                     | 12.030             | Tipo 10, CDC 6336-52                              | 204                                                  | 4080            |
|                                                     | 12.028             | Tipo 8                                            | 204                                                  | 4080            |
|                                                     | 12.031             | Tipo 11, CDC 1624-54                              | 204                                                  | 4080            |
|                                                     | 9.905              | Tipo 7, AMC 4006                                  | 204                                                  | 4080            |
| <i>Shigella sonnei</i> (D)                          | 9.290              | AMC 43-GG9                                        | 204                                                  | 4080            |
|                                                     | 29930 <sup>a</sup> | WRAIR I virulento                                 | 204                                                  | 4080            |
|                                                     | 11.060             | 4.628                                             | 204                                                  | 4080            |
|                                                     | 29.031             | CDC 45-75                                         | 204                                                  | 4080            |
|                                                     | 25.931             | NCDC 1120-66                                      | 204                                                  | 4080            |
| <i>E. coli</i> enteroinvasivo<br>(EIEC)             | 43.893             | Tipo O124:NM, CDC EDL 1284                        | 69                                                   | 1380            |
|                                                     | BAA-2190           | Tipo O121, 98-3306                                | 69                                                   | 1380            |
|                                                     | 49.105             | Tipo O15, 1/1/7482                                | 69                                                   | 1380            |
|                                                     | 12.806             | Tipo O124:K72 (B17):H, CDC                        | 69                                                   | 1380            |
|                                                     | 43892 <sup>a</sup> | Tipo O29:NM, CDC EDL 1282                         | 69                                                   | 1380            |
| <i>Campylobacter jejuni</i><br>subsp. <i>jejuni</i> | 33.560             | CIP 702                                           | 75                                                   | 1500            |
|                                                     | 43.432             | Tipo O:4, MK7                                     | 75                                                   | 1500            |
|                                                     | 35.920             | BG 22                                             | 75                                                   | 1500            |
|                                                     | 43.459             | Tipo O:40, MPD570102                              | 75                                                   | 1500            |
|                                                     | 29.428             | VPI H840                                          | 75                                                   | 1500            |
|                                                     | 33.252             | C3692                                             | 75                                                   | 1500            |
|                                                     | 33291 <sup>a</sup> | AS-83-79                                          | 75                                                   | 1500            |
|                                                     | 700.819            | NCTC 11168                                        | 75                                                   | 1500            |
|                                                     | BAA-1062           | RM 1221                                           | 75                                                   | 1500            |
|                                                     | BAA-1234           | RM3193                                            | 75                                                   | 1500            |
|                                                     | 33.292             | AS-84-79                                          | 75                                                   | 1500            |
|                                                     | 35.918             | BG 177                                            | 75                                                   | 1500            |
|                                                     | 43.434             | Tipo O:6, C6                                      | 75                                                   | 1500            |
|                                                     | 43.435             | Tipo O:7, DPH-1                                   | 75                                                   | 1500            |
|                                                     | 43.449             | Tipo O:23, MK 198                                 | 75                                                   | 1500            |
|                                                     | 43.503             | UA466                                             | 75                                                   | 1500            |
|                                                     | 43.472             | Tipo O:5, CFJ29                                   | 75                                                   | 1500            |
|                                                     | 43.430             | Tipo O:2, CJC-25                                  | 75                                                   | 1500            |

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

| Organismo                                            | ATCC# o fonte       | Ceppo/Serovar/Sierotipo/<br>Proprietà antigeniche | Concentrazione del test (3 volte il LoD)<br>(CFU/mL) |                 |
|------------------------------------------------------|---------------------|---------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------|
|                                                      |                     |                                                   | Provetta Aptima Multitest                            | Feci conservate |
| <i>Campylobacter coli</i>                            | 33.559 <sup>a</sup> | CIP 7080 <sup>a</sup>                             | 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<br>Shiga tossina (O157) | 700.377             | O157:NM ( <i>stx2</i> ), CDC 92-3099              | 60                                                   | 1200            |
|                                                      | 700.927             | O157:H7:K- ( <i>stx1/stx2</i> ), EDL 933          | 60                                                   | 1200            |
|                                                      | 35150 <sup>a</sup>  | O157:H7 ( <i>stx1/stx2</i> ), EDL 931             | 60                                                   | 1200            |
|                                                      | 43.894              | O157:H7 ( <i>stx1/stx2</i> ), CDC EDL 932         | 60                                                   | 1200            |
|                                                      | 700.378             | O157:NM ( <i>stx1/stx2</i> ), CDC 92-3073         | 60                                                   | 1200            |
|                                                      | 43.890              | O157:H7 ( <i>stx1</i> ) CDC C984                  | 60                                                   | 1200            |
|                                                      | 43.895              | O157:H7 ( <i>stx1/stx2</i> ), CDC EDL 933         | 60                                                   | 1200            |

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

| Organismo                                             | ATCC# o fonte         | Ceppo/Serovar/Sierotipo/<br>Proprietà antigeniche | Concentrazione del test (3 volte il LoD)<br>(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                                                  | 6360            |
|                                                       | 700.840               | O111:H8 ( <i>stx1/stx2</i> ), B99BE001161         | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | 51.434                | O91:H21 ( <i>stx2</i> ), H414-36/89               | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-181               | O111:H8 ( <i>stx1/stx2</i> ), CDC 1999-3249       | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-180               | O111:H8 ( <i>stx1</i> ), CDC 1999-3302            | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-176               | O113:H21 ( <i>stx2</i> ), CDC 2001-3004           | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-177               | O113:H21 ( <i>stx1/stx2</i> ), CDC 2000-3159      | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-182               | O104:H21 ( <i>stx2</i> ), CDC 1994-3023           | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-1653 <sup>a</sup> | O26:H11 ( <i>stx1/stx2</i> ), EH1534              | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-2193              | O45:H2 ( <i>stx1</i> ), 2000-3039                 | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-2210              | O103:H2 ( <i>stx1</i> ), 2003-3112                | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-2211              | O145:H25 ( <i>stx2</i> ), 2003-3375               | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-2219              | O121:H19 ( <i>stx2</i> ), 2002-3211               | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-2222              | O145:Nonmotile ( <i>stx1/stx2</i> ), 2006-3142    | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-2326              | O104:H4 ( <i>stx2</i> ), TY-2482                  | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-2196              | O26:H11 ( <i>stx1/stx2</i> ), 2003-3014           | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-2215              | O103:H11 ( <i>stx1</i> ), 2006-3008               | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-2213              | O103:H25 ( <i>stx1</i> ), 2005-3546               | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-178               | O104:H21( <i>stx2</i> ), CDC 1994-3024            | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-184               | O111:H8 ( <i>stx1</i> ), CDC 2000-3025            | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-2217              | O146 ( <i>stx2</i> ), 10C-3114                    | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-179               | O111:H8 ( <i>stx1/stx2</i> ), CDC 1997-3215       | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-2129              | O145:H28 ( <i>stx2</i> ), TW07865                 | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-1652              | O145:H48 ( <i>stx2</i> ), EH1533                  | 318                                                  | 6360            |
|                                                       | BAA-2192              | O145:Nonmotile ( <i>stx1/stx2</i> ), 99-3311      | 318                                                  | 6360            |

CFU = unità formanti colonie.

<sup>a</sup> 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 2365 sequenze valutate di *Salmonella enterica*, il 96,43% di 392 sequenze valutate di *Campylobacter jejuni* il 99,09% di 1104 sequenze valutate di *Campylobacter coli*, il 100% di 1080 sequenze valutate di *Shigella sonnei*, il 100% di 1164 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 1019 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  $10^5$  TCID<sub>50</sub>/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 <sup>a</sup>                       | $10^6$ copie/mL               | <i>Escherichia hermanii</i>      | $10^6$ CFU/mL           |
| <i>Cyclospora</i> <sup>a</sup>                                 | $10^6$ copie/mL               | <i>Escherichia vulneris</i>      | $10^6$ CFU/mL           |
| <i>Cryptosporidium</i> <sup>a</sup>                            | $10^6$ copie/mL               | <i>Gardnerella vaginalis</i>     | $10^6$ CFU/mL           |
| <i>Norovirus</i> (Noro GI) <sup>a</sup>                        | $10^5$ copie/mL               | <i>Helicobacter pylori</i>       | $10^6$ CFU/mL           |
| <i>Astrovirus</i> <sup>a</sup>                                 | $10^5$ copie/mL               | <i>Klebsiella oxytoca</i>        | $10^6$ CFU/mL           |
| <i>Sapovirus</i> (GI) <sup>a</sup>                             | $10^5$ copie/mL               | <i>Klebsiella ozaenae</i>        | $10^6$ CFU/mL           |
| <i>Enterovirus</i> (Ent V) <sup>a</sup>                        | $10^5$ copie/mL               | <i>Klebsiella pneumoniae</i>     | $10^6$ CFU/mL           |
| <i>Rhinovirus</i> <sup>a</sup>                                 | $10^5$ copie/mL               | <i>Lactobacillus acidophilus</i> | $10^6$ CFU/mL           |
| <i>Coronavirus 229E</i>                                        | $10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL | <i>Lactobacillus crispatus</i>   | $10^6$ CFU/mL           |
| <i>Coxsackievirus</i> Type B4                                  | $10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL | <i>Lactococcus lactis</i>        | $10^6$ CFU/mL           |
| <i>Adenovirus</i> Type 7A                                      | $10^5$ TCID <sub>50</sub> /mL | <i>Listeria grayi</i>            | $10^6$ CFU/mL           |
| <i>Rotavirus</i> <sup>a</sup>                                  | $10^5$ copie/mL               | <i>Listeria monocytogenes</i>    | $10^6$ CFU/mL           |
| <i>Anaerococcus tetradius</i>                                  | $10^6$ CFU/mL                 | <i>Morganella morganii</i>       | $10^6$ CFU/mL           |

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

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

TCID<sub>50</sub> = dose infettiva delle colture tissutali mediana.

<sup>a</sup> 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.

<sup>b</sup> Nel test di interferenza è stata osservata una positività del 100% per *Salmonella*, *Shigella* e STEC a 10<sup>6</sup> CFU/mL e il 100% di positività è stato riscontrato per *Campylobacter* a ≤10<sup>4</sup> 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<br>% pos | Campylobacter<br>% pos | Shigella<br>% pos | STEC<br>% pos |
|---------------|---------------------------------|---------------|---------------------------------------|---------------------|------------------------|-------------------|---------------|
| Nome          | 3X LoD<br>(CFU/mL) <sup>a</sup> | Nome          | Conc elevata<br>(CFU/mL) <sup>a</sup> |                     |                        |                   |               |
| 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.

<sup>a</sup> 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 <sup>a b c</sup> |
|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| 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 magnesio                                                                  | 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 <sup>a b c</sup> |
|----------------------------------------|--------------------------------------------------|----------------------------|------------------------------------------|
| 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                                |

<sup>a</sup> Concentrazione della sostanza nella provetta Aptima Multitest.<sup>b</sup> v/v: volume per volume.<sup>c</sup> 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 <sup>a</sup>                                     |
| Para-Pak® Enteric Plus                                | Terreno Puritan® Cary-Blair 5mL <sup>a</sup>                                     |
| Fiala di trasporto delle feci Cardinal Health™ C&S    | Sistema di raccolta, trasporto e conservazione<br>Copan® FecalSwab® <sup>a</sup> |
| Terreni fissativi (è stata osservata un'interferenza) |                                                                                  |
| Fisher® formalina tamponata al 10%                    |                                                                                  |
| Para-Pak® formalina tamponata al 10%                  |                                                                                  |
| Para-Pak® LV-PVA                                      |                                                                                  |

<sup>a</sup> 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 10<sup>6</sup> CFU/mL o 9.714 volte il LoD) sono stati analizzati in 5 prove su 2 sistemi 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 % <sup>a</sup> | 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.<br>(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<br>(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.<br>(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.

<sup>a</sup> 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 <sup>a</sup> | <i>Salmonella</i> <sup>c</sup>     | 90/90                             | 100 (95,9-100) |
|                        | <i>Campylobacter</i> <sup>c</sup>  | 90/90                             | 100 (95,9-100) |
|                        | <i>Shigella</i> /EIEC <sup>c</sup> | 90/90                             | 100 (95,9-100) |
|                        | STEC <sup>c</sup>                  | 90/90                             | 100 (95,9-100) |
| Mod pos <sup>b</sup>   | <i>Salmonella</i> <sup>c</sup>     | 90/90                             | 100 (95,9-100) |
|                        | <i>Campylobacter</i> <sup>c</sup>  | 90/90                             | 100 (95,9-100) |
|                        | <i>Shigella</i> /EIEC <sup>c</sup> | 90/90                             | 100 (95,9-100) |
|                        | STEC <sup>c</sup>                  | 90/90                             | 100 (95,9-100) |

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

<sup>a</sup> Bassa pos. = Tutti i bersagli sono 1,5 volte il LoD.

<sup>b</sup> Mod pos = Tutti i bersagli sono 3 volte il LoD.

<sup>c</sup> *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 <sup>c</sup> |        | Tra giorni diversi |        | Nella stessa sessione analitica |        | Totale |        |
|------------------------|---------------|----|----------|------------------|--------|--------------------------------------------------------|--------|--------------------|--------|---------------------------------|--------|--------|--------|
|                        |               |    |          | DS               | CV (%) | DS                                                     | CV (%) | DS                 | CV (%) | DS                              | CV (%) | DS     | CV (%) |
| Bassa pos <sup>a</sup> | 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 <sup>b</sup>   | 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.

<sup>a</sup> Bassa pos. = Tutti i bersagli sono 1,5 volte il LoD.

<sup>b</sup> Mod pos = Tutti i bersagli sono 3 volte il LoD.

<sup>c</sup> 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 <sup>a</sup> (%) | PPA % (IC al 95%) <sup>b</sup> | NPA % (IC al 95%) <sup>b</sup> |
|--------------------------------|-------|----|----------------|-------|----------------|-----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Prospettivo (fresco)           | 1.520 | 33 | 2 <sup>c</sup> | 1.484 | 1 <sup>d</sup> | 2,2                         | 97,1 (85,1; 99,5)              | 99,9 (99,5; 100)               |
| Retrospettivo (congelato)      | 219   | 20 | 2 <sup>e</sup> | 197   | 0              | N/D <sup>f</sup>            | 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.

<sup>a</sup> Prevalenza dello studio riportata in base ai test di confronto.

<sup>b</sup> IC del punteggio.

<sup>c</sup> I 2 campioni biologici prospettivi falsi positivi discordanti sono risultati positivi per *Salmonella* con il NAAT alternativo.

<sup>d</sup> Il campione biologico prospettivo falso negativo discordante è risultato negativo per *Salmonella* con il NAAT alternativo.

<sup>e</sup> I 2 campioni biologici retrospettivi falsi positivi discordanti sono risultati positivi per *Salmonella* con il NAAT alternativo.

<sup>f</sup> Il calcolo della prevalenza non è applicabile.

Tabella 14: Prestazioni cliniche - *Campylobacter* spp.

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

<sup>a</sup> Prevalenza dello studio riportata in base ai test di confronto.

<sup>b</sup> IC del punteggio.

<sup>c</sup> I 2 campioni biologici prospettivi falsi positivi discordanti sono risultati negativi per *Campylobacter* con il NAAT alternativo.

<sup>d</sup> Il campione biologico prospettivo falso negativo discordante è risultato negativo per *Campylobacter* con il NAAT alternativo.

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

<sup>f</sup> Il calcolo della prevalenza non è applicabile.

Tabella 15: Prestazioni cliniche - *Shigella/EIEC*

| Origine del campione biologico | N     | VP | FP             | VN    | FN | Prevalenza <sup>a</sup> (%) | PPA % (IC al 95%) <sup>b</sup> | NPA % (IC al 95%) <sup>b</sup> |
|--------------------------------|-------|----|----------------|-------|----|-----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Prospettivo (fresco)           | 1.521 | 27 | 0              | 1.494 | 0  | 1,8                         | 100 (87,5; 100)                | 100 (99,7; 100)                |
| Retrospettivo (congelato)      | 219   | 19 | 1 <sup>c</sup> | 199   | 0  | N/D <sup>d</sup>            | 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.

<sup>a</sup> Prevalenza dello studio riportata in base ai test di confronto.

<sup>b</sup> IC del punteggio.

<sup>c</sup> Il campione biologico retrospettivo falso positivo discordante è risultato positivo per *Shigella/EIEC* con il NAAT alternativo.

<sup>d</sup> 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 <sup>a</sup> (%) | PPA % (IC al 95%) <sup>b</sup> | NPA % (IC al 95%) <sup>b</sup> |
|--------------------------------|-------|----|----------------|-------|----|-----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Prospettico (fresco)           | 1.520 | 7  | 5 <sup>c</sup> | 1.508 | 0  | 0,5                         | 100 (64,6; 100)                | 99,7 (99,2; 99,9)              |
| Retrospettivo (congelato)      | 219   | 39 | 8 <sup>d</sup> | 172   | 0  | N/D <sup>e</sup>            | 100 (91,0; 100)                | 95,6 (91,5; 97,7)              |
| Artificiale (congelato)        | 126   | 63 | 0              | 63    | 0  | N/D <sup>e</sup>            | 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.

<sup>a</sup> Prevalenza dello studio riportata in base ai test di confronto.

<sup>b</sup> IC del punteggio.

<sup>c</sup> I 5 campioni biologici prospettici falsi positivi discordanti sono risultati positivi per *stx1/stx2* con il NAAT alternativo.

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

<sup>e</sup> 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 prospettici 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> , <i>stx1/stx2</i>         | 1                                                       | 0                                    |
| <i>Campylobacter</i> , <i>Shigella</i> /EIEC | 5                                                       | 4                                    |
| <i>Campylobacter</i> , <i>stx1/stx2</i>      | 5                                                       | 4                                    |
| <i>Shigella</i> /EIEC, <i>stx1/stx2</i>      | 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](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](http://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](http://www.hologic.com/patents).

©2026 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-34377-701 Rev. 003  
2026-04

| 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.<br>• Modifiche minori al testo.                                                                                                                    |
| AW-34377-701 Rev. 003      | Aprile 2026   | • Aggiornata la concentrazione del test da 10 <sup>6</sup> a 10 <sup>4</sup> per Clostridium tertium nella Tabella 4: Microrganismi testati per la reattività crociata e l'interferenza microbica.<br>• Aggiornamenti vari di stile, marchio e formattazione. |