

GI Expanded 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 prošireni 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	20
Analitička specifičnost: Križna reaktivnost i mikroba interferencija – mokro testiranje	21
Koinfekcija / kompetitivna interferencija	23
Interferencija	24
Prijenosna kontaminacija	26
Preciznost/ponovljivost unutar laboratorija	27
Obnovljivost	28
Klinička učinkovitost	30
Bibliografija	33
Kontaktne podaci	34

Opće informacije

Predviđena uporaba

Prošireni test za GI bakterije Panther Fusion™ multipleksni je PCR *in vitro* dijagnostički test u stvarnom vremenu za brzo i kvalitativno otkrivanje i diferencijaciju bakterija *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. cholerae*), *Escherichia coli* O157 i *Plesiomonas shigelloides*. Nukleinske kiseline izoliraju se i pročišćavaju iz očuvanih ispitaka stolice prikupljenih od osoba koje pokazuju znakove i simptome gastroenteritisa.

Ovaj test namijenjen je za pomoć u diferencijalnoj dijagnostici infekcija uzrokovanih bakterijama *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. cholerae*), *Escherichia coli* O157 i *Plesiomonas shigelloides*. 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 *Y. enterocolitica* uzrokuje 116.716 slučajeva bolesti, 637 hospitalizacija i 34 smrtnih slučajeva u Sjedinjenim Američkim Državama svake godine.⁴ Djeca se zaraze češće od odraslih, a infekcija je češća zimi.⁵

Vibrioza uzrokuje otprilike 80.000 slučajeva bolesti i 100 smrtnih slučajeva u Sjedinjenim Američkim Državama svake godine. Većina infekcija javlja se od svibnja do listopada kada su temperature vode toplije.⁶ Procjenjuje se da je oko 52.000 tih slučajeva bolesti posljedica konzumiranja kontaminirane hrane.⁶ Procjenjuje se da najčešće prijavljena vrsta, *V. parahaemolyticus*, uzrokuje 45.000 slučajeva bolesti svake godine u Sjedinjenim Američkim Državama.⁵

Procjenjuje se da se u Sjedinjenim Američkim Državama svake godine dogodi 265.000 infekcija bakterijom *Escherichia coli* koja proizvodi Shiga toksin (STEC), pri čemu STEC O157 uzrokuje oko 36 % tih infekcija.⁴ Stručnjaci za javno zdravstvo oslanjaju se na procjene, a ne na stvarni broj infekcija jer se ne dijagnosticiraju sve STEC infekcije.⁷

Izbijanja proljevni bolesti povezana su s kontaminiranom vodom i kamenicama koje sadržavaju *P. shigelloides*, a uočeno je smanjenje težine i trajanja simptoma nakon odgovarajuće antimikrobne terapije.⁸

Načela postupka

Sustav Panther Fusion u potpunosti automatizira obradu ispitaka, uključujući lizu uzoraka, hvatanje nukleinskih kiselina, amplifikaciju i otkrivanje za prošireni 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. Uхваćene čestice zatim se odvajaju od rezidualne matrice ispitka u magnetskom polju nizom koraka ispiranja blagim deterdžentom. Uхваćena 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>Yersinia enterocolitica</i>	<i>InvA</i> (invazivni antigen A)	FAM
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>gyrB</i> (giraza B)	HEX
<i>Vibrio vulnificus</i>	<i>gyrB</i> (giraza B)	HEX
<i>Vibrio cholerae</i>	<i>ompW</i> (protein W vanjske membrane)	HEX
<i>Escherichia coli</i> O157	<i>rfbE</i> (perozamin sintaza – O-antigen)	ROX
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>hugA</i> (gen za iskorištavanje hema A)	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 prošireni test za GI bakterije Panther Fusion, poslužite se osnovnim jedinstvenim identifikatorom proizvoda (BUDI): 54200455DIAGPFGIEXBACUK.

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 izlijevanja, 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.hologic.com](http://www.hologic.com/package-inserts). 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 proširenog 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
Proširena 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 za prošireni test 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 prvi put upotrijebi.

^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 prošireni 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 prolje, upotrijebite novi komplet za prikupljanje ispitaka brisa Aptima Multitest. Stavite štapić u epruvetu i lagano ga vrtite u epruveti 5 sekundi kako biste oslobodili materijal. Ostavite štapić u epruveti.

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 Yersinia 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 ispiti 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 jednim 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: Ispiti 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 prošireni test za GI bakterije Panther Fusion

Pakiranje testa

Komponente	Br. dijela	Skladištenje
Testni uložak proširenog testa za GI bakterije Panther Fusion, 96 testova Testni uložak proširenog testa za GI bakterije Panther Fusion, 12 testova, 8 po kutiji	PRD-07121	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 proširenog testa za GI bakterije Panther Fusion Epruveta s pozitivnom kontrolom proširenog testa za GI bakterije Panther Fusion, 5 po kutiji Epruveta negativne kontrole Panther Fusion, 5 po kutiji	PRD-07122	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 katalogske 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: Pogledajte Priručnik za rukovatelja sustavom Panther / Panther Fusion za dodatne informacije o postupku.

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 proširenog testa za GI bakterije Panther Fusion i negativna kontrola 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 prošireni 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 trenutačni 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 *Yersinia enterocolitica*, vrste *Vibrio*, *Escherichia coli* O157 i/ili *Plesiomonas shigelloides*. 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 otkrivanja *Yersinia enterocolitica*, vrste *Vibrio*, *Escherichia coli* O157 i *Plesiomonas shigelloides* prijavljuju se zasebno. 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

Plesio rezultat	Yersinia rezultat	Vibrio rezultat	O157 Rezultat ^a	IC – rezultat	Tumačenje
Neg	Neg	Neg	Neg	Valjano	<i>Yersinia enterocolitica</i> , vrste <i>Vibrio</i> , <i>E. coli</i> O157 i <i>Plesiomonas shigelloides</i> nisu otkriveni.
Neg	POS	Neg	Neg	Valjano	<i>Yersinia enterocolitica</i> otkrivena.
Neg	Neg	POS	Neg	Valjano	Vrste <i>Vibrio</i> otkrivene.
Neg	Neg	Neg	POS	Valjano	<i>E. coli</i> O157 otkrivena.
POS	Neg	Neg	Neg	Valjano	<i>Plesiomonas shigelloides</i> otkriven.
Neg	POS	POS	Neg	Valjano	<i>Yersinia enterocolitica</i> i vrste <i>Vibrio</i> otkrivene.
Neg	POS	Neg	POS	Valjano	<i>Yersinia enterocolitica</i> i <i>E. coli</i> O157 otkrivene.
POS	POS	Neg	Neg	Valjano	<i>Yersinia enterocolitica</i> i <i>Plesiomonas shigelloides</i> otkriveni.
Neg	Neg	POS	POS	Valjano	Vrste <i>Vibrio</i> i <i>E. coli</i> O157 otkrivene.
POS	Neg	POS	Neg	Valjano	Vrste <i>Vibrio</i> i <i>Plesiomonas shigelloides</i> otkrivene.
POS	Neg	Neg	POS	Valjano	<i>E. coli</i> O157 i <i>Plesiomonas shigelloides</i> otkriveni.
Neg	POS	POS	POS	Valjano	<i>Yersinia enterocolitica</i> , vrste <i>Vibrio</i> i <i>E. coli</i> O157 otkrivene. Infekcije s 3 bakterije su rijetke. Ponovno testirajte za potvrdu rezultata.
POS	POS	POS	Neg	Valjano	<i>Yersinia enterocolitica</i> , vrste <i>Vibrio</i> i <i>Plesiomonas shigelloides</i> otkriveni. Infekcije s 3 bakterije su rijetke. Ponovno testirajte za potvrdu rezultata.
POS	POS	Neg	POS	Valjano	<i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>E. coli</i> O157 i <i>Plesiomonas shigelloides</i> otkriveni. Infekcije s 3 bakterije su rijetke. Ponovno testirajte za potvrdu rezultata.
POS	Neg	POS	POS	Valjano	Vrste <i>Vibrio</i> , <i>E. coli</i> O157 i <i>Plesiomonas shigelloides</i> otkriveni. Infekcije s 3 bakterije su rijetke. Ponovno testirajte za potvrdu rezultata.
POS	POS	POS	POS	Valjano	<i>Yersinia enterocolitica</i> , vrste <i>Vibrio</i> , <i>E. coli</i> O157 i <i>Plesiomonas shigelloides</i> 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.

^a Test za GI bakterije Panther Fusion daje rezultate za gene Shiga toksina *stx1/stx2*. Imajte na umu da su identificirani sojevi *E. coli* O157 koji ne nose gene za toksine slične Shiga toksinu. Međutim, klinički značaj tih sojeva koji nisu STEC O157 nije utvrđen.

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) proširenog 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 *Yersinia* (2 soja), *Vibrio* (3 soja), *Plesiomonas* (2 soja) i STEC O157 (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>Yersinia enterocolitica</i> , 33114	91	1820
<i>Yersinia enterocolitica</i> , 1375, O:8	94	1880
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> , EB101	90	1800
<i>Vibrio vulnificus</i> , B9629	10	200
<i>Vibrio cholerae</i> , 8021	33	660
STEC O157:H7, EDL 931	53	1060
O157:NM, CDC 92-3073	357	7140
<i>Plesiomonas shigelloides</i> , CDC 3085-55	65	1300
<i>Plesiomonas shigelloides</i> , GNI 14	34	680

CFU = 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 proširenog 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 ili više analita. Za sojeve koji nisu otkriveni pri 3X LoD provedeno je dodatno testiranje na višim koncentracijama dok nije uočena pozitivnost od 100 %. Tablica 3 prikazuje najnižu koncentraciju svakog soja pri kojoj je uočena pozitivnost od 100 %.

Tablica 3: Sažetak uključivosti/reaktivnosti za analite proširenog 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>Yersinia enterocolitica</i>	BEI NR-207	CDC 497-70, O:8	282	5640
	BEI NR-212	NCTC 11175, O:3	282	5640
	23715	Billups-1803-68, O:8	282	5640
	49397 ^c	1375, O:8	282	5640
	NCTC 10463	P 77, O:5, 27	282	5640
	CCUG 4588	Tip 2, O:9	282	5640
	CCUG 8050	N/P	282	5640
	CCUG 8232	Tip 5, O:1, 2, 3 O:2, 3 O:3/XI	282	5640
	CCUG 8234	Tip 4	282	5640
	55075	O:9	282	5640
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	27729	WA, tip 1, O:8	282	5640
	BEI NR-21990	48057, O4: K12	270	5400
	BEI NR-21992	KXV 755, O4: K41	270	5400
	BAA-242	VP250, O1:KUT	270	5400
	27969	FC 1011	270	5400
	BAA-241	VP232, O4:K68	270	5400
	33845	117 [CDC KC830]	270	5400
	43996	NCTC 10884 [70/116655]	270	5400
	33846	205 [9302]	270	5400
	49529	MDL 3875-7-83, O4:K12	270	5400
	CCUG 34902	N/P	270	5400
	CCUG 67711	N/P	270	5400
	33847	279 [11590]	270	5400

Tablica 3: Sažetak uključenosti/reaktivnosti za analite proširenog 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>Vibrio vulnificus</i>	33817	329 [CDC B3547], biotip 2	33	660
	BAA-86	CDC 9505-95	33	660
	CCUG 38297	N/P	33	660
	CCUG 47321	N/P	33	660
	29306	CDC A1402 [P. Baumann 328]	33	660
	43382	VVL1	33	660
	29307	CDC A8694	33	660
	CCUG 38297 ^b	N/P	55	1100
<i>Vibrio cholerae</i>	BEI NR-147	N16961, O:1	99	1980
	BEI NR-148	CVD 101, O:1	99	1980
	BEI NR-149	Nanking 32/123, O:2	99	1980
	BEI NR-152	Nanking 32/124 (NCTC 8042), O:7	99	1980
	14033	NCTC 8457 [R. Hugh 1092], O1, Inaba	99	1980
	9459	AMC 20-A-10 [R. Hugh 583], Inaba	99	1980
	CCUG 2573	NAG/NCV	99	1980
	CCUG 2569	NAG/NCV	99	1980
	CCUG 4070	Nije O-1	99	1980
	CCUG 21589	18	99	1980
	CCUG 56875	N/P	99	1980
	CCUG 53725	O1/O139	99	1980
	CCUG14542	n.p.	99	1980
	9458	AMC 20-A-41 [R. Hugh 582], Ogawa	99	1980
	25870	569B	99	1980
STEC O157: H7	43890	CDC C984 [CDC 3526-87], H7	159	3180
	43895	CDC EDL 933, H7	159	3180
	43894	CDC EDL 932, H7	159	3180
	700927	EDL 933, H7:K-	159	3180
STEC O157: NM	700375	CDC 94-G7771, NM	1197	23.940
	700377	CDC 92-3099, NM	1197	23.940
	700378 ^c	CDC 92-3073, NM	1197	23.940
	AR banka br. 427 ^a	N/P	1197	23.940
	AR banka br. 428 ^a	N/P	1197	23.940
	AR banka br. 429 ^a	N/P	1197	23.940
	AR banka br. 430 ^a	N/P	1197	23.940

Tablica 3: Sažetak uključenosti/reaktivnosti za analite proširenog 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>Plesiomonas shigelloides</i>	14030	CDC 16408 [Ferguson i Henderson C27, RH 864], O:17	195	3900
	51903 ^c	GNI 14	195	3900
	51572	CIP 69.35 [2886]	195	3900
	CCUG 7041A	O17: H2	195	3900
	CCUG 9221	O17	195	3900
	CCUG 14309	O17: H2	195	3900
	CCUG 14597	N/P	195	3900

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

^a Ovi su sojevi procijenjeni korištenjem više LoD vrijednosti od 2 serotipa, što je NM serotip.

^b Za taj soj 100-postotna pozitivnost uočena je pri ~ 5X LoD. *In silico* analiza pokazala je 100-postotnu homologiju s regijom amplifikacije.

^c Sojevi korišteni za utvrđivanje LoD-a.

Uključenost/reaktivnost – *in silico* analiza

Uključenost proširenog 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 ampikona) isključene su iz analize.

Na temelju *in silico* analize svih sekvenci dostupnih do 26. ožujka 2024. u bazama podataka, predviđa se da će prošireni test za GI bakterije Panther Fusion otkriti 99,9 % od 1054 procijenjene sekvence *Yersinia Enterocolitica*, 99,5 % od 1337 procijenjenih sekvenci *Vibrio parahaemolyticus*, 99,1 % od 1180 sekvenci *Vibrio vulnificus*, 98,0 % od 1189 sekvenci *Vibrio cholerae*, 100 % od 2004 sekvenci STEC O157 i 91,5 % od 47 sekvenci *Plesiomonas shigelloides*.

Analitička specifičnost: Križna reaktivnost i mikrobna interferencija – mokro testiranje

Analitička specifičnost (križna reaktivnost) i mikrobna interferencija za prošireni 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 109 bakterija, virusa, parazita i kvasaca navedenih u Tablica 4 testirani su u obrađenoj negativnoj CBS matrici u odsutnosti i u prisutnosti analita proširenog 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. Ako je u početnom testiranju uočena križna reaktivnost ili interferencija, organizam je testiran pri nižim koncentracijama dok se nije uočio očekivani rezultat. Nije uočena križna reaktivnost ni mikrobna interferencija ni s jednim od organizama testiranih proširenim 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>Enterococcus faecalis</i>	10^6 CFU/mL
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	10^6 CFU/mL	<i>Enterobacter aerogenes</i>	10^6 CFU/mL
<i>Streptococcus pyogenes</i>	10^6 CFU/mL	<i>Enterobacter cloacae</i>	10^6 CFU/mL
<i>Trabulsiella guamensis</i>	10^6 CFU/mL	<i>Escherichia fergusonii</i>	10^6 CFU/mL
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	10^6 kopija rRNK/mL	<i>Escherichia hermanii</i>	10^6 CFU/mL
<i>Escherichia coli</i> (koja ne proizvodi Shiga toksin)	10^6 CFU/mL	<i>Escherichia vulneris</i>	10^6 CFU/mL
<i>Giardia lamblia</i> BG-A ^a	10^6 kopija/mL	<i>Gardnerella vaginalis</i>	10^6 CFU/mL
<i>Cyclospora</i> ^a	10^6 kopija/mL	<i>Helicobacter pylori</i>	10^6 CFU/mL
<i>Cryptosporidium</i> ^a	10^6 kopija/mL	<i>Klebsiella oxytoca</i>	10^6 CFU/mL
<i>Norovirus (Noro GI)</i> ^a	10^5 kopija/mL	<i>Klebsiella ozaenae</i>	10^6 CFU/mL
<i>Astrovirus</i> ^a	10^5 kopija/mL	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10^6 CFU/mL
<i>Sapovirus (GI)</i> ^a	10^5 kopija/mL	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	10^6 CFU/mL
<i>Enterovirus (Ent V)</i> ^a	10^5 kopija/mL	<i>Lactobacillus crispatus</i>	10^6 CFU/mL
<i>Rinovirus</i> ^a	10^5 kopija/mL	<i>Lactococcus lactis</i>	10^6 CFU/mL
<i>Koronavirus 229E</i>	10^5 TCID ₅₀ /mL	<i>Listeria grayi</i>	10^6 CFU/mL
<i>Koksaki virus tip B4</i>	10^5 TCID ₅₀ /mL	<i>Listeria monocytogenes</i>	10^6 CFU/mL
<i>Adenovirus tipa 7A</i>	10^5 TCID ₅₀ /mL	<i>Morganella morganii</i>	10^6 CFU/mL
<i>Rotavirus</i> ^a	10^5 kopija/mL	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	10^6 CFU/mL
<i>Anaerococcus tetradius</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>Prevotella bivia</i>	10^6 CFU/mL
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	10^6 CFU/mL	<i>Prevotella melaninogenica</i>	10^6 CFU/mL

Tablica 4: Mikroorganizmi testirani na križnu reaktivnost i mikrobnu interferenciju (nastavak)

Mikroorganizam	Testna koncentracija	Mikroorganizam	Testna koncentracija
<i>Aeromonas hydrophila</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Proteus mirabilis</i>	10 ⁶ kopija rRNK/mL
<i>Alcaligenes faecalis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Proteus penneri</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Proteus vulgaris</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Anaerococcus vaginalis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Providencia alcalifaciens</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Arcobacter butzleri</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Providencia rettgeri</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bacillus cereus</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Providencia stuartii</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bacteriodes fragilis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bacteroides vulgatus</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Serratia liquefaciens</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Serratia marcescens</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Bifidobacterium longum</i>	10 ⁶ kopija rRNK/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter fetus</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter rectus</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Streptococcus anginosus</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Campylobacter sputorum</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Candida albicans</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Yersinia bercovieri</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Citrobacter freundii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Citrobacter koseri</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Yersinia rohdei</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Clostridium difficile</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Campylobacter lari</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Clostridium perfringens</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Entamoeba histolytica</i>	10 ⁴ stanica/mL
<i>Clostridium ramosum</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Megasphaera elsdenii</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Clostridium sordellii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Chlamydia trachomatis</i>	10 ⁵ IFU/mL
<i>Clostridium tertium</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Leptotrichia buccalis</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Collinsella aerofaciens</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Citomegalovirus</i>	10 ⁵ TCID ₅₀ /mL
<i>Corynebacterium genitalium</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Salmonella enterica</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Cronobacter sakazakii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Campylobacter jejuni</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Edwardsiella tarda</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Shigella sonnei</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Eggerthella lenta</i>	10 ⁶ kopija rRNK/mL	STEC – <i>stx1</i>	10 ⁶ CFU/mL
STEC – <i>stx2</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Vibrio mimicus</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Vibrio fluvialis</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Yersinia frederiksenii</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Vibrio furnissii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Yersinia kristensenii</i>	10 ⁶ CFU/mL
<i>Vibrio metschnikovii</i>	10 ⁶ CFU/mL	<i>Vibrio alginolyticus</i> ^b	10 ⁴ CFU/mL

CFU = 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 mikrobnu interferenciju jer virus uzgojen na kulturi ili pročišćena nukleinska kiselina cijelog genoma nisu lako dostupni.

^b Križna reaktivnost uočena je pri koncentracijama ≥ 10⁵ CFU/mL.

Koinfekcija / kompetitivna interferencija

Kompetitivna interferencija u proširenom 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 10^6 CFU/mL. Osim toga, analiti su također testirani u odsutnosti drugog analita. Ako je za analit niske koncentracije uočeno manje od 100 % pozitivnosti, analit visoke koncentracije je razrjeđivan dok se nije postigla koncentracija u kojoj je za analit niske koncentracije postignuto 100 % pozitivnosti. Najviša koncentracija konkurentnog analita pri kojoj je analit niske koncentracije zadržao 100-postotnu pozitivnost prikazana je u Tablica 5. Kada su analiti testirani pri visokoj koncentraciji, svi rezultati za ostale analite zadržali su očekivanu pozitivnost; nije uočena kompetitivna interferencija.

Tablica 5: Sažetak rezultata koinfekcije

Analit 1		Analit 2		Yersinia % poz.	Vibrio % poz.	STEC O157 % poz.	Plesiomonas % poz.
Naziv	3X LoD (CFU/mL) ^a	Naziv	Visoka konc. (CFU/mL) ^a				
Negativan	n.p.	Negativan	n.p.	0 %	0 %	0 %	0 %
Yersinia	282	Ne postoji	0	100 %	0 %	0 %	0 %
		Vibrio ^b	10^4	100 %	100 %	0 %	0 %
		STEC O157	10^6	100 %	0 %	100 %	0 %
		Plesiomonas	10^6	100 %	0 %	0 %	100 %
Vibrio	270	Ne postoji	0	0 %	100 %	0 %	0 %
		Yersinia	10^6	100 %	100 %	0 %	0 %
		STEC O157	10^6	0 %	100 %	100 %	0 %
		Plesiomonas	10^6	0 %	100 %	0 %	100 %
STEC O157	1197	Ne postoji	0	0 %	0 %	100 %	0 %
		Yersinia	10^6	100 %	0 %	100 %	0 %
		Vibrio ^b	10^4	0 %	100 %	100 %	0 %
		Plesiomonas	10^6	0 %	0 %	100 %	100 %
Plesiomonas	195	Ne postoji	0	0 %	0 %	0 %	100 %
		Yersinia	10^6	100 %	0 %	0 %	100 %
		Vibrio	10^6	0 %	100 %	0 %	100 %
		STEC O157	10^6	0 %	0 %	100 %	100 %
Ne postoji	0	Yersinia	10^6	100 %	0 %	0 %	0 %
		Vibrio	10^6	0 %	100 %	0 %	0 %
		STEC O157	10^6	0 %	0 %	100 %	0 %
		Plesiomonas	10^6	0 %	0 %	0 %	100 %

CFU = jedinice koje stvaraju kolonije, Konc. = koncentracija, Poz. = pozitivno.

^a Koncentracija analita u epruveti Aptima Multitest.

^b Manje od 100 % pozitivnih rezultata uočeno je za analit 1 s *Vibrio* pri $\geq 10^5$ CFU/mL.

Interferencija

Potencijalni inhibitorni učinci endogenih i egzogenih tvari koje mogu biti prisutne u ispitku procijenjeni su proširenim 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 proširenog 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 proširenog 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	Amoksisilin	Amoksisilin	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	Glicerol	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 proširenog testa za GI bakterije Panther Fusion. Procijenjeni mediji za konzerviranje 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 proširenog testa za GI bakterije pri 3X LoD. Usporediva učinkovitost uočena je sa svim Cary-Blair medijima. Slična interferencija uočena je kada su ispitci obrađeni u mediju koji sadržava fiksative.

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

Test za GI bakterije i prošireni test za GI bakterije Panther Fusion pripadaju istoj obitelji testova za koje se stolica u Cary Blair mediju upotrebljava kao vrsta uzorka i koji slijede identične korake obrade testa. Prijenosna kontaminacija procijenjena je korištenjem testa za GI bakterije Panther Fusion kao reprezentativnog testa i pokazao je stopu prijenosa od 0 %.

Preciznost/ponovljivost unutar laboratorija

Preciznost unutar laboratorija proširenog testa za GI bakterije Panther Fusion procijenjena je panelom od 5 sastavnica koji se sastojao od analita testa u obrađenoj negativnoj CBS matrici. Panel od 5 sastavnica uključivao je 1 negativnu sastavnicu panela, 2 sastavnice s jednim analitom (*Yersinia*) i 2 sastavnice s više analita (s *Vibrio*, STEC O157 i *Plesiomonas*). 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	Negativan	Negativan (interna kontrola)	162/162	100	28,0	0,11	0,39	0,32	1,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,42	0,14	0,51	0,39	1,39
2	Nisko poz. (1,5X LoD)	<i>Yersinia</i>	162/162	100	34,6	0,07	0,20	0,08	0,23	0,04	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,48	1,39	0,50	1,43
3	Umjer. poz. (3X LoD)	<i>Yersinia</i>	162/162	100	33,7	0,03	0,08	0,09	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,41	1,23	0,42	1,26
4	Nisko poz. (1,5X LoD)	<i>Vibrio</i>	162/162	100	33,7	0,12	0,35	0,07	0,21	0,01	0,04	0,00	0,00	0,17	0,52	0,23	0,69	0,32	0,95
		STEC O157	162/162	100	32,4	0,02	0,08	0,04	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,34	0,28	0,87	0,31	0,95
		<i>Plesiomonas</i>	162/162	100	33,8	0,08	0,25	0,05	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	<0,01	0,03	0,25	0,73	0,26	0,78
5	Umjer. poz. (3X LoD)	<i>Vibrio</i>	162/162	100	32,7	0,07	0,21	0,12	0,37	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,57	0,20	0,06	0,30	0,93
		STEC O157	162/162	100	31,3	0,02	0,08	0,06	0,20	0,00	0,00	0,03	0,10	0,00	0,00	0,21	0,68	0,22	0,72
		<i>Plesiomonas</i>	162/162	100	33,1	0,05	0,17	<0,01	0,03	0,01	0,03	0,06	0,17	0,00	0,00	0,19	0,56	0,20	0,61

Ct = prag ciklusa, CV = koeficijent varijacije, Umjer. = umjereno, N = veličina uzorka, Poz. = pozitivno, SD = standardna devijacija.

^a Slaganje s očekivanim pozitivnim rezultatom panela.

Obnovljivost

Obnovljivost proširenog testa za GI bakterije Panther Fusion procijenjena je u 3 centra u SAD-u korištenjem 1 negativne sastavnice panela i 4 sastavnice panela pozitivne na 1 ili 3 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 *Yersinia*, *Vibrio*, STEC O157 i *Plesiomonas* (Tablica 9).

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

Slaganje s očekivanim rezultatima			
Opis	Analit	N	% (95-postotni CI)
Neg	Interna kontrola	89/89	100 (95,9 – 100)
Nisko poz. ^a	<i>Yersinia</i> ^c	90/90	100 (95,9 – 100)
	<i>Vibrio</i> ^c	90/90	100 (95,9 – 100)
	STEC O157 ^c	90/90	100 (95,9 – 100)
	<i>Plesiomonas</i> ^c	90/90	100 (95,9 – 100)
Umjer. poz. ^b	<i>Yersinia</i> ^{c d}	90/90	100 (95,9 – 100)
	<i>Vibrio</i> ^c	90/90	100 (95,9 – 100)
	STEC O157 ^c	90/90	100 (95,9 – 100)
	<i>Plesiomonas</i> ^c	90/90	100 (95,9 – 100)

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 Sojevi *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio parahaemolyticus*, STEC O157 i *Plesiomonas shigelloides* upotrebljavali su se za izradu pozitivnih panela.

^d Jedan (1) lažno pozitivan rezultat za *Vibrio* dobiven je za umjereno pozitivnu sastavnicu panela *Yersinia*.

Varijabilnost signala izmjerena je kao %CV vrijednosti Ct. Ukupna varijabilnost signala bila je ≤ 1,61 % (SD ≤ 0,55) za sve komponente panela (Tablica 10). Za izvore varijacije osim faktora „unutar ciklusa” vrijednosti %CV iznosile su ≤ 1,03 % za sve komponente panela. Varijabilnost signala bila je ≤ 1,01 % (SD ≤ 0,33) za pozitivne kontrole proširenog testa za GI bakterije Panther Fusion (Tablica 11).

Tablica 10: Varijabilnost signala proširenog 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>Yersinia</i>	90	34,7	0,17	0,50	0,21	0,61	0,09	0,27	0,44	1,25	0,52	1,51
	<i>Vibrio</i>	90	33,7	0,16	0,49	0,08	0,25	0,00	0,00	0,26	0,77	0,32	0,95
	STEC O157	90	32,4	0,17	0,53	0,13	0,41	0,00	0,00	0,30	0,92	0,37	1,14
	<i>Plesiomonas</i>	90	33,9	0,16	0,47	0,06	0,17	0,00	0,00	0,32	0,94	0,36	1,06
Umjer. poz. ^b	<i>Yersinia</i>	90	33,8	0,35	1,03	0,19	0,58	0,07	0,21	0,37	1,08	0,55	1,61
	<i>Vibrio</i>	90	32,7	0,20	0,60	0,09	0,26	0,11	0,35	0,22	0,68	0,33	1,01
	STEC O157	90	31,4	0,24	0,75	0,08	0,27	0,07	0,21	0,26	0,81	0,36	1,16
	<i>Plesiomonas</i>	90	33,2	0,22	0,67	0,12	0,37	0,00	0,00	0,26	0,78	0,36	1,09

Ct = 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 proširenog 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>Yersinia</i>	30	32,7	0,22	0,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25	0,75	0,33	1,01
	<i>Vibrio</i>	30	33,4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29	0,86	0,29	0,86
	STEC O157	30	31,5	0,11	0,35	0,00	0,00	0,07	0,23	0,26	0,83	0,29	0,93
	<i>Plesiomonas</i>	30	32,9	0,05	0,16	0,08	0,23	0,12	0,37	0,24	0,74	0,29	0,87

Ct = 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 10 klinika u SAD-u od pedijatrijskih ili odraslih pacijenata za koje se sumnja da imaju akutni gastroenteritis. Svi ispiti testirani su proširenim testom za GI bakterije Panther Fusion i usporednim testovima: PCR s dvosmjernim sekvenciranjem (provedenim u duplikatu) za STEC O157 i testom amplifikacije nukleinskih kiselina (NAAT) koji je odobrila FDA za sve ostale ciljne organizme. 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 251 retrospektivni ispitak; 94 ispitka isključena su iz analiza učinkovitosti (na primjer, ispiti koji su potjecali od istih osoba, nevaljani rezultati proširenog testa za GI bakterije Panther Fusion ili usporednog testa za sve ciljne organizme). Dodatnih 189 umjetno dobivenih ispitaka procijenjeno je kako bi se nadopunili prospektivni i retrospektivni podaci za sve ciljne organizme. Od 1919 ispitaka testiranih u valjanim ciklusima korištenjem proširenog testa za GI bakterije Panther Fusion, 36 (1,9 %) je imalo početne nevaljane rezultate. Nakon ponovnog testiranja 25 od 36 uzoraka dalo je valjane rezultate, što znači da je ukupno 11 (0,6 %) ispitaka imalo konačni nevaljani rezultat. Konačni skup podataka sastojao se od 1894 ispitka koji se mogu procijeniti; nisu svi bili pogodni za procjenu svih analita. Demografski podaci za 1705 prospektivnih i retrospektivnih ispitaka koji se mogu procijeniti navedeni su u Tablica 12.

Tablica 12: Sažetak demografskih podataka ispitanika

		Ukupno N (%)	Prospektivni N (%)	Retrospektivni N (%)
Ukupan broj ispitaka		1705	1523	182
Spol	Ženski	888 (52,1)	793 (52,1)	95 (52,2)
	Muški	817 (47,9)	730 (47,9)	87 (47,8)
Dobna skupina	od 0 do 28 dana	7 (0,4)	7 (0,5)	0 (0)
	od 29 dana do < 2 godine	74 (4,3)	67 (4,4)	7 (3,8)
	od 2 do 5 godina	55 (3,2)	50 (3,3)	5 (2,7)
	od 6 do 11 godina	68 (4,0)	66 (4,3)	2 (1,1)
	od 12 do 17 godina	73 (4,3)	71 (4,7)	2 (1,1)
	od 18 do 21 godina	47 (2,8)	44 (2,9)	3 (1,6)
	od 22 do 64 godine	825 (48,4)	724 (47,5)	101 (55,5)
	≥ 65 godina	556 (32,6)	494 (32,4)	62 (34,1)

N = veličina populacije.

Značajke učinkovitosti za otkrivanje organizama *Yersinia*, *Vibrio*, STEC O157 i *Plesiomonas* prikazane su u Tablica 13 do Tablica 16.

Tablica 13: Klinička učinkovitost – *Yersinia* spp.

Podrijetlo ispitka	N	TP	FP	TN	FN	Prevalencija ^a (%)	% PPA (95-postotni CI) ^b	% NPA (95-postotni CI) ^b
Prospektivni (svježi)	1507	10	9 ^c	1487	1 ^d	0,7	90,9 (62,3; 98,4)	99,4 (98,9; 99,7)
Retrospektivni (zamrznuti)	182	15	3 ^e	164	0	N/P ^f	100 (79,6; 100)	98,2 (94,9; 99,4)
Umjetni (zamrznuti)	189	63	0	126	0	N/P ^f	100 (94,3; 100)	100 (97,0; 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 Šest od devet nepodudarnih lažno pozitivnih prospektivnih ispitaka bila su pozitivna na *Yersinia* prema alternativnom NAAT testu.

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

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

^f Izračun prevalencije nije primjenjiv.

Tablica 14: Klinička učinkovitost – *Vibrio* spp.

Podrijetlo ispitka	N	TP	FP	TN	FN	Prevalencija ^a (%)	% PPA (95-postotni CI) ^b	% NPA (95-postotni CI) ^b
Prospektivni (svježi)	1507	1	0	1505	1 ^c	0,1	50,0 (9,5; 90,5)	100 (99,7; 100)
Retrospektivni (zamrznuti)	182	9	6 ^d	167	0	N/P ^f	100 (70,1; 100)	96,5 (92,6; 98,4)
Umjetni (zamrznuti)	189	63	1 ^e	125	0	N/P ^f	100 (94,3; 100)	99,2 (95,6; 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 negativni prospektivni ispitak bio je pozitivan na *Vibrio* prema alternativnom NAAT testu.

^d Svih 6 nepodudarnih lažno pozitivnih retrospektivnih ispitaka bilo je pozitivno na *Vibrio* prema alternativnom NAAT testu.

^e Nepodudarni lažno pozitivni umjetno dobiveni ispitak bio je negativan na *Vibrio* prema alternativnom NAAT testu.

^f Izračun prevalencije nije primjenjiv.

Tablica 15: Klinička učinkovitost – STEC O157

Podrijetlo ispitka	N	TP	FP	TN	FN	Prevalencija ^a (%)	% PPA (95-postotni CI) ^b	% NPA (95-postotni CI) ^b
Prospektivni (svježi)	1522	1	2 ^c	1519	0	0,1	100 (20,7; 100)	99,9 (99,5; 100)
Retrospektivni (zamrznuti)	182	3	1 ^d	178	0	N/P ^g	100 (43,9; 100)	99,4 (96,9; 99,9)
Umjetni (zamrznuti)	189	62	1 ^e	125	1 ^f	N/P ^g	98,4 (91,5; 99,7)	99,2 (95,6; 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 1 od 2 nepodudarna lažno pozitivna prospektivna ispitka bio je negativan na STEC O157 prema alternativnom NAAT testu. Drugi nepodudarni rezultat bio je pozitivan na O157, ali negativan na *stx1/stx2* prema alternativnom NAAT testu.

^d Nepodudarni lažno pozitivni retrospektivni ispitak bio je pozitivan na STEC O157 prema alternativnom NAAT testu.

^e Nepodudarni lažno pozitivni umjetno dobiveni ispitak bio je negativan na STEC O157 prema alternativnom NAAT testu.

^f Nepodudarni lažno negativni umjetno dobiveni ispitak nije ponovno testiran alternativnim NAAT testom.

^g Izračun prevalencije nije primjenjiv.

Tablica 16: Klinička učinkovitost – *Plesiomonas*

Podrijetlo ispitka	N	TP	FP	TN	FN	Prevalencija ^a (%)	% PPA (95-postotni CI) ^b	% NPA (95-postotni CI) ^b
Prospektivni (svježi)	1507	1	1 ^c	1505	0	0,1	100 (20,7; 100)	99,9 (99,6; 100)
Retrospektivni (zamrznuti)	182	8	1 ^d	173	0	N/P ^f	100 (67,6; 100)	99,4 (96,8; 99,9)
Umjetni (zamrznuti)	189	62	0	126	1 ^e	N/P ^f	98,4 (91,5; 99,7)	100 (97,0; 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 Nepodudarni lažno pozitivni prospektivni ispitak bio je pozitivan na *Plesiomonas* prema alternativnom NAAT testu.

^d Nepodudarni lažno pozitivni retrospektivni ispitak bio je pozitivan na *Plesiomonas* prema alternativnom NAAT testu.

^e Nepodudarni lažno negativni umjetno dobiveni ispitak nije ponovno testiran alternativnim NAAT testom.

^f Izračun prevalencije nije primjenjiv.

Koinfekcije nisu otkrivene proširenim testom za GI bakterije Panther Fusion ni usporednim metodama u prospektivnim i retrospektivnim ispitcima.

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. Datum objave nepoznat. 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;111(5):602–622. doi:10.1038/ajg.2016.141
4. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(1):7–15. doi:10.3201/eid1701.P11101
5. Ong KL, Gould LH, Chen DL, Jones TF, Scheftel J, Webb TH, Mody RK, Mahon BE. Changing epidemiology of *Yersinia enterocolitica* infections: markedly decreased rates in young black children, Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet), 1996-2009. *Clin Infect Dis*. 2012 Jun;54 Suppl 5(0 5):S385-90. doi: 10.1093/cid/cis053.
6. Centers for Disease Control and Prevention. About *Vibrio* Infection. CDC. Ažurirano 14. svibnja 2024. Pristupljeno 2. lipnja 2025. <https://www.cdc.gov/vibrio/about/index.html>
7. Armed Forces Health Surveillance Division. *Escherichia coli*, Shiga Toxin-Producing (STEC) Reference Sheet. U.S. Department of Defense; 2022. Pristupljeno 30. svibnja 2025. <https://ph.health.mil/cdt/cphe-cdt-e-coli-shiga-toxin-producing-ref.pdf>
8. Morris JG Jr, Horneman A. *Plesiomonas shigelloides* infections. *UpToDate*. Calderwood SB, Baron EL, eds. Ažurirano 13. prosinca 2023. Pristupljeno 30. svibnja 2025. <https://www.uptodate.com/contents/plesiomonas-shigelloides-infections/print>

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-34378-2501 Rev. 003
Travanj 2026.

Povijest revizija	Datum	Opis
AW-34378-2501 Rev. 001	Listopad 2025.	• Prvo izdanje.
AW-34378-2501 Rev. 002	Kolovoz 2025.	• Za Clostridium tertium u Tablici 4 uklonjena je fusnota u vezi s križnom reaktivnošću i ažurirana je testna koncentracija. • Ispravljena je koncentracija 3X LoD za bakteriju Vibrio u Tablici 5 (Rezultati koinfekcije). • Ispravljene su podatke za Tablicu 8 (Sažetak analize varijabilnosti Ct). • Ispravljena je veličina uzorka interne kontrole za Tablicu 9 (Slaganje rezultata proširenog testa za GI bakterije Panther Fusion s očekivanim rezultatima). • U Tablici 9 dodana je fusnota koja ukazuje na to da je za izradu pozitivnih panela upotrijebljen STEC 0157. • Manje izmjene teksta.

AW-34378-2501 Rev. 003	Travanj 2026.	• Ažurirana je testna koncentracija s 10^6 na 10^4 za <i>Clostridium tertium</i> u tablici 4: Mikroorganizmi testirani na križnu reaktivnost i mikrobnu interferenciju. • Ažurirana je testna koncentracija s 10^6 na 10^5 za norovirus (Noro GI) i astrovirus u tablici 4: Mikroorganizmi testirani na križnu reaktivnost i mikrobnu interferenciju. • Ažurirana je testna koncentracija u očuvanoj stolici za <i>Vibrio vulnificus</i>, izvor CCUG 38297, na 1100 u tablici 3: Sažetak uključivosti/reaktivnosti za analite proširenog testa za GI bakterije. • Uklonjena je fusnota u kojoj je navedeno da su opaženi manje od 100 % pozitivni rezultati za <i>Plesiomonas</i> (analit 1) s <i>Vibrio</i> (analit 2) pri $\geq 10^5$ CFU/mL u tablici 5: Sažetak rezultata koinfekcije. • Ažuriran je opis umjereno pozitivnog panela za <i>Yersinia</i> na 3x LoD u tablici 8: Sažetak analize varijabilnosti Ct. • Razna ažuriranja stila, zaštitnih znakova i formatiranja.
------------------------	---------------	---