

GI Bacterial Assay (Panther Fusion™ System)

Upute za uporabu

Samo za *in vitro* dijagnostičku uporabu

Samo za izvoz iz SAD-a

SADRŽAJ

Opće informacije	2
Predviđena uporaba	2
Sažetak i objašnjenje testa	2
Načela postupka	3
Sažetak o sigurnosti i učinkovitosti	4
Upozorenja i mjere opreza	4
Zahtjevi za skladištenje reagensa i rukovanje njima	7
Prikupljanje i skladištenje ispitaka	8
Transport ispitaka	9
Sustav Panther Fusion	10
Reagensi i materijali isporučeni za test za GI bakterije Panther Fusion	10
Potrebni i zasebno dostupni materijali	11
Postupak testiranja u sustavu Panther Fusion	12
Napomene o postupku	13
Kontrola kvalitete	14
Negativne i pozitivne kontrole	14
Interna kontrola	14
Tumačenje rezultata	15
Ograničenja	16
Analitička učinkovitost	17
Analitička osjetljivost	17
Uključivost/reaktivnost – mokro ispitivanje	18
Uključivost/reaktivnost – in silico analiza	23
Analitička specifičnost: Križna reaktivnost i mikroba interferencija – mokro testiranje	23
Koinfekcija / kompetitivna interferencija	25
Interferencija	26
Prijenosna kontaminacija	28
Preciznost/ponovljivost unutar laboratorija	28
Obnovljivost	30
Klinička učinkovitost	32
Bibliografija	35
Kontaktne podaci	36

Opće informacije

Predviđena uporaba

Test za GI bakterije Panther Fusion™ multipleksni je PCR *in vitro* dijagnostički test u stvarnom vremenu za brzo i kvalitativno otkrivanje i diferencijaciju nukleinskih kiselina bakterija *Salmonella*, *Shigella* / enteroinvazivne *Escherichia coli* (EIEC), *Campylobacter* (*C. coli*, *C. jejuni*) i (nediferenciranih) gena Shiga toksina 1 i 2 bakterije *Escherichia coli* koja proizvodi Shiga toksin. Nukleinske kiseline izoliraju se i pročišćavaju iz očuvanih ispitaka stolice prikupljenih od osoba koje pokazuju znakove i simptome gastroenteritisa.

Ovaj test namijenjen je kao pomoć u diferencijalnoj dijagnostici infekcija uzrokovanih bakterijama *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella* / enteroinvazivna *E. coli* (EIEC) i *Escherichia coli* koja proizvodi Shiga toksin (STEC). Rezultate ovog testa treba upotrebljavati zajedno s kliničkom slikom, laboratorijskim nalazima i epidemiološkim informacijama te se ne smiju upotrebljavati kao jedina osnova za postavljanje dijagnoze, liječenje ili druge odluke o postupanju s pacijentom. Pozitivni rezultati ne isključuju koinfekciju drugim organizmima koji nisu otkriveni ovim testom i ne moraju biti jedini ili konačni uzrok bolesti pacijenta. Negativni rezultati uz prisutnost kliničkih znakova bolesti kompatibilnih s gastroenteritisom mogu se dobiti zbog infekcije patogenima koje ovaj test ne otkriva ili zbog neinfektivnih uzroka kao što su ulcerativni kolitis, sindrom iritabilnog crijeva ili Crohnova bolest. Test je dizajniran za uporabu na sustavu Panther Fusion™.

Sažetak i objašnjenje testa

Akutni proljev vodeći je uzrok ambulantnih posjeta, hospitalizacije i smanjene kvalitete života, kako u domaćem okruženju, tako i među osobama koje putuju u inozemstvo. Globalni utjecaj bolesti koje se prenose hranom je značajan, s procjenama da se od njih razboli 600 milijuna ljudi, što dovodi do 420.000 smrtnih slučajeva godišnje.¹ Centri za kontrolu i prevenciju bolesti (engl. *Centers for Disease Control and Prevention*, CDC) procjenjuju da se u SAD-u godišnje javi 48 milijuna slučajeva bolesti koje se prenose hranom, što dovodi do 128.000 hospitalizacija i 3000 smrtnih slučajeva.² Akutni proljev povezan je s procijenjenim troškovima zdravstvene skrbi većim od 150 milijuna američkih dolara.³

Infektivni gastroenteritis mogu uzrokovati razni bakterijski, virusni i parazitski organizmi. Sami simptomi ne mogu se upotrebljavati za razlikovanje uzroka infekcije, zbog čega su brzi i točni dijagnostički alati ključni za usmjeravanje liječenja i zbrinjavanje pacijenta.

Prema procjenama CDC-a *Salmonella* uzrokuje oko 1,35 milijuna slučajeva bolesti, 26.500 hospitalizacija i 420 smrtnih slučajeva u Sjedinjenim Američkim Državama svake godine. Hrana je izvor većine tih slučajeva bolesti.⁴

Procjenjuje se da *Shigella* uzrokuje gotovo pola milijuna slučajeva bolesti svake godine u Sjedinjenim Američkim Državama, što je čini trećom najčešćom bakterijskom crijevnom bolešću. Šigeloza nije povezana s određenim godišnjim dobom, a uzrok tome je vjerojatno što je za širenje te infekcije važan prijenos s osobe na osobu.⁵

Campylobacter uzrokuje procijenjenih 1,5 milijuna slučajeva bolesti svake godine u Sjedinjenim Američkim Državama. To je jedan od najčešćih uzroka proljeva u Sjedinjenim Američkim Državama. Aktivni nadzor pokazuje da se svake godine dijagnosticira oko 20 slučajeva na 100.000 osoba. Još mnogo slučajeva ostaje nedijagnosticirano ili neprijavljeno. Većina slučajeva nije dio priznatih epidemija, a više slučajeva javlja se ljeti nego zimi.⁶⁻⁷

Procjenjuje se da se u Sjedinjenim Američkim Državama svake godine dogodi 265.000 infekcija bakterijom STEC, pri čemu STEC O157 uzrokuje oko 36 % tih infekcija.⁸ Stručnjaci za javno zdravstvo oslanjaju se na procjene, a ne na stvarni broj infekcija jer se ne dijagnosticiraju sve STEC infekcije.

Načela postupka

Sustav Panther Fusion u potpunosti automatizira obradu ispitaka, uključujući lizu uzoraka, hvatanje nukleinskih kiselina, amplifikaciju i otkrivanje za test za GI bakterije Panther Fusion. Izdvajanje i elucija nukleinske kiseline obavljaju se u jednoj epruveti u sustavu Panther Fusion. Eluat se prenosi u reakcijsku epruvetu sustava Panther Fusion koja sadržava reagens za test. Zatim se na sustavu Panther Fusion provodi multipleksni PCR u stvarnom vremenu za eluiranu nukleinsku kiselinu.

Obrada uzoraka: Prije obrade i testiranja na sustavu Panther Fusion ispitci se prenose u epruvetu Aptima™ Multitest koja sadržava medij za transport ispitaka (engl. *specimen transport media*, STM) koji lizira stanice, oslobađa ciljnu nukleinsku kiselinu i štiti ih od degradacije tijekom skladištenja.

Hvatanje i elucija nukleinske kiseline: Interna kontrola (IC-B) automatski se dodaje svakom ispitku putem radnog reagensa za hvatanje-B Panther Fusion (wFCR-B) kako bi se pratila interferencija tijekom obrade ispitka, amplifikacije i otkrivanja uzrokovana kvarom reagensa ili inhibitornim tvarima. Ispitci se prvo inkubiraju u alkalnom reagensu (FER-B) kako bi se omogućila liza stanica. Nukleinska kiselina oslobođena tijekom koraka lize hibridizira se s magnetskim česticama u wFCR-B-u. Uhvaćene čestice zatim se odvajaju od rezidualne matrice ispitka u magnetskom polju nizom koraka ispiranja blagim deterdžentom. Uhvaćena nukleinska kiselina zatim se eluira iz magnetskih čestica reagensom niske ionske jakosti (elucijski pufer Panther Fusion).

Napomena: Sustav Panther Fusion dodaje IC-B u reagens za hvatanje-B Panther Fusion (FCR-B). Nakon što se IC-B doda u FCR-B naziva se wFCR-B (radni FCR-B).

Multipleksna PCR amplifikacija i otkrivanje fluorescencije: Liofilizirana reakcijska glavna smjesa u jednoj jediničnoj dozi rekonstituirana se s puferom za rekonstituciju I Panther Fusion i zatim kombinira s eluiranom nukleinskom kiselinom u reakcijskoj epruveti. Uljni reagens Panther Fusion dodaje se kako bi se spriječilo isparavanje tijekom PCR reakcije.

Početnice i probe specifične za ciljne sekvence zatim amplificiraju ciljne sekvence putem lančane reakcije polimeraze te istovremeno mjere fluorescenciju višestrukih ciljnih sekvenci. Sustav Panther Fusion uspoređuje fluorescentni signal s unaprijed određenim graničnim vrijednostima kako bi se dobio kvalitativni rezultat za prisutnost ili odsutnost svakog analita.

Analiti i kanal upotrijebljen za njihovo otkrivanje u sustavu Panther Fusion sažeti su u tablici u nastavku:

Analit	Ciljani gen	Kanal instrumenta
<i>Salmonella</i>	<i>InvA</i> (invazivni antigen A)	FAM
<i>Campylobacter</i>	<i>glyA</i> (serin hidroksimetil transferaza) / <i>cadF</i> (protein vanjske membrane koji veže fibronektin)	HEX
<i>Shigella</i> /EIEC	<i>ipaH</i> (invazijski plazmidski antigen H)	ROX
STEC	<i>stx1</i> (Shiga toksin 1) / <i>stx2</i> (Shiga toksin 2)	RED647
Interna kontrola	Nije primjenjivo	RED677

Sažetak o sigurnosti i učinkovitosti

SSP (Sažetak o sigurnosti i učinkovitosti, engl. *Summary of Safety and Performance*) dostupan je u europskoj bazi podataka o medicinskim uređajima (Eudamed), gdje je povezan s identifikatorima uređaja (Osnovni UDI-DI). Kako biste pronašli SSP za test za GI bakterije Panther Fusion, poslužite se osnovnim jedinstvenim identifikatorom proizvoda (BUDI): 54200455DIAGPFGIBACUY.

Upozorenja i mjere opreza

- A. Za *in vitro* dijagnostičku uporabu.
- B. Pažljivo pročitajte cijelu ovu uputu i Priručnik za rukovatelja sustavom Panther™ / Panther Fusion.
- C. Za profesionalnu uporabu.
- D. Reagens za poboljšanje cilja-B Panther Fusion (FER-B) je korozivan, štetan ako se proguta i uzrokuje teške opekline kože i oštećenje očiju.
- E. Samo osoblje koje je adekvatno osposobljeno za korištenje ovog testa i za rukovanje potencijalno infektivnim materijalima smije provoditi te postupke. Ako dođe do izlivanja, odmah dezinficirajte odgovarajućim postupcima.

U vezi s laboratorijem

- F. Upotrebljavajte samo isporučene ili određene jednokratne laboratorijske proizvode.
- G. Prilikom rukovanja ispitcima i reagensima nosite jednokratne rukavice bez pudera, zaštitne naočale i laboratorijsku kutu. Nakon rukovanja ispitcima i reagensima temeljito operite ruke.
- H. Bacite sav materijal koji je došao u doticaj s ispitcima i reagensima u skladu s primjenjivim nacionalnim, međunarodnim i regionalnim propisima.

U vezi s ispitkom

- I. Ispitci mogu biti infektivni. Prilikom izvođenja ispitivanja pridržavajte se univerzalnih mjera opreza. Metode propisnog rukovanja i odlaganja trebao bi utvrditi voditelj laboratorija. Ovaj dijagnostički postupak smije izvoditi samo osoblje prikladno osposobljeno za rukovanje infektivnim materijalom.
- J. Datumi isteka valjanosti navedeni na epruvetama Aptima Multitest odnose se na prijenos uzorka u epruvetu, a ne na testiranje uzorka. Ispitci prikupljeni/preneseni u bilo kojem trenutku prije navedenih datuma isteka roka trajanja valjani su za testiranje pod uvjetom da su preneseni i pohranjeni u skladu s odgovarajućom uputom, čak i ako su ti datumi roka trajanja istekli.
- K. Tijekom prijevoza ispitka održavajte odgovarajuće uvjete pohrane kako biste osigurali cjelovitost ispitka. Stabilnost ispitka u uvjetima prijevoza drugačijim od preporučenih nije procijenjena.
- L. Izbjegavajte križnu kontaminaciju prilikom izvođenja koraka rukovanja ispitcima. Ispitci mogu sadržavati iznimno visoke razine bakterija ili drugih organizama. Pobrinite se da se spremnici ispitaka međusobno ne dodiruju, a iskorišteni materijal odložite pazeći da ga ne prenosite preko otvorenih spremnika. Zamijenite rukavice ako dođu u kontakt s ispitcima.

U vezi s testom

- M. Ne upotrebljavajte reagense i kontrole nakon isteka datuma roka trajanja.
- N. Pohranite komponente testa u preporučenim uvjetima skladištenja. Pogledajte *Zahtjevi za skladištenje reagensa i rukovanje njima* i *Postupak testiranja u sustavu Panther Fusion* za više informacija.
- O. Nemojte kombinirati nikakve reagense ili tekućine za test. Nemojte dolijevati reagense ili tekućine; sustav Panther Fusion provjerava razine reagensa.
- P. Izbjegavajte kontaminaciju reagensa mikroorganizmima i nukleazom.
- Q. Zahtjevi kontrole kvalitete moraju se provoditi u skladu s lokalnim, državnim i/ili saveznim propisima ili zahtjevima za akreditaciju i standardnim postupcima kontrole kvalitete vašeg laboratorija.
- R. Nemojte upotrebljavati testni uložak ako je vrećica za skladištenje oštećena ili ako folija testnog uložka nije netaknuta. U bilo kojem slučaju obratite se tehničkoj podršci društva Hologic.
- S. Nemojte koristiti pakete tekućine ako pečat folije propušta. Ako se to dogodi, obratite se tehničkoj podršci društva Hologic.
- T. Pažljivo rukujte testnim ulošcima. Nemojte ispuštati ni okretati testne uloške. Izbjegavajte dugotrajno izlaganje ambijentalnom svjetlu.
- U. Neki reagensi iz ovog kompleta označeni su informacijama o opasnostima.

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

Informacije o opasnostima u EU-u	
	Panther Fusion Enhancer Reagens-B (FER-B) Litij hidroksid, monohidrat 5 - 10% OPASNOST H302 – Štetno ako se proguta H314 – Uzrokuje teške opekline kože i oštećenje oka P264 – Temeljito oprati lice, ruke i svu izloženu kožu nakon rukovanja. P270 – Pri rukovanju proizvodom ne jesti, piti niti pušiti. P330 – Isprati usta. P501 – Sadržaj/spremnik odložiti u odobreni pogon za zbrinjavanje otpada. P260 – Ne udisati prašinu/dim/plin/maglu/pare/sprej. P280 – Nositi zaštitne rukavice/zaštitnu odjeću/zaštitu za oči/zaštitu za lice. P301 + P330 + P331 – AKO SE PROGUTA: Isprati usta. NE izazivati povraćanje. P303 + P361 + P353 – U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM (ili kosom): Odmah skinuti svu zagađenu odjeću. Isprati kožu vodom [ili tuširanjem]. P304 + P340 – AKO SE UDIŠE: Premjestiti unesrećenog na svjež zrak i postaviti ga u položaj koji olakšava disanje. P305 + P351 + P338 – U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: Oprezno isperite vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispiranje. P310 – Odmah nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA ili liječnika. P321 – Specifičan tretman (vidjeti dodatne upute za prvu pomoć u sigurnosno-tehničkom listu). P363 – Oprati zagađenu odjeću prije ponovne uporabe. P405 – Skladištiti pod ključem.
	Panther Fusion Reagens za hvatanje B (FCR-B) HEPES 15 - 20 % LAURIL SULFAT LITIJEVA SOL 10 - 15 % Jantarna kiselina 1 - 5% Litij hidroksid, monohidrat 1 - 5% — H412 – Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima. P273 – Izbjegavati ispuštanje u okoliš. P501 – Sadržaj/spremnik odložiti u odobreni pogon za zbrinjavanje otpada.

Zahtjevi za skladištenje reagensa i rukovanje njima

A. U tablici u nastavku navedeni su zahtjevi za skladištenje i rukovanje za ovaj test.

Reagens	Skladištenje neotvorenog proizvoda	Stabilnost na instrumentu / stabilnost otvorenog proizvoda ^a	Skladištenje otvorenog proizvoda
Testni uložak testa za GI bakterije Panther Fusion	od 2 °C do 8 °C	60 dana	od 2 °C do 8 °C ^b
Reagens za hvatanje-B Panther Fusion (FCR-B)	od 15 °C do 30 °C	30 dana	od 15 °C do 30 °C
Reagens za poboljšanje cilja-B Panther Fusion (FER-B)	od 15 °C do 30 °C	30 dana	od 15 °C do 30 °C
Interna kontrola-B Panther Fusion (IC-B)	od 2 °C do 8 °C	(U wFCR-B)	Nije primjenjivo
Elucijski pufer Panther Fusion	od 15 °C do 30 °C	60 dana	od 15 °C do 30 °C
Ulje Panther Fusion	od 15 °C do 30 °C	60 dana	od 15 °C do 30 °C
Pufer za rekonstituciju I Panther Fusion	od 15 °C do 30 °C	60 dana	od 15 °C do 30 °C
Pozitivna kontrola za GI bakterije Panther Fusion	od 2 °C do 8 °C	Bočica za jednokratnu uporabu	Nije primjenjivo – za jednokratnu uporabu
Negativna kontrola Panther Fusion	od 2 °C do 8 °C	Bočica za jednokratnu uporabu	Nije primjenjivo – za jednokratnu uporabu

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

^a Stabilnost na uređaju počinje u trenutku kada se reagens postavi u sustav Panther Fusion za Panther Fusion testni uložak testa za GI bakterije, FCR-B, FER-B i IC-B. Stabilnost na uređaju za pufer za rekonstituciju I Panther Fusion, elucijski pufer Panther Fusion i uljni reagens Panther Fusion počinje kada se pakiranje reagensa upotrijebi prvi put.

^b Ako se testni uložak izvadi iz sustava Panther Fusion, pohranite ga u hermetički zatvorenom spremniku sa sredstvom za sušenje na preporučenoj temperaturi skladištenja.

- B. Radni reagens za hvatanje-B Panther Fusion (wFCR-B) i reagens za poboljšanje cilja-B Panther Fusion (FER-B) stabilni su 60 dana kada su zatvoreni i pohranjeni na temperaturi od 15 °C do 30 °C. Nemojte hladiti u hladnjaku.
- C. Kontrole su stabilne do datuma navedenog na bočicama.
- D. Odbacite sve neiskorištene reagense koji su premašili svoju stabilnost na instrumentu.
- E. Izbjegavajte križnu kontaminaciju tijekom rukovanja reagensima i njihova skladištenja.
- F. **Reagense nemojte zamrzavati.**

Prikupljanje i skladištenje ispitaka

Ispitci – klinički materijal prikupljen od pacijenta i smješten u odgovarajući sustav za transport. Za test za GI bakterije Panther Fusion to uključuje svježu stolicu očuvanu u Cary-Blair transportnom mediju.

Uzorci – općenitiji pojam za opisivanje bilo kojeg materijala za testiranje na sustavu Panther Fusion, uključujući ispitke, ispitke prenesene u epruvetu Aptima Multitest i kontrole.

Napomena: *Rukujte svim ispitcima kao da sadržavaju potencijalno infektivne agense. Primjenjujte univerzalne mjere opreza.*

Napomena: *Pazite da izbjegnute križnu kontaminaciju tijekom koraka rukovanja ispitkom. Na primjer, bacite upotrijebljeni materijal bez prelaska preko otvorenih epruveta.*

A. Vrste ispitaka uključuju uzorke stolice očuvane u Cary-Blair transportnom mediju.

Prikupite svježu stolicu u skladu s prikladnim standardnim postupcima prikupljanja stolice i rukovanja njome. Prenesite ispitke svježe stolice u Cary-Blair transportni medij prema uputama proizvođača.

B. Obrada ispitka

1. Ispitak očuvan u Cary-Blair mediju temeljito promiješajte kako biste osigurali homogenost neposredno prije prijenosa u epruvetu Aptima Multitest.

2. Prije testiranja na sustavu Panther Fusion prenesite ispitak u epruvetu Aptima Multitest.

a. Djelomično otvorite pakiranje štapića za uzimanje brisa. Izvadite štapić za uzimanje brisa. Ne dirajte mekani vrh i ne odlažite štapić za uzimanje brisa na druge površine. Ako mekani vrh dodirnete, ako štapić odložite ili ako vam štapić padne, upotrijebite novi komplet za prikupljanje ispitaka brisa Aptima™ Multitest. Potpuno uronite mekani vrh štapića u ispitak stolice očuvan u Cary-Blair transportnom mediju.

Napomena: *Uronite samo mekani vrh štapića 1 put u tekući dio, pazite da ne uronite ružičasto tijelo.*

b. Otvorite epruvetu Aptima Multitest koja sadržava transportni medij. Ako se sadržaj epruvete prolije, upotrijebite novi komplet za prikupljanje ispitaka brisa Aptima Multitest. Stavite štapić u epruvetu i lagano ga vrtite u epruvetu 5 sekundi kako biste oslobodili materijal. Ostavite štapić u epruvetu.

c. Pažljivo prelomite tijelo štapića na označenoj liniji uz bočnu stranu epruvete i bacite gornji dio tijela štapića.

d. Pričvrstite priloženi ili novi probojni čep na epruvetu.

3. Pohrana ispitaka prije testiranja

a. Nakon prikupljanja ispitci očuvani u Cary-Blair transportnom mediju mogu se čuvati na temperaturi od 2 °C do 8 °C do 72 sata prije prijenosa u epruvetu Aptima Multitest.

Napomena: *Na Campylobacter utječu temperatura i vrijeme skladištenja. Ako se uzorci ne pohranjuju na odgovarajući način, može doći do smanjene iskoristivosti i gubitka pozitivnih rezultata.*

b. Ispitak u epruveti Aptima Multitest može se čuvati pod 1 od sljedećih uvjeta:

- od 15 °C do 30 °C do 6 dana ili
- od 2 °C do 8 °C do 30 dana ili
- ≤ −20 °C do 3 mjeseca

Napomena: Na najmanju moguću mjeru svedite cikluse zamrzavanja i odmrzavanja kako biste spriječili potencijalnu degradaciju uzorka.

Napomena: Preporučuje se da se ispitci preneseni u epruvetu Aptima Multitest čuvaju zatvoreni i uspravno na stalku.

C. Skladištenje ispitaka nakon testiranja

1. Uzorke koji su testirani treba čuvati uspravno na stalku pod 1 od sljedećih uvjeta:

- od 15 °C do 30 °C do 6 dana ili
- od 2 °C do 8 °C do 30 dana ili
- ≤ −20 °C do 3 mjeseca

Napomena: Na najmanju moguću mjeru svedite cikluse zamrzavanja i odmrzavanja kako biste spriječili potencijalnu degradaciju uzorka.

2. Uzorci se trebaju zatvoriti s novom, čistom plastičnom barijerom ili barijerom od folije.
3. Ako testirane uzorke treba zamrznuti ili transportirati, uklonite probojni čep i na epruvete s ispitkom stavite novi, neprobojni čep. Ako se uzorci trebaju transportirati na testiranje u drugu ustanovu, potrebno je održavati preporučene temperature. Prije otvaranja epruvete za transport ispitaka moraju se držati uspravno 5 minuta kako bi se sva tekućina spustila na dno epruvete. Izbjegavajte prskanje i križnu kontaminaciju. Nemojte centrifugirati.

Transport ispitaka

Održavajte uvjete skladištenja ispitaka tijekom transporta kako je opisano u *Prikupljanje i skladištenje ispitaka*.

Napomena: Ispitci se moraju transportirati u skladu s primjenjivim nacionalnim, međunarodnim i regionalnim propisima o transportu.

Sustav Panther Fusion

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

Reagensi i materijali isporučeni za test za GI bakterije Panther Fusion

Pakiranje testa

Komponente	Br. dijela	Skladištenje
Testni uložak testa za GI bakterije Panther Fusion, 96 testova Testni uložak testa za GI bakterije Panther Fusion, 12 testova, 8 po kutiji	PRD-07113	od 2 °C do 8 °C
Interna kontrola-B Panther Fusion, 960 testova Epruveta s internom kontrolom-B Panther Fusion, 4 po kutiji	PRD-06234	od 2 °C do 8 °C
Kontrole testa za GI bakterije Panther Fusion Epruveta s pozitivnom kontrolom testa za GI bakterije Panther Fusion, 5 po kutiji Epruveta negativne kontrole Panther Fusion, 5 po kutiji	PRD-07116	od 2 °C do 8 °C
Ekstrakcijski reagens-B Panther Fusion, 960 testova Bočica reagensa za hvatanje-B Panther Fusion, 240 testova, 4 po kutiji Bočica reagensa za poboljšanje cilja-B Panther Fusion, 240 testova, 4 po kutiji	PRD-06232	od 15 °C do 30 °C
Elucijski pufer Panther Fusion, 2400 testova Pakiranje elucijskog pufera Panther Fusion, 1200 testova, 2 po kutiji	PRD-04334	od 15 °C do 30 °C
Pufer za rekonstituciju I Panther Fusion, 1920 testova Pufer za rekonstituciju I Panther Fusion, 960 testova, 2 po kutiji	PRD-04333	od 15 °C do 30 °C
Uljni reagens Panther Fusion, 1920 testova Uljni reagens Panther Fusion, 960 testova, 2 po kutiji	PRD-04335	od 15 °C do 30 °C

Pojedinačno pakirane stavke

Stavke	Br. dijela
Pladnjevi s epruvetama Panther Fusion, 1008 testova, 18 pladnjeva po kutiji	PRD-04000
Komplet za prikupljanje ispitaka Aptima Multitest, pakiranje od 50	PRD-03546

Potrebni i zasebno dostupni materijali

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

Materijal	Kat. br.
Sustav Panther	303095
Sustav Panther Fusion	PRD-04172
Panther System Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Komplet testnih tekućina Aptima™ (otopina za ispiranje Aptima, pufer za deaktivacijsku tekućinu Aptima i uljni reagens Aptima)	303014 (1000 testova)
Jedinice za više epruveta (engl. <i>multi-tube units</i> , MTU)	104772-02
Komplet vrećica za otpad Panther	902731
Poklopac koša za otpad Panther	504405
ili komplet ciklusa sustava Panther sadrži MTU-ove, vrećice za otpad, poklopce koša za otpad, testne tekućine i sustav za automatsko otkrivanje ^a	303096 (5000 testova)
Vrhovi, 1000 µL, filtrirani, osjetljivi na tekućinu, vodljivi i za jednokratnu uporabu: Nisu svi proizvodi dostupni u svim regijama. Obratite se svojem predstavniku za informacije specifične za regiju.	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128 MME-04110
Probojni čepovi Aptima (opcionalno)	105668
Zamjenski neprobojni čepovi (opcionalno)	103036A
Zamjenski čepovi za bočicu s reagensom za ekstrakciju	CL0040
Izbjeljivač, 5 % do 8,25 % (0,7 M do 1,16 M) otopine natrijeva hipoklorita Napomena: Pogledajte <i>Priručnik za rukovatelja sustavom Panther / Panther Fusion</i> za upute za pripremu razrijeđene otopine natrijeva hipoklorita.	—
Rukavice bez pudera za jednokratnu uporabu	—

^a Potrebno samo za testove Aptima koji primjenjuju tehnologiju TMA.

Opcionalni materijali

Materijal	Kat. br.
Vorteks miješalica za radnu površinu (VWR Analog Vortex Mixer 120V, kat. br. 10153-838) ili ekvivalentna	—

Postupak testiranja u sustavu Panther Fusion

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

A. Priprema radnog prostora

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

B. Priprema reagensa

1. Izvadite bočice IC-B, FCR-B i FER-B iz mjesta skladištenja.
2. Miješajte FCR-B lagano vrteći dok se kuglice potpuno ne resuspendiraju. Izbjegavajte stvaranje pjene tijekom ovog koraka.
3. Otvorite bočice IC-B, FCR-B i FER-B i bacite čepove. Otvorite TCR vratašca u gornjem odjeljku sustava Panther Fusion.
4. Postavite bočice IC-B, FCR-B i FER-B na odgovarajuće položaje na TCR karuselu.
5. Zatvorite TCR vratašca.

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

C. Rukovanje ispitkom

1. Vizualno provjerite sadržava li svaka epruveta s ispitkom jedan ružičasti štapić za prikupljanje Aptima u epruveti Aptima Multitest. Ako epruveta Aptima Multitest ne sadržava štapić, sadržava više štapića ili štapić koji nije isporučilo društvo Hologic, prijenos stolice u Cary-Blair mediju treba ponoviti primjenom novog kompleta za prikupljanje ispitaka brisa Aptima Multitest.
2. Provjerite izgled uzorka u epruveti Aptima Multitest.
 - a. Ako je ispitak homogen, nastavite s testiranjem.
 - b. Ako se uoče čvrste tvari ili sluz, imajte na umu da oni mogu utjecati na test.

Napomena: Ako se prilikom obrade ispitaka uoče bilo kakve nevaljane oznake (npr. CLT, icrfu, ebh ili ebl), uzorci u epruveti Aptima Multitest mogu se miješati nakon stavljanja novog probojnog čepa u trajanju od 30 do 60 sekundi pri maksimalnoj brzini u standardnoj vorteks miješalici za radnu površinu prije ponovnog testiranja.

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

D. Priprema sustava

Za upute o postavljanju sustava Panther Fusion, uključujući postavljanje uzoraka, reagensa, testnih uložaka i univerzalnih tekućina, pogledajte *Priručnik za rukovatelja sustavom Panther / Panther Fusion*.

Napomene o postupku

A. Kontrole

1. Pozitivna kontrola testa za GI bakterije Panther Fusion i negativna kontrola testa Panther Fusion mogu se postaviti na bilo koji položaj na stalku, u bilo koju traku odjeljka za uzorke na sustavu Panther Fusion.
2. Nakon što se kontrolne epruvete pipetiraju i obrade za test za GI bakterije Panther Fusion, valjane su do 30 dana (učestalost kontrole koju konfigurira administrator) osim ako su rezultati kontrole nevaljani ili je umetnuta nova serija testnih uložaka.
3. Svaku kontrolnu epruvetu možete testirati samo jednom.
4. Pipetiranje ispitka pacijenta započinje kada je zadovoljen 1 od sljedećih 2 uvjeta:
 - a. U sustav su registrirani važeći rezultati za kontrole.
 - b. Par kontrola trenutačno je u obradi na sustavu.

Kontrola kvalitete

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

Negativne i pozitivne kontrole

Za dobivanje valjanih rezultata mora se testirati skup kontrola testa. Jedan (1) replikat negativne kontrole testa i pozitivne kontrole testa mora se testirati svaki put kada se nova serija testnih uložaka umetne u sustav Panther Fusion ili kada istekne trenutni skup valjanih kontrola za aktivnu seriju uložaka.

Sustav Panther Fusion konfiguriran je tako da zahtijeva izvođenje kontrola testa u intervalu koji odredi administrator u trajanju do 30 dana. Softver u sustavu Panther Fusion upozorava rukovatelja kada su potrebne kontrole testa i ne započinje nove testove dok se kontrole testa ne umetnu i dok ne započne njihova obrada.

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

Ako kontrole testa uspješno prođu sve provjere valjanosti, smatraju se valjanima za vremenski interval koji je odredio administrator. Nakon isteka vremenskog intervala sustav Panther Fusion označava rok valjanosti kontrola testa kao istekao i prije početka obrade novih uzoraka bit će potreban novi set kontrola testa.

Ako bilo koja od kontrola testa bude neuspješna na provjerama valjanosti, sustav Panther Fusion automatski poništava zahvaćene uzorke i zahtijeva novi skup kontrola testa prije testiranja bilo kojih novih uzoraka.

Interna kontrola

Unutarnja kontrola se dodaje svakom uzorku tijekom procesa ekstrakcije. Tijekom obrade kriteriji prihvatljivosti interne kontrole automatski se verificiraju putem softvera sustava Panther Fusion. Otkrivanje interne kontrole nije potrebno za uzorke koji su pozitivni na *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*/EIEC i/ili STEC. Interna kontrola mora se otkriti u svim uzorcima koji su negativni na sve predviđene analite; uzorci koji ne uspiju udovoljiti tim kriterijima bit će prijavljeni kao nevaljani. Svaki uzorak s nevaljanim rezultatom mora se ponovno testirati.

Sustav Panther Fusion osmišljen je za točnu provjeru procesa kada se postupci izvode prema uputama navedenima u ovoj uputi i u *Priručniku za rukovatelja sustavom Panther / Panther Fusion*.

Tumačenje rezultata

Sustav Panther Fusion automatski određuje rezultate testova za uzorke i kontrole. Rezultati za otkrivanje bakterija *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*/EIEC i STEC prijavljuju se odvojeno. Rezultat testa može biti negativan, pozitivan ili nevaljan.

Prvi valjani rezultat je rezultat koji treba prijaviti. Uzorke s nevaljanim rezultatima treba ponovno testirati. Ako je rezultat nevaljan nakon ponovnog testiranja, treba prikupiti novi ispitak.

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

Tablica 1: Tumačenje rezultata

Salmonella rezultat	Campy rezultat	Shigella/EIEC rezultat	Stx1/Stx2 rezultat	IC rezultat	Tumačenje
Neg	Neg	Neg	Neg	Valjano	<i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Shigella</i> /EIEC i STEC nisu otkriveni.
POS	Neg	Neg	Neg	Valjano	<i>Salmonella</i> otkrivena.
Neg	POS	Neg	Neg	Valjano	<i>Campylobacter</i> otkriven.
Neg	Neg	POS	Neg	Valjano	<i>Shigella</i> /EIEC otkriveni.
Neg	Neg	Neg	POS	Valjano	STEC otkriven.
POS	POS	Neg	Neg	Valjano	<i>Salmonella</i> i <i>Campylobacter</i> otkriveni.
POS	Neg	POS	Neg	Valjano	<i>Salmonella</i> i <i>Shigella</i> /EIEC otkriveni.
POS	Neg	Neg	POS	Valjano	<i>Salmonella</i> i STEC otkriveni.
Neg	POS	POS	Neg	Valjano	<i>Campylobacter</i> i <i>Shigella</i> /EIEC otkriveni.
Neg	POS	Neg	POS	Valjano	<i>Campylobacter</i> i STEC otkriveni.
Neg	Neg	POS	POS	Valjano	<i>Shigella</i> /EIEC i STEC otkriveni.
POS	POS	POS	Neg	Valjano	<i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> i <i>Shigella</i> /EIEC otkriveni. Infekcije s 3 bakterije su rijetke. Ponovno testirajte za potvrdu rezultata.
POS	POS	Neg	POS	Valjano	<i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> i STEC otkriveni. Infekcije s 3 bakterije su rijetke. Ponovno testirajte za potvrdu rezultata.
POS	Neg	POS	POS	Valjano	<i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> /EIEC i STEC otkriveni. Infekcije s 3 bakterije su rijetke. Ponovno testirajte za potvrdu rezultata.
Neg	POS	POS	POS	Valjano	<i>Campylobacter</i> , <i>Shigella</i> /EIEC i STEC otkriveni. Infekcije s 3 bakterije su rijetke. Ponovno testirajte za potvrdu rezultata.
POS	POS	POS	POS	Valjano	<i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Shigella</i> /EIEC i STEC otkriveni. Infekcije s 4 bakterije su rijetke. Ponovno testirajte za potvrdu rezultata.
Nevaljano	Nevaljano	Nevaljano	Nevaljano	Nevaljano	Nevaljano. Došlo je do pogreške u generiranju rezultata; ponovno testirajte ispitak.

Neg = negativno, POS = pozitivno.

Napomena: POS rezultat će biti popraćen vrijednostima praga ciklusa (Ct). POS/HT predstavlja rezultat visokog titra i neće imati prijavljen Ct.

Ograničenja

- A. Korištenje ovog testa ograničeno je na osoblje koje je obučeno za taj postupak. Neuspješno praćenje ovih uputa može rezultirati pogrešnim rezultatima.
- B. Pouzdani rezultati ovise o primjerenom prikupljanju, prijenosu, skladištenju i obradi ispitaka.
- C. Izbjegnite kontaminaciju pridržavajući se dobrih laboratorijskih praksi i postupaka specificiranih u ovoj uputi.
- D. Dehidrirani Cary-Blair mediji u prahu i Cary-Blair mediji u čvrstom obliku s visokim udjelom agaroze nisu procijenjeni i možda nisu kompatibilni s koracima obrade uzorka za test.
- E. Učinkovitost ovog testa validirana je samo s ljudskom stolicom prikupljenom u tekućem Cary-Blair transportnom mediju, prema uputama proizvođača medija.
- F. Ovaj se proizvod ne smije upotrebljavati za testiranje uzoraka stolice u fiksativu.

Analitička učinkovitost

Analitička osjetljivost

Analitička osjetljivost (granica otkrivanja ili LoD) testa za GI bakterije Panther Fusion određena je testiranjem razrjeđenja obrađene negativne matrice stolice u Cary-Blair mediju (engl. *Cary-Blair Stool*, CBS) u koju su dodane bakterijske kulture *Salmonella* (2 soja), *Campylobacter* (2 soja), *Shigella*/EIEC (2 soja) i STEC (2 soja). Najmanje 24 replikata testirana su sa svakom od 3 serije reagensa. LoD za svaki analit određen je probit analizom za svaku seriju reagensa i potvrđen je s dodatna 24 replikata koristeći jednu seriju reagensa u konfiguracijama s jednim analitom i više analita. Analitička osjetljivost definirana je kao najniža koncentracija pri kojoj je $\geq 95\%$ svih replikata testiranja bilo pozitivno, kako je sažeto u Tablica 2.

Tablica 2: Analitička osjetljivost

Soj	LoD koncentracija (CFU/mL) ^a	
	Epruveta Aptima Multitest	Očuvana stolica
<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ; serovar <i>Typhimurium</i> ; I; 4,5,12:i:1,2	48	960
<i>Salmonella bongori</i> , 66:z41	109	2180
<i>Campylobacter coli</i>	16	320
<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>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 = jedinice koje stvaraju kolonije (engl. *colony forming units*).

^a Koncentracije analita u epruveti Aptima Multitest su ~ 20X razrijeđene u usporedbi s očuvanom stolicom (~ 150 µL očuvane stolice u ~ 3 mL STM-a)

Uključivost/reaktivnost – mokro ispitivanje

Uključivost/reaktivnost testa za GI bakterije Panther Fusion određena je testiranjem bakterijskih sojeva u obrađenoj negativnoj CBS matrici. Svaki soj testiran je u tri ponavljanja pri 3X LoD s 1 serijom reagensa u konfiguraciji s jednim analitom ili više njih. Tablica 3 prikazuje najnižu koncentraciju svakog soja pri kojoj je uočena 100-postotna pozitivnost.

Tablica 3: Sažetak uključivosti/reaktivnosti za analite testa za GI bakterije

Organizam	ATCC broj ili izvor	Soj / serovar/ serotip/ antigena svojstva	Testna koncentracija (3X LoD) (CFU/mL)	
			Epruveta Aptima Multitest	Očuvana stolica
<i>Salmonella bongori</i>	43975 ^a	CIP 82.33	327	6540
	13076	Enteritidis, CDC K--1891	144	2880
	14028 ^a	Typhimurium, CDC 6516--60	144	2880
	15791	Sloterdijk	144	2880
	15611	Vellore, V1796	144	2880
	11646	Illinois, CDC	144	2880
	8391	Thompson, 2988	144	2880
	19430	Typhi, NCTC 8385	144	2880
	7378	Panama, Hochberg 2460	144	2880
	6962	Newport, NCTC 129	144	2880
	8388	Muenchen, 54	144	2880
	8326	Heidelberg, 16	144	2880
	9712	Saintpaul, 127	144	2880
	8387	Montevideo, 623	144	2880
	6539	Typhi, AMC	144	2880
	9150	Paratyphi A	144	2880
	10719	Paratyphi B, AMC 41-H-6	144	2880
	13428	Paratyphi C, CDC 3310-52	144	2880
	33062	Typhimurium, LJ211	144	2880
	13311	Typhimurium, NCTC 74	144	2880
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (I)	51956	Hadar, CDC 347	144	2880
	51741	DUP-103	144	2880
	10721	Javiana, ETS 146	144	2880
	9239	Oranienburg, E1093	144	2880
	51955	Virchow, CDC 41	144	2880
	51957	Agona, CDC 873	144	2880
	BAA-2739	Mississippi, CDC 2012K-0487	144	2880
	13312	Choleraesuis, NCTC 5735	144	2880
	700136	Braenderup, NCTC 5750	144	2880
	15480	Dublin, HWS 51	144	2880
	CCUG 21280	Schwarzengrund	144	2880

Tablica 3: Sažetak uključivosti/reaktivnosti za analite testa za GI bakterije (nastavak)

Organizam	ATCC broj ili izvor	Soj / serovar/ serotip/ antigena svojstva	Testna koncentracija (3X LoD) (CFU/mL)	
			Epruveta Aptima Multitest	Očuvana stolica
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>salamae</i> (II)	6959	NCTC 2206	144	2880
	Sveučilište u Calgaryju 2425	argC95	144	2880
	700148	NCTC 10252	144	2880
	43972	CIP 82.29	144	2880
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> (IIIa)	12323	CDC 3153--55	144	2880
	12324	CDC 1089-53	144	2880
	13314	NCTC 8297	144	2880
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb)	12325	CDC	144	2880
	29226	CDC 656/75	144	2880
	43973	CIP 82.31	144	2880
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>houtenae</i> (IV)	29932	16:z4,z23: -	144	2880
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>indica</i> (VI)	43976	CIP 102501	144	2880
	Sveučilište u Calgaryju 2430	pyrE20	144	2880
<i>Shigella dysenteriae</i> (A)	13313	Tip 1, NCTC 4837	204	4080
	49555	Tip 13, CDC 8008-79	204	4080
	29028	Tip 3, CDC 3596-74	204	4080
	49551	Tip 12, CDC 2243-66	204	4080
	11835	AMC 43--A--1	204	4080
	9361	Tip 1, AMC 43-A-14	204	4080
	12021	Tip 8, CDC 2116-52	204	4080
	12037	Tip 9, CDC A-58:1646	204	4080
	49547	Tip 11, CDC 3883-66	204	4080
<i>Shigella flexneri</i> (B)	29903	Tip 2a, 24570	204	4080
	12022	Tip 2b, CDC 3591-52	204	4080
	9199	Tip 1a, AMC 43-G-68	204	4080
	33948	612-003	204	4080
	11836	Tip 3, AMC 43-G-100	204	4080
	12023	Tip 4a, CDC 5380-52	204	4080
	12025	Tip 6, CDC 64	204	4080
	700930	Tip 2a, 2457T	204	4080

Tablica 3: Sažetak uključivosti/reaktivnosti za analite testa za GI bakterije (nastavak)

Organizam	ATCC broj ili izvor	Soj / serovar/ serotip/ antigena svojstva	Testna koncentracija (3X LoD) (CFU/mL)	
			Epruveta Aptima Multitest	Očuvana stolica
<i>Shigella boydii</i> (C)	8700	Tip 2, NCTC 12985	204	4080
	29928	Tip 10, C-10	204	4080
	9207	Tip 1, AMC 43-G-58	204	4080
	BAA-1247	Tip 20, SH-108	204	4080
	12030	Tip 10, CDC 6336-52	204	4080
	12028	Tip 8	204	4080
	12031	Tip 11, CDC 1624-54	204	4080
	9905	Tip 7, AMC 4006	204	4080
<i>Shigella sonnei</i> (D)	9290	AMC 43-GG9	204	4080
	29930 ^a	WRAIR I virulentni	204	4080
	11060	4628	204	4080
	29031	CDC 45-75	204	4080
	25931	NCDC 1120-66	204	4080
Enteroinvazivna <i>E. coli</i> (EIEC)	43893	Tip O124:NM, CDC EDL 1284	69	1380
	BAA-2190	Tip O121, 98-3306	69	1380
	49105	Tip O15, 1/1/7482	69	1380
	12806	Tip O124:K72 (B17):H, CDC	69	1380
	43892 ^a	Tip O29:NM, CDC EDL 1282	69	1380
<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	33560	CIP 702	75	1500
	43432	Tip O:4, MK7	75	1500
	35920	BG 22	75	1500
	43459	Tip O:40, MPD570102	75	1500
	29428	VPI H840	75	1500
	33252	C3692	75	1500
	33291 ^a	AS-83-79	75	1500
	700819	NCTC 11168	75	1500
	BAA-1062	RM 1221	75	1500
	BAA-1234	RM3193	75	1500
	33292	AS-84-79	75	1500
	35918	BG 177	75	1500
	43434	Tip O:6, C6	75	1500
	43435	Tip O:7, DPH-1	75	1500
	43449	Tip O:23, MK 198	75	1500
	43503	UA466	75	1500
	43472	Tip O:5, CFJ29	75	1500
	43430	Tip O:2, CJC-25	75	1500

Tablica 3: Sažetak uključivosti/reaktivnosti za analite testa za GI bakterije (nastavak)

Organizam	ATCC broj ili izvor	Soj / serovar/ serotip/ antigena svojstva	Testna koncentracija (3X LoD) (CFU/mL)	
			Epruveta Aptima Multitest	Očuvana stolica
<i>Campylobacter coli</i>	33559 ^a	CIP 7080 ^a	48	960
	43488	Tip O:56, RO 268	48	960
	43485	Tip O:49, A1618	48	960
	43483	Tip O:47, Ca 72	48	960
	43484	Tip O:48, Ca 77	48	960
	43133	BG716	48	960
	43136	BG193	48	960
	43481	Tip O:39, 80-102	48	960
	43482	Tip O:46, VanH13	48	960
	49941	LRA 069.05.89	48	960
	BAA-372	D5708	48	960
	43135	BG192	48	960
	43478	Tip O:28, 76-GA2	48	960
	BAA-1061	RM 2228	48	960
<i>E. coli</i> koja proizvodi Shiga toksin (O157)	700377	O157:NM (<i>stx2</i>), CDC 92-3099	60	1200
	700927	O157:H7:K- (<i>stx1/stx2</i>), EDL 933	60	1200
	35150 ^a	O157:H7 (<i>stx1/stx2</i>), EDL 931	60	1200
	43894	O157:H7 (<i>stx1/stx2</i>), CDC EDL 932	60	1200
	700378	O157:NM (<i>stx1/stx2</i>), CDC 92-3073	60	1200
	43890	O157:H7 (<i>stx1</i>) CDC C984	60	1200
	43895	O157:H7 (<i>stx1/stx2</i>), CDC EDL 933	60	1200

Tablica 3: Sažetak uključivosti/reaktivnosti za analite testa za GI bakterije (nastavak)

Organizam	ATCC broj ili izvor	Soj / serovar/ serotip/ antigena svojstva	Testna koncentracija (3X LoD) (CFU/mL)	
			Epruveta Aptima Multitest	Očuvana stolica
<i>E. coli</i> koja proizvodi Shiga toksin (ne O157)	51435	O91:H21 (stx2), B2F1	318	6360
	700840	O111:H8 (stx1/stx2), B99BE001161	318	6360
	51434	O91:H21 (stx2), H414-36/89	318	6360
	BAA-181	O111:H8 (stx1/stx2), CDC 1999-3249	318	6360
	BAA-180	O111:H8 (stx1), CDC 1999-3302	318	6360
	BAA-176	O113:H21 (stx2), CDC 2001-3004	318	6360
	BAA-177	O113:H21 (stx1/stx2), CDC 2000-3159	318	6360
	BAA-182	O104:H21 (stx2), CDC 1994-3023	318	6360
	BAA-1653 ^a	O26:H11 (stx1/stx2), EH1534	318	6360
	BAA-2193	O45:H2 (stx1), 2000-3039	318	6360
	BAA-2210	O103:H2 (stx1), 2003-3112	318	6360
	BAA-2211	O145:H25 (stx2), 2003-3375	318	6360
	BAA-2219	O121:H19 (stx2), 2002-3211	318	6360
	BAA-2222	O145:nepokretni (stx1/stx2), 2006-3142	318	6360
	BAA-2326	O104:H4 (stx2), TY-2482	318	6360
	BAA-2196	O26:H11 (stx1/stx2), 2003--3014	318	6360
	BAA-2215	O103:H11 (stx1), 2006-3008	318	6360
	BAA-2213	O103:H25 (stx1), 2005-3546	318	6360
	BAA-178	O104:H21(stx2), CDC 1994-3024	318	6360
	BAA-184	O111:H8 (stx1), CDC 2000-3025	318	6360
	BAA-2217	O146 (stx2), 10C-3114	318	6360
	BAA-179	O111:H8 (stx1/stx2), CDC 1997-3215	318	6360
	BAA-2129	O145:H28 (stx2), TW07865	318	6360
	BAA-1652	O145:H48 (stx2), EH1533	318	6360
	BAA-2192	O145:nepokretni (stx1/stx2), 99-3311	318	6360

CFU = jedinice koje stvaraju kolonije (engl. colony forming units).

^a Sojevi koji su se upotrebljavali za utvrđivanje LoD-a.

Uključivost/reaktivnost – *in silico* analiza

Uključivost testa za GI bakterije Panther Fusion procijenjena je korištenjem *in silico* analize uključenosti za svaki analit. *In silico* analiza provedena je korištenjem sekvenci analita dostupnih u bazi podataka NCBI i u bazi podataka shotgun sekvenciranja cijelog genoma. Za svaki analit odgovarajuće oligonukleotidne sekvence (početnice i probe) uspoređene su sa sekvencama iz baze podataka. Sve sekvence s nedovoljnim duljinama (koje ne pokrivaju cijelu regiju amplikona) isključene su iz analize.

Na temelju *in silico* analize svih sekvenci dostupnih do 30. svibnja 2023. u bazama podataka, predviđa se da će test za GI bakterije Panther Fusion otkriti 100 % od 121 procijenjene sekvence *Salmonella bongori*, 99,03 % od 2365 procijenjenih sekvenci *Salmonella enterica*, 96,43 % od 392 sekvence *Campylobacter jejuni*, 99,09 % od 1104 sekvence *Campylobacter coli*, 100 % od 1080 sekvenci *Shigella sonnei*, 100 % od 1164 sekvence *Shigella flexneri*, 100 % od 192 sekvence *Shigella dysenteriae*, 100 % od 364 sekvence *Shigella boydii*, 98,71 % od 387 sekvenci STEC koje eksprimiraju *stx1* i 97,35 % od 1019 sekvenci STEC koje eksprimiraju *stx2*.

Analitička specifičnost: Križna reaktivnost i mikrobna interferencija – mokro testiranje

Analitička specifičnost (križna reaktivnost) i mikrobna interferencija za test za GI bakterije Panther Fusion procijenjene su u prisutnosti neciljanih mikroorganizama koji su ili filogenetski povezani s analitima testa ili se potencijalno nalaze u kliničkim ispitcima. Paneli koji se sastoje od 100 bakterija, virusa, parazita i kvasaca navedenih u Tablica 4 testirani su u obrađenoj negativnoj CBS matrici u odsutnosti i u prisutnosti analita testa za GI bakterije Panther Fusion pri 3X LoD. Osim ako je drugačije navedeno, bakterije, kvasci i paraziti procijenjeni su pri 10^6 CFU/mL ili 10^6 kopija rRNK/mL ili 10^6 stanica/mL; virusi su procijenjeni pri 10^5 TCID₅₀/mL. Nije uočena križna reaktivnost ni mikrobna interferencija ni s jednim od 100 organizama testiranih testom za GI bakterije Panther Fusion pri navedenim koncentracijama.

Tablica 4: Mikroorganizmi testirani na križnu reaktivnost i mikrobnu interferenciju

Mikroorganizam	Testna koncentracija	Mikroorganizam	Testna koncentracija
<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 kopija rRNK/mL
<i>Trabulsiella guamensis</i>	10^6 CFU/mL	<i>Enterococcus faecalis</i>	10^6 CFU/mL
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	10^6 kopija rRNK/mL	<i>Enterobacter aerogenes</i>	10^6 CFU/mL
<i>Escherichia coli</i> (koja ne proizvodi Shiga toksin)	10^6 CFU/mL	<i>Enterobacter cloacae</i>	10^6 CFU/mL
<i>Escherichia coli</i> (koja ne proizvodi Shiga toksin O157)	10^6 CFU/mL	<i>Escherichia fergusonii</i>	10^6 CFU/mL
<i>Giardia lamblia</i> BG-A ^a	10^6 kopija/mL	<i>Escherichia hermanii</i>	10^6 CFU/mL
<i>Cyclospora</i> ^a	10^6 kopija/mL	<i>Escherichia vulneris</i>	10^6 CFU/mL
<i>Cryptosporidium</i> ^a	10^6 kopija/mL	<i>Gardnerella vaginalis</i>	10^6 CFU/mL
Norovirus (Noro GI) ^a	10^5 kopija/mL	<i>Helicobacter pylori</i>	10^6 CFU/mL
Astrovirus ^a	10^5 kopija/mL	<i>Klebsiella oxytoca</i>	10^6 CFU/mL
Sapovirus (GII) ^a	10^5 kopija/mL	<i>Klebsiella ozaenae</i>	10^6 CFU/mL
Enterovirus (Ent V) ^a	10^5 kopija/mL	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10^6 CFU/mL
Rinovirus ^a	10^5 kopija/mL	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	10^6 CFU/mL

Mikroorganizam	Testna koncentracija	Mikroorganizam	Testna koncentracija
<i>Koronavirus 229E</i>	10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Lactobacillus crispatus</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Koksaki virus tip B4</i>	10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Lactococcus lactis</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Adenovirus tipa 7A</i>	10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Listeria grayi</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Rotavirus^a</i>	10 ⁵ kopija/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
<i>Yersinia enterocolitica</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Peptostreptococcus micros</i>	10 ⁶ kopija rRNK/mL
<i>Abiotrophia defectiva</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Photobacterium damsela</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Acinetobacter baumannii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Prevotella bivia</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Aeromonas hydrophila</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Prevotella melaninogenica</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Alcaligenes faecalis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Proteus mirabilis</i>	10 ⁶ kopija rRNK/mL
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Proteus penneri</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Anaerococcus vaginalis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Proteus vulgaris</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Arcobacter butzleri</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Providencia alcalifaciens</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bacillus cereus</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Providencia rettgeri</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bacteriodes fragilis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Providencia stuartii</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bacteroides vulgatus</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Serratia liquefaciens</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bifidobacterium longum</i>	10 ⁶ kopija rRNK/mL	<i>Serratia marcescens</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter fetus</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter rectus</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter sputorum</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Streptococcus anginosus</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Candida albicans</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Citrobacter freundii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Yersinia bercovieri</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Citrobacter koseri</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Clostridium difficile</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Yersinia rohdei</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Clostridium perfringens</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Campylobacter lari</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Clostridium ramosum</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Entamoeba histolytica</i>	10 ⁴ stanica/mL
<i>Clostridium sordellii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Megasphaera elsdenii</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Clostridium tertium^b</i>	10 ⁴ CFU/mL	<i>Chlamydia trachomatis</i>	10 ⁵ IFU/mL
<i>Collinsella aerofaciens</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Leptotrichia buccalis</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Corynebacterium genitalium</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Citomegalovirus</i>	10 ⁵ TCID ₅₀ /mL

CFU = jedinice koje stvaraju kolonije, IFU = jedinice koje stvaraju inkluzije, kopije rRNK = kopije ribosomske ribonukleinske kiseline, TCID₅₀ = medijana infektivne doze u kulturi tkiva.

^a *In vitro* transkripti korišteni su za procjenu križne reaktivnosti i mikrobne interferencije jer virus uzgojen na kulturi ili pročišćena nukleinska kiselina cijelog genoma nisu lako dostupni.

^b Prilikom testiranja interferencije uočena je 100-postotna pozitivnost za organizme *Salmonella*, *Shigella* i STEC pri 10⁶ CFU/mL, a 100-postotna pozitivnost utvrđena je za *Campylobacter* pri ≤ 10⁴ CFU/mL.

Koinfekcija / kompetitivna interferencija

Kompetitivna interferencija u testu za GI bakterije Panther Fusion procijenjena je u tri ponavljanja korištenjem parova analita testa pri niskim/visokim koncentracijama u obrađenoj negativnoj CBS matrici. Analit niske koncentracije testiran je pri 3X LoD u odnosu na analit visoke koncentracije pri 10⁶ CFU/mL. Osim toga, analiti su također testirani u odsutnosti drugog analita. Kada su analiti testirani pri visokoj koncentraciji, svi rezultati za ostale analite zadržali su očekivanu pozitivnost; nije uočena kompetitivna interferencija. Tablica 5 prikazuje sažetak rezultata uočenih u testiranju kompetitivne interferencije.

Tablica 5: Sažetak rezultata koinfekcije

Analit 1		Analit 2		Salmonella % poz.	Campylobacter % poz.	Shigella % poz.	STEC % poz.
Naziv	3X LoD (CFU/mL) ^a	Naziv	Visoka konc. (CFU/mL) ^a				
Negativan	N/P	Negativan	N/P	0 %	0 %	0 %	0 %
Salmonella	327	Ne postoji	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	Ne postoji	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	Ne postoji	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	Ne postoji	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 %
Ne postoji	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 = jedinice koje stvaraju kolonije, Konc. = koncentracija, Poz. = pozitivno.

^a Koncentracija analita u epruveti Aptima Multitest.

Interferencija

Potencijalni inhibitorni učinci endogenih i egzogenih tvari koje mogu biti prisutne u ispitku procijenjeni su testom za GI bakterije Panther Fusion. Klinički relevantne koncentracije potencijalno interferirajućih tvari dodane su u obrađenu negativnu CBS matricu i testirane u odsutnosti i u prisutnosti analita testa za GI bakterije pri 3X LoD. Testovi se provode tri puta. Tvari i testne koncentracije prikazane su u Tablica 6.

Nije uočen utjecaj na učinkovitost testa za GI bakterije Panther Fusion ni za jednu od tvari pri testiranim koncentracijama.

Tablica 6: Tvari testirane na interferenciju

Vrsta tvari	Generički naziv	Aktivni sastojak/sastojci	Testna koncentracija ^{a, b, c}
Antibiotici	Amoksicilin	Amoksicilin	0,7 µg/mL
	Ampicilin	Ampicilin	0,9 µg/mL
	Doksiciklin	Doksiciklin	0,2 µg/mL
	Metronidazol	Metronidazol	1,5 µg/mL
	Neosporin®	Polimiksin B sulfat, cink bacitracin, neomicin sulfat	1,3 % w/v
Antimikrobni i antifungalni proizvodi	Antiseptičke maramice BZK	Benzalkonijev klorid	1,3 % v/v
	Nistatin	Nistatin	1,3 % v/v
Laksativi i omekšivači stolice	Čepići Dulcolax®	Bisakodil	75 ng/mL
	Colace®	Natrijev dokuzat	3,0 µg/mL
	Klistir s mineralnim uljem Fleet®	Mineralno ulje	1,3 % v/v
	Ex-Lax®	Senozidi	0,8 µg/mL
	Miralax®	Polietilen glikol 3350	0,1 mg/mL
	Magnezijev mlijeko	Magnezijev hidroksid, aluminijev hidroksid	1,3 % v/v
	Visicol®	Natrijev fosfat	53 ng/mL
Protiv proljeva	Imodium®	Loperamid hidroklorid	0,1 µg/mL
Protiv svrbeža	Vagisil®	Benzokain	1,3 % w/v
	Preparation H®	Hidrokortizon	1,3 % w/v
Protuupalni proizvod	Fenilefrin hidroklorid (za hemoroide)	Fenilefrin hidroklorid	0,4 ng/mL
	Mesalazin (samo na recept, za Crohnovu bolest / ulcerozni kolitis)	Salicilna kiselina	0,4 µg/mL
	Aleve®	Naproksen natrij	4,5 µg/mL
Antacid	Pepto-Bismol®	Bizmutov subsalicilat	1,3 % v/v
	Tums®	Kalcijev karbonat	55 µg/mL

Tablica 6: Tvari testirane na interferenciju (nastavak)

Vrsta tvari	Generički naziv	Aktivni sastojak/sastojci	Testna koncentracija ^{a, b, c}
Radioneprozirni kontrastni materijal	Barijev sulfat	Barijev sulfat	0,1 mg/mL
Lubrikanti i sredstva za zaštitu kože	Lubrikantni gel K-Y® s glicerinom	Glicerin	1,3 % w/v
	Vaseline® Original, 100 % čisti bijeli vazelin	Vazelin	1,3 % w/v
	Desitin®	Cinkov oksid	1,3 % w/v
Spermicid	Vaginalni kontracepcijski gel Options Conceptrol®	Nonoksinol-9	1,3 % w/v
Endogen	Kolesterol	Kolesterol	50 µg/mL
	Masne kiseline	Palmitinska kiselina	16 µg/mL
	Masne kiseline	Stearinska kiselina	34 µg/mL
	Trigliceridi, ukupni (masnoća u stolici, Intralipid)	Trigliceridi	1,3 % v/v
	Ljudska žuč	Bilirubin, konjugirani	5,0 µg/mL
	Urin	Ljudski urin	1,3 % v/v
	Ljudska puna krv	Krv/hemoglobin	1,3 % v/v
	Mucin	Pročišćeni protein mucina	0,05 % w/v

^a Koncentracija tvari u epruveti Aptima Multitest.^b v/v: volumni udio.^c w/v: maseni udio.

Ispitci stolice pripremljeni u različitim medijima za konzerviranje procijenjeni su na potencijalni utjecaj na učinkovitost testa za GI bakterije Panther Fusion. Procijenjeni konzervansi uključuju 10 različitih vrsta Cary-Blair transportnih medija od različitih dobavljača i medija za konzerviranje koji sadržavaju fiksative prikazane u Tablica 7. Svi mediji testirani su korištenjem analita testa za GI bakterije Panther Fusion pri 3X LoD. Usporediva učinkovitost uočena je sa svim Cary-Blair medijima. Slična interferencija uočena je kada su ispitci obrađeni u mediju koji sadržava fiksativ.

Tablica 7: Mediji za konzerviranje stolice testirani na interferenciju

Cary-Blair mediji	
Medij za kulturu i osjetljivost (C&S)	Cary-Blair medij Protocol
Cary-Blair transportni medij s indikatorom	Enterički transportni medij (ETM®)
Para-Pak® C&S	Cary-Blair medij Puritan® 2 mL ^a
Para-Pak® Enteric Plus	Cary-Blair medij Puritan® 5 mL ^a
C&S bočica za transport stolice Cardinal Health™	Sustav za prikupljanje, transport i očuvanje Copan® FecalSwab® ^a
Fiksativni medij (uočena je interferencija)	
10-postotni puferirani formalin Fisher®	
10-postotni puferirani formalin Para-Pak®	
Para-Pak® LV-PVA	

^a Klinička učinkovitost nije utvrđena za te medije.

Prijenosna kontaminacija

Stopa prijenosne kontaminacije testa procijenjena je korištenjem dizajna šahovske ploče s negativnim i pozitivnim panelima izrađenim u obrađenoj negativnoj CBS matrici. Ukupno 270 negativnih uzoraka raspoređenih između 270 pozitivnih uzoraka (u koje je dodana *Salmonella* pri 10⁶ CFU/mL ili 9714 X LoD) testirano je u 5 ciklusa na 2 sustava Panther Fusion. Test za GI bakterije Panther Fusion pokazao je stopu prijenosa od 0 %.

Preciznost/ponovljivost unutar laboratorija

Preciznost unutar laboratorija testa za GI bakterije Panther Fusion procijenjena je panelom od 3 sastavnice koji se sastojao od analita testa u obrađenoj negativnoj CBS matrici. Panel od 3 sastavnice uključivao je 1 negativnu sastavnicu panela i 2 sastavnice s više analita (sa *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella* i STEC). Panele su testirala 3 rukovatelja u 2 ciklusa dnevno, koristeći 3 serije reagensa na 3 sustava Panther Fusion tijekom 9 dana.

Sastavnice panela opisane su u Tablica 8, zajedno sa sažetkom slaganja s očekivanim rezultatima, srednjom vrijednosti Ct i analizom varijabilnosti između serija reagensa, rukovatelja, instrumenata, dana, između i unutar ciklusa te sve zajedno (ukupno).

Tablica 8: Sažetak analize varijabilnosti Ct

Panel	Opis	Analit	Slaganje/N	% slaganja ^a	Srednja vrijednost Ct	Između serija		Između instrumenata		Između rukovatelja		Između dana		Između ciklusa		Unutar ciklusa		Ukupno	
						SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
1	Nisko poz. (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	Negativan	Negativan (interna kontrola)	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	Umjer. poz. (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 = prag ciklusa, CV = koeficijent varijacije, Umjer. = umjereno, N = veličina uzorka, Poz. = pozitivno, SD = standardna devijacija.

^a Slaganje s očekivanim pozitivnim rezultatom panela.

Obnovljivost

Obnovljivost testa za GI bakterije Panther Fusion procijenjena je u 3 centra u SAD-u korištenjem 1 negativne sastavnice panela i 2 sastavnice panela pozitivne na sva 4 ciljna organizma. Testiranje je provodilo 6 rukovatelja (2 u svakom centru) tijekom 5 dana koristeći 1 seriju reagensa za test. Svaki ciklus uključivao je 3 replikata za svaku sastavnicu panela.

Negativna sastavnica panela izrađena je korištenjem matrice koja se sastoji od ispitaka stolice negativnih na sve ciljne organizme testa sačuvanih u Cary-Blair mediju obrađenih u STM-u. Pozitivne sastavnice panela izrađene su dodavanjem koncentracija ciljnih analita od 1,5X LoD (nisko pozitivni) ili 3X LoD (umjereno pozitivni) u negativnu matricu.

Slaganje s očekivanim rezultatima bilo je 100 % za sve sastavnice panela za bakterije *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella* i STEC (Tablica 9).

Tablica 9: Slaganje rezultata testa za GI bakterije Panther Fusion s očekivanim rezultatima

Slaganje s očekivanim rezultatima			
Opis	Analit	N	% (95-postotni CI)
Neg	Interna kontrola	90/90	100 (95,9 – 100)
Nisko poz. ^a	<i>Salmonella</i> ^c	90/90	100 (95,9 – 100)
	<i>Campylobacter</i> ^c	90/90	100 (95,9 – 100)
	<i>Shigella</i> /EIEC ^c	90/90	100 (95,9 – 100)
	STEC ^c	90/90	100 (95,9 – 100)
Umjer. poz. ^b	<i>Salmonella</i> ^c	90/90	100 (95,9 – 100)
	<i>Campylobacter</i> ^c	90/90	100 (95,9 – 100)
	<i>Shigella</i> /EIEC ^c	90/90	100 (95,9 – 100)
	STEC ^c	90/90	100 (95,9 – 100)

CI = interval pouzdanosti rezultata, Umjer. = umjereno, N = veličina uzorka, Neg = negativno, Poz. = pozitivno.

^a Nisko poz. = svi ciljni organizmi su 1,5X LoD.

^b Umjer. poz. = svi ciljni organizmi su 3X LoD.

^c *Salmonella bongori*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella sonnei*, i STEC serotip O26 korišteni su za sastavljanje pozitivnih panela.

Varijabilnost signala izmjerena je kao %CV vrijednosti Ct. Ukupna varijabilnost signala bila je ≤ 2,03 % (SD ≤ 0,74) za sve komponente panela (Tablica 10). Za izvore varijacije osim faktora „unutar ciklusa” vrijednosti %CV iznosile su ≤ 1,00 % za sve komponente panela. Varijabilnost signala bila je ≤ 0,77 % (SD ≤ 0,25) za pozitivne kontrole testa za GI bakterije Panther Fusion (Tablica 11).

Tablica 10: Varijabilnost signala testa za GI bakterije Panther Fusion prema ciljnoj sekvenci i koncentraciji

Opis	Analit	N	Između centara			Između rukovatelja/ciklusa ^c		Između dana		Unutar ciklusa		Ukupno	
			Srednja vrijednost Ct	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Nisko poz. ^a	<i>Salmonella</i>	90	36,4	0,00	0,00	0,36	1,00	0,12	0,32	0,63	1,74	0,74	2,03
	<i>Campylobacter</i>	90	35,1	0,16	0,45	0,05	0,14	0,09	0,25	0,32	0,91	0,37	1,05
	<i>Shigella</i> /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
Umjer. poz. ^b	<i>Salmonella</i>	90	35,2	0,16	0,47	0,00	0,00	0,14	0,39	0,43	1,23	0,48	1,37
	<i>Campylobacter</i>	90	34,2	0,15	0,43	0,04	0,13	0,11	0,31	0,30	0,88	0,35	1,03
	<i>Shigella</i> /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 = prag ciklusa, CV = koeficijent varijacije, Umjer. = umjereno, N = veličina uzorka, Poz. = pozitivno, SD = standardna devijacija.

Napomena: Analiza je provedena korištenjem postupka SAS MIXED, koji prema zadanim postavkama primjenjuje donju granicu od 0 na sve komponente varijance u modelu. Ako je komponenta varijance 0, SD i %CV prikazuju se kao 0,00.

^a Nisko poz. = svi ciljni organizmi su 1,5X LoD.

^b Umjer. poz. = svi ciljni organizmi su 3X LoD.

^c Između rukovatelja može se preklapati s Između ciklusa; stoga se procjene Između rukovatelja i Između ciklusa kombiniraju u Između rukovatelja/ciklusa.

Tablica 11: Varijabilnost signala pozitivnih kontrola testa za GI bakterije Panther Fusion

Kontrola	Analit	N	Između centara			Između rukovatelja		Između dana		Unutar dana		Ukupno	
			Srednja vrijednost Ct	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Pos	<i>Salmonella</i>	30	30,5	0,12	0,40	0,00	0,00	0,11	0,35	0,15	0,49	0,22	0,73
	<i>Campylobacter</i>	30	31,4	0,04	0,13	0,04	0,13	0,09	0,29	0,05	0,17	0,12	0,38
	<i>Shigella</i> /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 = prag ciklusa, CV = koeficijent varijacije, N = veličina uzorka, Pos = pozitivno, SD = standardna devijacija.

Napomena: Analiza je provedena korištenjem postupka SAS MIXED, koji prema zadanim postavkama primjenjuje donju granicu od 0 na sve komponente varijance u modelu. Ako je komponenta varijance 0, SD i %CV prikazuju se kao 0,00.

Klinička učinkovitost

Provedeno je multicentrično ispitivanje korištenjem preostalih ispitaka stolice u Cary-Blair mediju za konzerviranje, prikupljenih kao dio rutinske skrbi za pacijente u 8 klinika u SAD-u od pedijatrijskih ili odraslih pacijenata za koje se sumnja da imaju akutni gastroenteritis. Svi ispiti testirani su testom za GI bakterije Panther Fusion i usporednim testom amplifikacije nukleinskih kiselina (NAAT) koji je odobrila agencija FDA. Za testiranje radi razlučivanja neusklađenosti korišten je, ako je primjenjivo, alternativni NAAT test koji je odobrila agencija FDA. Pozitivni (engl. *positive percent agreement*, PPA) i negativni postotak slaganja (engl. *negative percent agreement*, NPA), s odgovarajućim dvostranim 95-postotnim intervalima pouzdanosti (CI) rezultata, izračunani su u odnosu na rezultate komparativnog testiranja, prema ciljnoj sekvenci i prema kategoriji ispitka.

U ispitivanje je uključeno ukupno 1548 prospektivnih ispitaka i 261 retrospektivni ispitak; 69 ispitaka isključeno je iz analiza učinkovitosti (npr. ispiti koji su potjecali od istih osoba, nevaljani rezultati testa za GI bakterije Panther Fusion ili usporednog testa za sve ciljne organizme). Dodatnih 126 umjetno dobivenih ispitaka procijenjeno je kako bi se nadopunili prospektivni i retrospektivni podaci za ciljnu sekvencu *stx1/stx2*. Od 1896 ispitaka testiranih u valjanom ciklusima korištenjem testa za GI bakterije Panther Fusion, 41 (2,2 %) je imao početne nevaljane rezultate. Nakon ponovnog testiranja 33 od 41 ispitka dalo je valjane rezultate, što je ukupno 1888 (99,6 %) ispitaka s konačnim valjanim rezultatima. Konačni skup podataka sastojao se od 1866 ispitaka koji se mogu procijeniti; nisu svi bili pogodni za procjenu svih analiza. Demografski podaci za 1740 ispitaka koji se mogu procijeniti (1521 prospektivni i 219 retrospektivnih ispitaka) navedeni su u Tablica 12.

Tablica 12: Sažetak demografskih podataka ispitanika

		Ukupno N (%)	Prospektivni N (%)	Retrospektivni N (%)
Ukupan broj ispitaka		1740	1521	219
Spol	Ženski	909 (52,2)	794 (52,2)	115 (52,5)
	Muški	831 (47,8)	727 (47,8)	104 (47,5)
Dobna skupina	od 0 do 28 dana	7 (0,4)	7 (0,5)	0 (0)
	od 29 dana do < 2 godine	70 (4,0)	67 (4,4)	3 (1,4)
	od 2 do 5 godina	53 (3,0)	50 (3,3)	3 (1,4)
	od 6 do 11 godina	73 (4,2)	66 (4,3)	7 (3,2)
	od 12 do 17 godina	73 (4,2)	71 (4,7)	2 (0,9)
	od 18 do 21 godina	53 (3,0)	45 (3,0)	8 (3,7)
	od 22 do 64 godine	849 (48,8)	723 (47,5)	126 (57,5)
	≥ 65 godina	562 (32,3)	492 (32,3)	70 (32,0)

N = veličina populacije

Značajke učinkovitosti za otkrivanje organizama *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*/EIEC i *stx1/stx2* prikazane su u Tablica 13 do Tablica 16.

Tablica 13: Klinička učinkovitost – *Salmonella* spp.

Podrijetlo ispitka	N	TP	FP	TN	FN	Prevalencija ^a (%)	% PPA (95-postotni CI) ^b	% NPA (95-postotni CI) ^b
Prospektivni (svježi)	1520	33	2 ^c	1484	1 ^d	2,2	97,1 (85,1; 99,5)	99,9 (99,5; 100)
Retrospektivni (zamrznuti)	219	20	2 ^e	197	0	N/P ^f	100 (83,9; 100)	99,0 (96,4; 99,7)

CI = interval pouzdanosti, FN = lažno negativno, FP = lažno pozitivno, N = veličina uzorka, NPA = negativno postotno slaganje, PPA = pozitivno postotno slaganje, TN = istinski negativno, TP = istinski pozitivno.

^a Prevalencija u ispitivanju prijavljena na temelju usporednog testiranja.

^b CI rezultata.

^c Dva nepodudarna lažno pozitivna prospektivna ispitka bila su pozitivna na *Salmonella* prema alternativnom NAAT testu.

^d Nepodudarni lažno negativni prospektivni ispitak bio je negativan na *Salmonella* prema alternativnom NAAT testu.

^e Dva nepodudarna retrospektivna lažno pozitivna ispitka bila su pozitivna na *Salmonella* prema alternativnom NAAT testu.

^f Izračun prevalencije nije primjenjiv.

Tablica 14: Klinička učinkovitost – *Campylobacter* spp.

Podrijetlo ispitka	N	TP	FP	TN	FN	Prevalencija ^a (%)	% PPA (95-postotni CI) ^b	% NPA (95-postotni CI) ^b
Prospektivni (svježi)	1520	39	2 ^c	1478	1 ^d	2,6	97,5 (87,1; 99,6)	99,9 (99,5; 100)
Retrospektivni (zamrznuti)	219	18	4 ^e	197	0	N/P ^f	100 (82,4; 100)	98,0 (95,0; 99,2)

CI = interval pouzdanosti, FN = lažno negativno, FP = lažno pozitivno, N = veličina uzorka, NPA = negativno postotno slaganje, PPA = pozitivno postotno slaganje, TN = istinski negativno, TP = istinski pozitivno.

^a Prevalencija u ispitivanju prijavljena na temelju usporednog testiranja.

^b CI rezultata.

^c Dva nepodudarna lažno pozitivna prospektivna ispitka bila su negativna na *Campylobacter* prema alternativnom NAAT testu.

^d Nepodudarni lažno negativni prospektivni ispitak bio je negativan na *Campylobacter* prema alternativnom NAAT testu.

^e Tri od četiri nepodudarna lažno pozitivna retrospektivna ispitka bila su pozitivna na *Campylobacter* prema alternativnom NAAT testu.

^f Izračun prevalencije nije primjenjiv.

Tablica 15: Klinička učinkovitost – *Shigella/EIEC*

Podrijetlo ispitka	N	TP	FP	TN	FN	Prevalencija ^a (%)	% PPA (95-postotni CI) ^b	% NPA (95-postotni CI) ^b
Prospektivni (svježi)	1521	27	0	1494	0	1,8	100 (87,5; 100)	100 (99,7; 100)
Retrospektivni (zamrznuti)	219	19	1 ^c	199	0	N/P ^d	100 (83,2; 100)	99,5 (97,2; 99,9)

CI = interval pouzdanosti, FN = lažno negativno, FP = lažno pozitivno, N = veličina uzorka, NPA = negativno postotno slaganje, PPA = pozitivno postotno slaganje, TN = istinski negativno, TP = istinski pozitivno.

^a Prevalencija u ispitivanju prijavljena na temelju usporednog testiranja.

^b CI rezultata.

^c Nepodudarni lažno pozitivni retrospektivni ispitak bio je pozitivan na *Shigella/EIEC* prema alternativnom NAAT testu.

^d Izračun prevalencije nije primjenjiv.

Tablica 16: Klinička učinkovitost – Shiga toksini 1 i 2 (*stx1/stx2*)

Podrijetlo ispitka	N	TP	FP	TN	FN	Prevalencija ^a (%)	% PPA (95-postotni CI) ^b	% NPA (95-postotni CI) ^b
Prospektivni (svježi)	1520	7	5 ^c	1508	0	0,5	100 (64,6; 100)	99,7 (99,2; 99,9)
Retrospektivni (zamrznuti)	219	39	8 ^d	172	0	N/P ^e	100 (91,0; 100)	95,6 (91,5; 97,7)
Umjetni (zamrznuti)	126	63	0	63	0	N/P ^e	100 (94,3; 100)	100 (94,3; 100)

CI = interval pouzdanosti, FN = lažno negativno, FP = lažno pozitivno, N = veličina uzorka, NPA = negativno postotno slaganje, PPA = pozitivno postotno slaganje, TN = istinski negativno, TP = istinski pozitivno.

^a Prevalencija u ispitivanju prijavljena na temelju usporednog testiranja.

^b CI rezultata.

^c Pet nepodudarnih lažno pozitivnih prospektivnih ispitaka bilo je pozitivno na *stx1/stx2* prema alternativnom NAAT testu.

^d Osam nepodudarnih lažno pozitivnih retrospektivnih ispitaka bilo je pozitivno na *stx1/stx2* prema alternativnom NAAT testu.

^e Izračun prevalencije nije primjenjiv.

Četrnaest (14) koinfekcija otkrivenih testom za GI bakterije Panther Fusion opisano je u Tablica 17. Devet (9) koinfekcija također je otkriveno usporednim NAAT testom.

Tablica 17: Koinfekcije otkrivene u prospektivnim i retrospektivnim ispiscima

Koinfekcije	Otkriveno testom za GI bakterije Panther Fusion (n)	Potvrđeno usporednim testom (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

Bibliografija

1. WHO's first ever global estimates of foodborne diseases find children under 5 account for almost one third of deaths. Objavljeno 3. prosinca 2015. Pristupljeno 27. svibnja 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. Preuzeto 27. svibnja 2025. s 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. Ažurirano 19. ožujka 2024. Pristupljeno 30. svibnja 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. Ažurirano 18. ožujka 2024. Pristupljeno 2. lipnja 2025. <https://www.cdc.gov/shigella/hcp/clinical-overview/index.html>
6. Centers for Disease Control and Prevention. Clinical Overview of *Campylobacter*. CDC. Ažurirano 30. siječnja 2025. Pristupljeno 30. svibnja 2025. <https://www.cdc.gov/campylobacter/hcp/clinical-overview/index.html>
7. Centers for Disease Control and Prevention. About Campylobacter infection. CDC. Ažurirano 10. svibnja 2024. Pristupljeno 2. lipnja 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. Pristupljeno 30. svibnja 2025. <https://ph.health.mil/cdt/cphe-cdt-e-coli-shiga-toxin-producing-ref.pdf>

Kontaktne podatke



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australski naručitelj
Hologic (Australia &
New Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

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

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion i povezani logotipi zaštitni su znakovi i/ili registrirani zaštitni znakovi društva Hologic, Inc. i/ili njegovih podružnica u Sjedinjenim Američkim Državama i/ili drugim zemljama.

Svi drugi zaštitni znakovi koji se mogu pojaviti u ovoj uputi vlasništvo su svojih vlasnika.

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

©2026. Hologic, Inc. Sva prava pridržana.

AW-34377-2501 Rev. 003

Travanj 2026.

Povijest revizija	Datum	Opis
AW-34377-2501 Rev. 001	Kolovoz 2025.	• Prvo izdanje
AW-34377-2501 Rev. 002	Studenj 2025.	• Ispravljeno je negativno postotno slaganje za retrospektivno zamrznute uzorke u Tablici 14. • Manje izmjene teksta.
AW-34377-2501 Rev. 003	Travanj 2026.	• Ažurirana je testna koncentracija s 10^6 u 10^4 za <i>Clostridium tertium</i> u tablici 4: Mikroorganizmi testirani na križnu reaktivnost i mikrobnu interferenciju. • Razna ažuriranja stila, zaštitnih znakova i formatiranja.