

GI Expanded Bacterial Assay (Panther Fusion™ System)

Návod k použití

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*

Pouze pro export ze Spojených států

OBSAH

Obecné informace	2
Určené použití	2
Shrnutí a vysvětlení testu	2
Principy postupu	3
Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci	4
Varování a bezpečnostní opatření	4
Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi	7
Odběr a skladování vzorků	8
Přeprava klinických vzorků	9
Systém Panther Fusion	10
Reagensie a materiály dodávané pro test Panther Fusion GI	
Expanded Bacterial Assay	10
Požadované materiály dostupné samostatně	11
Postup testování v systému Panther Fusion	12
Poznámky k postupu	13
Kontrola kvality	14
Negativní a pozitivní kontroly	14
Vnitřní kontrola	14
Interpretace výsledků	15
Omezení	16
Analytická funkční způsobilost	17
Analytická citlivost	17
Inkluzivita/reaktivita – testování za mokra (wet)	17
Inkluzivita/reaktivita – analýza in silico	20
Analytická specifita: Zkřížená reaktivita a mikrobiální interference – testování za mokra (wet)	20
Souběžné infekce / kompetitivní interference	22
Interference	23
Přenos kontaminace	26
Preciznost/opakovatelnost v rámci laboratoře	26
Reprodukovatelnost	27
Klinická funkčnost	29
Literatura	32
Kontaktní údaje	33

Obecné informace

Určené použití

Test Panther Fusion™ GI Expanded Bacterial Assay je *in-vitro* diagnostický test využívající multiplexní PCR v reálném čase pro rychlou a kvalitativní detekci a diferenciaci bakterií *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. cholerae*), *Escherichia coli* O157 a *Plesiomonas shigelloides*. Nukleové kyseliny se izolují a čistí ze zachovaných vzorků stolice odebraných od osob vykazujících příznaky a symptomy gastroenteritidy.

Tento test je určen k použití jako pomůcka při diferenciální diagnostice infekcí způsobených bakteriemi *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. cholerae*), *Escherichia coli* O157 a *Plesiomonas shigelloides*. Výsledky tohoto testu by měly být použity ve spojení s klinickým obrazem, laboratorními nálezy a epidemiologickými informacemi a neměly by sloužit jako jediný základ pro diagnózu, léčbu nebo jiná rozhodnutí týkající se léčby pacienta. Pozitivní výsledky nevylučují souběžnou infekci jinými organismy, které tento test nezjistí, a nemusejí znamenat jedinou nebo definitivní příčinu onemocnění pacienta. Negativní výsledky u klinického onemocnění odpovídajícího gastroenteritidě mohou být způsobeny infekcí patogeny, které tento test nedokáže zjistit, nebo neinfekčními příčinami, jako je ulcerózní kolitida, syndrom dráždivého tračníku nebo Crohnova choroba. Tento test je určen k použití v systému Panther Fusion™.

Shrnutí a vysvětlení testu

Akutní průjem je hlavní příčinou ambulantních návštěv, hospitalizací a snížení kvality života jak v domácím prostředí, tak i u osob cestujících do zahraničí. Globální dopad onemocnění způsobených potravinami je značný, odhaduje se, že onemocní 600 milionů lidí, což má za následek 420 000 úmrtí ročně.¹ Střediska pro kontrolu a prevenci nemocí (CDC) odhadují, že v USA dochází každoročně ke 48 milionům případů onemocnění způsobených potravinami, které vedou ke 128 000 hospitalizacím a 3 000 úmrtím.² Akutní průjem je spojen s odhadovanými náklady na zdravotní péči ve výši přes 150 milionů USD.³

Infekční gastroenteritidu může způsobit řada bakteriálních, virových a parazitických organismů. Příznaky samy o sobě k určení příčiny infekce nestačí, proto jsou pro volbu léčby a péči o pacienta nezbytné rychlé a přesné diagnostické nástroje.

CDC odhaduje, že bakterie *Y. enterocolitica* každoročně způsobuje ve Spojených státech přibližně 116 716 onemocnění, 637 hospitalizací a 34 úmrtí.⁴ Děti se nakazí častěji než dospělí a infekce je častější v zimě.⁵

Vibrióza způsobuje každoročně v USA odhadem 80 000 onemocnění a 100 úmrtí. Většina infekcí se vyskytuje od května do října, kdy je vyšší teplota vody.⁶ Odhaduje se, že přibližně 52 000 těchto onemocnění je důsledkem konzumace kontaminovaných potravin.⁶ Nejčastěji hlášený druh, *V. parahaemolyticus*, způsobuje ve Spojených státech podle odhadů každoročně 45 000 onemocnění.⁵

Odhaduje se, že ve Spojených státech dochází každoročně k 265 000 infekcím shigatoxinem bakterie *Escherichia coli* (STEC), přičemž STEC O157 způsobuje přibližně 36 % těchto infekcí.⁴ Odborníci na veřejné zdraví se opírají spíše o odhady než o skutečný počet infekcí, protože ne všechny infekce STEC jsou diagnostikovány.⁷

Výskyt průjemových onemocnění byl spojován s kontaminovanou vodou a ústřicemi obsahujícími *P. shigelloides* a bylo pozorováno snížení závažnosti a trvání symptomů po vhodné antimikrobiální terapii.⁸

Principy postupu

Systém Panther Fusion plně automatizuje zpracování vzorků, včetně lýzy vzorků, zachycení nukleové kyseliny, amplifikace a detekce pro test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay. Záchyt a eluce nukleové kyseliny se provádí v jediné zkumavce v systému Panther Fusion. Eluát se převádí do reakční zkumavky systému Panther Fusion, která obsahuje testovací reagentie. S eluovanou nukleovou kyselinou v systému Panther Fusion se poté provede multiplexní PCR v reálném čase.

Zpracování vzorku: Před zpracováním a testováním v systému Panther Fusion jsou vzorky přeneseny do zkumavky Aptima™ Multitest, jež obsahuje transportní médium pro vzorek (STM), které lyzuje buňky, uvolňuje cílovou nukleovou kyselinu a chrání je před degradací během skladování.

Záchyt a eluce nukleové kyseliny: Ke každému vzorku je prostřednictvím pracovní reagentie pro záchyt cíle Panther Fusion Capture Reagent-B (wFCR-B) automaticky přidána vnitřní kontrola (IC-B) pro monitorování interference během zpracování vzorku, amplifikace a detekce způsobené selháním reagentie nebo inhibičními látkami. Vzorky se nejprve inkubují v alkalické reagentii (FER-B) k umožnění buněčné lýzy. Nukleová kyselina uvolněná během kroku lýzy hybridizuje s magnetickými částicemi v reagentii wFCR-B. Zachycovací částice se pak oddělí od zbytkové matrice vzorku v magnetickém poli řadou promývacích kroků za použití jemného detergentu. Zachycená nukleová kyselina je poté z magnetických částic eluována reagentií s nízkou iontovou silou (pufr Panther Fusion Elution Buffer).

Poznámka: Systém Panther Fusion přidává kontrolu IC-B k reagentii pro záchyt cíle Panther Fusion Capture Reagent-B (FCR-B). Po přidání kontroly IC-B k reagentii FCR-B se vzniklý roztok označuje jako wFCR-B (pracovní reagentie FCR-B).

Amplifikace s multiplexní PCR a detekce fluorescence: Hlavní reakční směs v jedné lyofilizované dávce se rekonstituuje prostřednictvím pufru Panther Fusion Reconstitution Buffer I a poté se spojí s eluovanou nukleovou kyselinou v reakční zkumavce. Aby se během reakce PCR zabránilo odpařování, přidává se olejová reagentie Panther Fusion Oil.

Primery a sondy specifické pro daný cíl poté amplifikují cíle pomocí polymerázové řetězové reakce a současně se měří fluorescence multiplexovaných cílů. Systém Panther Fusion porovnává fluorescenční signál s předem určenou mezní hodnotou za účelem získání kvalitativního výsledku stran přítomnosti nebo nepřítomnosti jednotlivých analytů.

Analyty a kanál použité pro jejich detekci v systému Panther Fusion jsou shrnuty v níže uvedené tabulce:

Analyt	Cílový gen	Kanál přístroje
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>InvA</i> (invazivní antigen A)	FAM
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>gyrB</i> (gyráza B)	HEX
<i>Vibrio vulnificus</i>	<i>gyrB</i> (gyráza B)	HEX
<i>Vibrio cholerae</i>	<i>ompW</i> (protein vnější membrány W)	HEX
<i>Escherichia coli</i> O157	<i>rfbE</i> (perosamin syntáza-O-antigen)	ROX
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>hugA</i> (gen pro využití hemoglobinu A)	RED647
Vnitřní kontrola	Nerelevantní	RED677

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci (Summary of Safety and Performance – SSP) je k dispozici v evropské databázi zdravotnických prostředků (Eudamed), kde je propojen s příslušnými identifikátory prostředku (Basic UDI-DI). Dokument SSP k testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay můžete vyhledat pomocí základního jedinečného identifikátoru prostředku (BUDI): 54200455DIAGPFGIEXBACUK.

Varování a bezpečnostní opatření

- A. Pro diagnostické použití *in vitro*.
- B. Přečtěte si pozorně celou tuto příbalovou informaci a Příručku k obsluze systému Panther™/Panther Fusion.
- C. Pro profesionální použití.
- D. Reagencie pro zlepšení Panther Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B) je žíravá a zdraví škodlivá při požití a způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.
- E. Tyto postupy mohou provádět pouze pracovníci s náležitým školením v použití tohoto testu a zacházení s potenciálně infekčními materiály. Dojde-li k rozlítí, ihned proveďte dezinfekci za použití vhodných postupů daného pracoviště.

Související s laboratoří

- F. Používejte pouze dodané nebo určené jednorázové laboratorní vybavení.
- G. Při manipulaci se vzorky a reagensy používejte jednorázové rukavice bez talku, ochranné brýle a laboratorní pláště. Po manipulaci se vzorky a reagensy si pečlivě umyjte ruce.
- H. Všechny materiály, který přišel do kontaktu se vzorky a reagensy, zlikvidujte v souladu s příslušnými národními, mezinárodními a regionálními předpisy.

Související se vzorky

- I. Vzorky mohou být infekční. Při provádění tohoto testu dodržujte univerzální preventivní bezpečnostní opatření. Správné způsoby manipulace a likvidace musí stanovit vedoucí laboratoře. Tento diagnostický postup smí provádět pouze personál adekvátně vyškolený v manipulaci s infekčními materiály.
- J. Data expirace uvedené na zkumavkách Aptima Multitest se týkají přenesení vzorku do zkumavky, a nikoli testování vzorku. Vzorky odebrané/přenesené před těmito daty expirace lze testovat za předpokladu, že byly přepravovány a skladovány v souladu s příslušnou příbalovou informací, a to i v případě, že tato data expirace již uplynula.
- K. Chcete-li zabezpečit integritu vzorku, dodržujte při přepravě vzorků řádné skladovací podmínky. Stabilita vzorků za jiných než doporučených přepravních podmínek nebyla hodnocena.
- L. Při manipulaci se vzorky zabraňte křížové kontaminaci. Vzorky mohou obsahovat extrémně vysoké koncentrace bakterií nebo jiných organismů. Zajistěte, aby se jednotlivé nádoby se vzorky vzájemně nedotýkaly, a při likvidaci použitých materiálů je nepřenášejte nad otevřenými nádobkami. Pokud se dotknete vzorku, vyměňte si rukavice.

Související s testem

- M. Nepoužívejte reagentie ani kontroly po datu expirace.
- N. Skladujte složky testu za doporučených podmínek skladování. Další informace naleznete v částech *Požadavky na skladování reagentů a zacházení s nimi* a *Postup testování v systému Panther Fusion*.
- O. Neslévejte žádné reagentie či kapaliny z testu. Reagentie ani kapaliny nedolévejte; systém Panther Fusion ověřuje hladiny reagentů.
- P. Zabraňte mikrobiální a nukleázové kontaminaci reagentů.
- Q. Požadavky na kontrolu kvality musí být plněny v souladu s lokálními, národními a/nebo federálními předpisy nebo akreditačními požadavky a se standardními postupy pro kontrolu kvality vaší laboratoře.
- R. Testovací kazetu nepoužívejte v případě, že je skladovací sáček poškozený, ani v případě, že je fólie testovací kazety porušená. Pokud k tomu dojde, kontaktujte technickou podporu společnosti Hologic.
- S. Nepoužívejte balení tekutin, pokud fólie netěsní. Pokud k tomu dojde, kontaktujte technickou podporu společnosti Hologic.
- T. S testovacími kazetami zacházejte opatrně. Testovací kazety neupustěte ani nepřevracejte. Vyhněte se jejich dlouhodobé expozici okolnímu světlu.
- U. Některé reagentie v této sadě jsou označeny symboly s informacemi o nebezpečí.

Poznámka: Informace o nebezpečí jsou v souladu s klasifikacemi bezpečnostních listů (BL) EU. Informace o nebezpečích specifické pro váš region najdete v bezpečnostním listu specifickém pro daný region v knihovně bezpečnostních listů (Safety Data Sheet Library) na adrese www.hologicsds.com. Další informace o symbolech naleznete v legendě symbolů na internetové adrese <http://www.hologic.com/package-inserts>.

Informace o nebezpečí pro EU	
 	Panther Fusion Enhancer Reagent B (FER-B) Lithium Hydroxide, Monohydrate 5 – 10 % NEBEZPEČÍ H302 – Zdraví škodlivý při požití. H314 – Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. P264 – Po manipulaci důkladně omyjte tvář, ruce a exponované části kůže. P270 – Při používání tohoto výrobku nejezte, nepijte ani nekuřte. P330 – Vypláchněte ústa. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu. P260 – Nevdechujte prach/dým/plyn/mlhu/páry/aerosoly. P280 – Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. P301 + P330 + P331 – PŘI POŽITÍ: Vypláchněte ústa. NEVYVOLÁVEJTE zvracení. P303 + P361 + P353 – PŘI STYKU S KÚŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou [nebo osprchujte]. P304 + P340 – PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v poloze usnadňující dýchání. P305 + P351 + P338 – PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. P310 – Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře. P321 – Odborné ošetření (viz dodatečné pokyny týkající se první pomoci uvedené na tomto štítku). P363 – Kontaminovaný oděv před opětovným použitím vyperte. P405 – Skladujte uzamčené.
	Panther Fusion Capture Reagent B (FCR-B) HEPES 15 – 20 % Lauryl Sulfate Lithium Salt 10 – 15 % Succinic Acid 1 – 5 % Lithium Hydroxide, Monohydrate 1 – 5 % — — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.

Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi

A. V následující tabulce jsou uvedeny požadavky na skladování a manipulaci s tímto testem.

Reagencie	Skladování v neotevřeném stavu	Stabilita v systému / stabilita v otevřeném stavu ^a	Skladování v otevřeném stavu
Kazeta testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay Cartridge	2 °C až 8 °C	60 dní	2 °C až 8 °C ^b
Reagencie pro zachyt cíle Panther Fusion Capture Reagent-B (FCR-B)	15 °C až 30 °C	30 dní	15 °C až 30 °C
Reagencie pro zlepšení Panther Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B)	15 °C až 30 °C	30 dní	15 °C až 30 °C
Vnitřní kontrola Panther Fusion Internal Control-B (IC-B)	2 °C až 8 °C	(Ve wFCR-B)	Nerelevantní
Eluční pufr Panther Fusion Elution Buffer	15 °C až 30 °C	60 dní	15 °C až 30 °C
Olej Panther Fusion Oil	15 °C až 30 °C	60 dní	15 °C až 30 °C
Rekonstituční pufr Panther Fusion Reconstitution Buffer I	15 °C až 30 °C	60 dní	15 °C až 30 °C
Pozitivní kontrola Panther Fusion GI Expanded Bacterial Positive Control	2 °C až 8 °C	Jednorázová lahvička	Nerelevantní – na jedno použití
Negativní kontrola Panther Fusion	2 °C až 8 °C	Jednorázová lahvička	Nerelevantní – na jedno použití

Po vyjmutí reagensů ze systému Panther Fusion je nutné je ihned vrátit zpět do prostředí s vhodnou skladovací teplotou.

^a Stabilita v systému začíná v době, kdy je reagencie pro testovací kazetu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay Cartridge, FCR-B, FER-B a IC-B umístěna do systému Panther Fusion. Stabilita v systému pro rekonstituční pufr Panther Fusion Reconstitution Buffer I, eluční pufr Panther Fusion Elution Buffer a olejovou reagensii Panther Fusion Oil Reagent začíná, když je balení reagensie použito poprvé.

^b Je-li testovací kazeta odstraněna ze systému Panther Fusion, uložte ji do vzduchotěsné nádoby s vysoušedlem při doporučené teplotě skladování.

- B. Pracovní reagencie pro zachyt cíle Panther Fusion Capture Reagent-B (wFCR-B) a reagencie pro zlepšení Panther Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B) jsou stabilní po dobu 60 dní, jsou-li skladovány uzavřené a při teplotě 15 °C až 30 °C. Neukládejte do chladničky.
- C. Kontroly jsou stabilní do data vyznačeného na lahvičkách.
- D. Zlikvidujte všechny nepoužité reagencie s prošlou stabilitou v systému.
- E. Při manipulaci s reagensiemi a jejich skladování zabraňte křížové kontaminaci.
- F. **Reagencie nezmrazujte.**

Odběr a skladování vzorků

Klinické vzorky – klinický materiál odebraný pacientovi a umístěný ve vhodném transportním systému (dále také jen vzorky). V případě testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay se jedná o nezpracovanou stolici konzervovanou v Caryové-Blairově transportním médiu.

Vzorky – představují obecnější termín, který popisuje jakýkoli materiál pro testování v systému Panther Fusion, včetně klinických vzorků, klinických vzorků přenesených do zkumavek Aptima Multitest a kontrol.

Poznámka: Se všemi vzorky je nutné zacházet jako s potenciálně infekčními. Přijměte univerzální bezpečnostní opatření.

Poznámka: Během manipulace s klinickými vzorky dbejte na to, aby se zabránilo křížové kontaminaci. Při likvidaci například nepřenášejte použitý materiál nad otevřenými zkumavkami.

- A. Mezi typy klinických vzorků patří vzorky stolice konzervované v Caryové-Blairově transportním médiu.

Odběr nezpracované stolice provádějte podle příslušných standardních postupů pro odběr stolice a manipulaci s ní. Vzorky nezpracované stolice přeneste do Caryové-Blairova transportního média podle pokynů výrobce.

- B. Zpracování klinických vzorků

1. Vzorek konzervovaný v Caryové-Blairově médiu bezprostředně před přenosem do zkumavky Aptima Multitest důkladně promíchejte, aby byla zajištěna jeho homogenita.
2. Před testováním v systému Panther Fusion přeneste klinický vzorek do zkumavky Aptima Multitest.
 - a. Částečně otevřete balíček s tamponem. Vyjměte tampon. Nedotýkejte se měkké špičky tamponu ani tampon nepokládejte. Pokud se dotknete měkkého hrotu tamponu, tampon položte nebo upustíte na zem, použijte novou soupravu Aptima™ Multitest Swab Specimen Collection Kit. Měkký hrot tamponu zcela ponořte do vzorku stolice konzervovaného v Caryové-Blairově médiu.

Poznámka: Do tekuté části ponořte pouze měkký hrot tamponu 1 a ujistěte se, že růžová tyčinka ponořená není.

- b. Sejměte uzávěr zkumavky Aptima Multitest obsahující transportní médium. Pokud dojde k rozliti obsahu zkumavky, použijte novou soupravu pro odběr vzorků Aptima Multitest. Vložte tampon do zkumavky a jemným vířením tamponu ve zkumavce po dobu 5 sekund uvolněte materiál. Nechte tampon ve zkumavce.
 - c. Opatrně odlomte tyčinku tamponu v místě označení proti stěně zkumavky a horní část tyčinky zlikvidujte.
 - d. Na zkumavku nasadíte dodaný nebo nový propichovací uzávěr.
 3. Skladování vzorků před testováním
 - a. Po odběru mohou být klinické vzorky konzervované v Caryové-Blairově médiu před přenesením do zkumavek Aptima Multitest uloženy při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 72 hodin.

Poznámka: Bakterii *Yersinia* ovlivňuje teplota i doba skladování. Pokud vzorky nejsou skladovány správným způsobem, může dojít ke snížení jejich výťažnosti a ztrátě pozitivních výsledků.

- b. Vzorek ve zkumavce Aptima Multitest může být skladován za 1 z následujících podmínek:

- 15 °C až 30 °C po dobu až 6 dnů nebo
- 2 °C až 8 °C po dobu až 30 dnů nebo
- ≤ −20 °C po dobu až 3 měsíců

Poznámka: Cykly zmrazování a rozmrazování minimalizujte, abyste zabránili možné degradaci vzorku.

Poznámka: Vzorky přenesené do zkumavky Aptima Multitest doporučujeme uložit ve stojánku uzavřené a ve vertikální poloze.

C. Uchovávání vzorků po testování

1. Vzorky, které již byly testovány, by měly být uloženy ve vertikální poloze ve stojánku za 1 z následujících podmínek:

- 15 °C až 30 °C po dobu až 6 dnů nebo
- 2 °C až 8 °C po dobu až 30 dnů nebo
- ≤ −20 °C po dobu až 3 měsíců

Poznámka: Cykly zmrazování a rozmrazování minimalizujte, abyste zabránili možné degradaci vzorku.

2. Vzorky by měly být překryty novým a čistým plastovým filmem nebo fólií.
3. Pokud je třeba testované vzorky zmrazit nebo odeslat, odstraňte ze zkumavek propichovací uzávěr a nahraďte ho novým nepropichovacím uzávěrem. Je-li nutné odeslat vzorky k testování na jiné pracoviště, musí se dodržet doporučené teploty. Před otevřením vzorků musejí být transportní zkumavky ponechány ve vertikální poloze po dobu 5 minut, aby se veškerá tekutina dostala na dno zkumavky. Zabraňte rozstříkávání a křížové kontaminaci. Necentrifugujte.

Přeprava klinických vzorků

Dodržujte podmínky skladování vzorků během přepravy, jak je popsáno v části *Odběr a skladování vzorků*.

Poznámka: Vzorky musejí být přepravovány v souladu s platnými národními, mezinárodními a regionálními předpisy pro přepravu.

Systém Panther Fusion

Systém Panther Fusion je integrovaný systém pro testování nukleových kyselin, který plně automatizuje všechny kroky nezbytné k provedení různých testů Panther Fusion, od zpracování vzorku přes amplifikaci, detekci a redukci dat.

Reagencie a materiály dodávané pro test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay

Balení testu

Složky	Č. položky	Skladování
Kazeta testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay Cartridge, 96 testů Testovací kazeta Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay Cartridge, 12 testů, 8 ks v jedné krabici	PRD-07121	2 °C až 8 °C
Vnitřní kontrola Panther Fusion Internal Control-B, 960 testů Zkumavka s vnitřní kontrolou Panther Fusion Internal Control-B, 4 ks v krabici	PRD-06234	2 °C až 8 °C
Kontroly pro test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay Controls Zkumavka s pozitivní kontrolou Panther Fusion GI Expanded Bacterial Positive Control, 5 ks v krabici Zkumavka s negativní kontrolou Panther Fusion Negative Control, 5 ks v krabici	PRD-07122	2 °C až 8 °C
Extrakční reagencie Panther Fusion Extraction Reagent-B, 960 testů Láhev s reagentií pro záchyt cíle Panther Fusion Capture Reagent-B, 240 testů, 4 ks v krabici Láhev s reagentií pro zlepšení Panther Fusion Enhancer Reagent-B, 240 testů, 4 ks v krabici	PRD-06232	15 °C až 30 °C
Eluční pufr Panther Fusion Elution Buffer, 2 400 testů Balení elučního pufru Panther Fusion Elution Buffer, 1 200 testů, 2 ks v krabici	PRD-04334	15 °C až 30 °C
Rekonstituční pufr Panther Fusion Reconstitution Buffer I, 1 920 testů Rekonstituční pufr Panther Fusion Reconstitution Buffer I, 960 testů, 2 ks v krabici	PRD-04333	15 °C až 30 °C
Olejová reagencie Panther Fusion Oil Reagent, 1 920 testů Olejová reagencie Panther Fusion Oil Reagent, 960 testů, 2 ks v krabici	PRD-04335	15 °C až 30 °C

Samostatně balené položky

Položky	Č. položky
Stojany na zkumavky pro lýzu vzorků Panther Fusion, 1 008 testů, 18 stojanů v balení	PRD-04000
Odběrová souprava Aptima Multitest Specimen Collection Kit, balení po 50 ks	PRD-03546

Požadované materiály dostupné samostatně

Poznámka: Materiály dostupné od společnosti Hologic mají uvedena katalogová čísla dle seznamu, pokud není uvedeno jinak.

Materiál	Kat. č.
Systém Panther	303095
Systém Panther Fusion	PRD-04172
Panther System Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Souprava kapalin pro test Aptima™ Assay Fluids Kit (promývací roztok Aptima, pufr Aptima pro deaktivaci kapaliny a olejová reagentie Aptima)	303014 (1 000 testů)
Jednotky s více zkumavkami (MTU)	104772-02
Sada pytlů na odpad Panther	902731
Kryt odpadního koše Panther	504405
Nebo testovací souprava Panther System Run Kit obsahuje MTU, odpadní vaky, kryty odpadních nádob, kapaliny pro test a autodetekční reagentie ^a	303096 (5 000 testů)
Špičky, 1 000 µl, filtrované, s detekcí tekutin, vodivé a jednorázové: Ne všechny produkty jsou dostupné ve všech regionech. Informace o konkrétním regionu získáte u místního zástupce.	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128 MME-04110
Propichovací uzávěry Aptima (volitelné)	105668
Náhradní nepropichovací uzávěry (volitelné)	103036A
Náhradní uzávěry láhve s extrakční reagentií	CL0040
Bělidlo, 5 % až 8,25 % (0,7mol až 1,16mol) roztok chlornanu sodného Poznámka: Další informace o přípravě ředěného roztoku chlornanu sodného naleznete v příručce k obsluze systému Panther / Panther Fusion.	—
Jednorázové rukavice bez talku	—

^a Nutné pouze pro testy Aptima, které používají technologii TMA.

Volitelné materiály

Materiál	Kat. č.
Stolní třepačka (VWR Analog Vortex Mixer 120V, kat. č. 10153-838) nebo ekvivalent	—

Postup testování v systému Panther Fusion

Poznámka: Další procedurální informace naleznete v dokumentu *Příručka k obsluze systému Panther/Panther Fusion*.

A. Příprava pracovní oblasti

1. Otřete pracovní povrchy 2,5 % až 3,5 % (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného. Roztok chlornanu sodného nechte působit na kontaktní povrchy alespoň 1 minutu a poté je opláchněte deionizovanou vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pokryjte pracovní desku laboratorního stolu čistým absorpčním ubrusem s plastovou vrstvou.

B. Příprava reagensí

1. Vyjměte lahvičky IC-B, FCR-B a FER-B z místa jejich uložení.
2. Reagencii FCR-B jemně promíchejte krouživými pohyby, dokud se kuličky zcela nerozpustí. Při tomto kroku zabraňte tvorbě pěny.
3. Otevřete lahvičky IC-B, FCR-B a FER-B a uzávěry zlikvidujte. Otevřete dvířka TCR v horním oddílu systému Panther Fusion.
4. Umístěte lahvičky s IC-B, FCR-B a FER-B do příslušných poloh v karuselu TCR.
5. Zavřete dvířka TCR.

Poznámka: Systém Panther Fusion přidává kontrolu IC-B do reagentie FCR-B. Po přidání kontroly IC-B do reagentie FCR-B je vzniklý roztok označován jako wFCR-B (pracovní reagentie FCR-B). V případě, že jsou reagentie wFCR-B a FER-B vyjmuty ze systému, použijte nové uzávěry a ihned je uložte v souladu s příslušnými skladovacími podmínkami.

C. Manipulace se vzorkem

1. Pohledem ověřte, že každá zkumavka se vzorkem obsahuje jeden růžový odběrový tampon Aptima ve zkumavce Aptima Multitest. Pokud zkumavka Aptima Multitest neobsahuje žádný tampon, obsahuje více tamponů nebo tampon, který nebyl dodán společností Hologic, je třeba přenos stolice v Caryové-Blairově médiu zopakovat pomocí nové odběrové soupravy Aptima Multitest Swab Specimen Collection Kit.
2. Ověřte vzhled vzorku ve zkumavce Aptima Multitest.
 - a. Pokud je vzorek homogenní, pokračujte v testování.
 - b. Pokud se objeví pevné látky nebo mukoidní materiály, je třeba mít na paměti, že mohou interferovat s testem.

Poznámka: Pokud jsou při zpracování klinických vzorků pozorovány jakékoli neplatné příznaky (např. CLT, icrfu, ebh nebo ebl), mohou být vzorky ve zkumavce Aptima Multitest před opakovaným testováním protřepány po dobu 30 až 60 sekund při maximální rychlosti na standardní stolní třepačce. Předtím je potřeba je uzavřít novým propichovacím uzávěrem.

Poznámka: Než vzorky vložíte do systému Panther Fusion, připravte je podle pokynů ke zpracování vzorku uvedených v části Odběr a skladování vzorků.

D. Příprava systému

Pokyny k nastavení systému Panther Fusion, včetně vložení vzorků, reagensí, testovacích kazet a univerzálních kapalin, jsou uvedeny v dokumentu *Příručka k obsluze systému Panther/Panther Fusion*.

Poznámky k postupu

A. Kontroly

1. Zkumavky s pozitivní kontrolou testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Positive Control a s negativní kontrolou Panther Fusion Negative Control můžete vložit do libovolné pozice stojanu nebo libovolné řady nosiče vzorků v systému Panther Fusion.
2. Jakmile jsou zkumavky s kontrolami napipetovány a jsou zpracovány pro test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay, jsou platné po dobu až 30 dní (frekvence kontrol je konfigurována správcem systému), pokud nejsou výsledky kontroly neplatné nebo pokud není vložena nová testovací kazeta.
3. Každá zkumavka s kontrolou může být testována pouze jednou.
4. Pipetování klinického vzorku od pacienta začne, jakmile bude splněna 1 z následujících 2 podmínek:
 - a. V systému jsou registrovány platné výsledky těchto kontrol.
 - b. Dvojice kontrol se aktuálně zpracovává v systému.

Kontrola kvality

Běh testu nebo výsledek vzorku mohou být zneplatněny systémem Panther Fusion, pokud se objeví problémy při provádění testu. Vzorky s neplatnými výsledky je nutné testovat znovu.

Negativní a pozitivní kontroly

Aby byly generovány platné výsledky, musí být testována sada kontrol testu. Jedno (1) opakování negativní a pozitivní kontroly testu musí být testováno pokaždé, když je do systému Panther Fusion vložena nová šarže testovacích kazet nebo pokud uplynula doba expirace aktuální sady platných kontrol pro šarži aktivní kazety.

Systém Panther Fusion je konfigurován tak, aby vyžadoval kontroly testu v intervalu specifikovaném správcem systému až do 30 dní. Software v systému Panther Fusion upozorní obsluhu, když jsou potřebné kontroly testu, a nespustí nové testy, dokud nejsou do systému vloženy kontroly a nezačne jejich zpracování.

Během zpracování systém Panther Fusion automaticky ověří kritéria pro akceptování kontrol testu. Aby byly generovány platné výsledky, kontroly testu musejí projít řadou kontrol platnosti, které provádí systém Panther Fusion.

Pokud kontroly testu projdou všemi kontrolami platnosti, jsou považovány za platné pro časový interval specifikovaný správcem systému. Když tento časový interval uplyne, platnost kontrol testu v systému Panther Fusion vyprší a před spuštěním jakýchkoli nových vzorků je vyžadována nová sada kontrol testu.

Pokud kterákoli z kontrol testu neprojde kontrolami platnosti, systém Panther Fusion automaticky zneplatní dotčené vzorky a před testováním jakýchkoli nových vzorků bude vyžadována nová sada kontrol testu.

Vnitřní kontrola

Vnitřní kontrola se ke každému vzorku přidá v průběhu procesu extrakce. Během zpracování jsou kritéria přijatelnosti vnitřní kontroly automaticky ověřována softwarem systému Panther Fusion. Detekce vnitřní kontroly není vyžadována pro vzorky, které jsou pozitivní na *Yersinia enterocolitica*, druhy *Vibrio*, *Escherichia coli* O157 a/nebo *Plesiomonas shigelloides*. Vnitřní kontrola musí být detekována ve všech vzorcích, které jsou negativní na všechny zamýšlené analyty; vzorky, které nesplňují tato kritéria, budou označeny jako neplatné. Každý vzorek s neplatným výsledkem musí být testován znovu.

Systém Panther Fusion je navržen tak, aby přesně ověřoval procesy při provádění postupů podle pokynů uvedených v této příbalové informaci a v *příručce k obsluze systému Panther / Panther Fusion System*.

Interpretace výsledků

Systém Panther Fusion automaticky stanoví výsledky testu vzorků a kontrol. Výsledky detekce bakterií *Yersinia enterocolitica*, druhu *Vibrio*, *Escherichia coli* O157 a *Plesiomonas shigelloides* jsou hlášeny samostatně. Výsledek testu může být negativní, pozitivní nebo neplatný.

První platný výsledek je výsledek, který by měl být zaznamenán. Vzorky s neplatnými výsledky je nutné testovat znovu. Pokud je výsledek po opakovaném testu neplatný, měl by být odebrán nový vzorek.

Tabulka 1 uvádí možné hlášené výsledky pro platný test s odpovídající interpretací výsledků.

Tabulka 1: Interpretace výsledků

Yersinia Výsledek pro	Vibrio Výsledek pro	O157 Výsledek ^a	Plesio Výsledek pro	IC Výsledek	Interpretace
Neg	Neg	Neg	Neg	Platný	<i>Yersinia enterocolitica</i> , druhu <i>Vibrio</i> , <i>E. coli</i> O157 a <i>Plesiomonas shigelloides</i> – nedetekováno.
POZ	Neg	Neg	Neg	Platný	<i>Yersinia enterocolitica</i> – detekováno.
Neg	POZ	Neg	Neg	Platný	Druhy <i>Vibrio</i> – detekováno.
Neg	Neg	POZ	Neg	Platný	<i>E. coli</i> O157 – detekováno.
Neg	Neg	Neg	POZ	Platný	<i>Plesiomonas shigelloides</i> – detekováno.
POZ	POZ	Neg	Neg	Platný	<i>Yersinia enterocolitica</i> a druhu <i>Vibrio</i> – detekováno.
POZ	Neg	POZ	Neg	Platný	<i>Yersinia enterocolitica</i> a <i>E. coli</i> O157 – detekováno.
POZ	Neg	Neg	POZ	Platný	<i>Yersinia enterocolitica</i> a <i>Plesiomonas shigelloides</i> – detekováno.
Neg	POZ	POZ	Neg	Platný	Druhy <i>Vibrio</i> a <i>E. coli</i> O157 – detekováno.
Neg	POZ	Neg	POZ	Platný	Druhy <i>Vibrio</i> a <i>Plesiomonas shigelloides</i> – detekováno.
Neg	Neg	POZ	POZ	Platný	<i>E. coli</i> O157 a <i>Plesiomonas shigelloides</i> – detekováno.
POZ	POZ	POZ	Neg	Platný	<i>Yersinia enterocolitica</i> , druhu <i>Vibrio</i> a <i>E. coli</i> O157 – detekováno. Infekce způsobené 3 bakteriemi jsou vzácné. Pro potvrzení výsledku test opakujte.
POZ	POZ	Neg	POZ	Platný	<i>Yersinia enterocolitica</i> , druhu <i>Vibrio</i> a <i>Plesiomonas shigelloides</i> – detekováno. Infekce způsobené 3 bakteriemi jsou vzácné. Pro potvrzení výsledku test opakujte.
POZ	Neg	POZ	POZ	Platný	<i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>E. coli</i> O157 a <i>Plesiomonas shigelloides</i> – detekováno. Infekce způsobené 3 bakteriemi jsou vzácné. Pro potvrzení výsledku test opakujte.
Neg	POZ	POZ	POZ	Platný	Druhy <i>Vibrio</i> , <i>E. coli</i> O157 a <i>Plesiomonas shigelloides</i> – detekováno. Infekce způsobené 3 bakteriemi jsou vzácné. Pro potvrzení výsledku test opakujte.
POZ	POZ	POZ	POZ	Platný	<i>Yersinia enterocolitica</i> , druhu <i>Vibrio</i> , <i>E. coli</i> O157 a <i>Plesiomonas shigelloides</i> – detekováno. Infekce způsobené 4 bakteriemi jsou vzácné. Pro potvrzení výsledku test opakujte.
Neplatné	Neplatný	Neplatný	Neplatný	Neplatný	Neplatný. Při generování výsledku došlo k chybě, opakujte testování klinického vzorku.

Neg = negativní, POZ = pozitivní.

Poznámka: Výsledek POZ bude doprovázen prahovými hodnotami cyklu (Ct). POZ/HT představuje výsledek s vysokým titrem a nebude u něj hlášena hodnota Ct.

^a Bakteriální test Panther Fusion GI Bacterial Assay poskytuje výsledky pro geny shigatoxinu *stx1/stx2*. Všimněte si, že byly identifikovány kmeny *E. coli* O157, které nenesou geny toxinů podobných shigatoxinu. Klinický význam těchto kmenů jiných než STEC O157 však nebyl stanoven.

Omezení

- A. Tento test smí používat pouze osoby vyškolené v tomto postupu. Nedodržení těchto pokynů může vést k chybným výsledkům.
- B. Spolehlivost výsledků závisí na adekvátním odběru, transportu, skladování a zpracování vzorků.
- C. Zabraňte kontaminaci dodržováním správné laboratorní praxe a postupů uvedených v této příbalové informaci.
- D. Dehydratované Caryové-Blairovo médium v práškové formě a Caryové-Blairovo médium v pevné formě s vysokým obsahem agarózy nebyly hodnoceny a nemusejí být kompatibilní s kroky zpracování vzorků pro testování.
- E. Výkonnost tohoto testu byla validována pouze s lidskou stolicí odebranou v tekutém Cayrové-Blairově transportním médiu dle pokynů výrobce média.
- F. Tento produkt by se neměl používat k testování vzorků stolice ve fixativu.

Analytická funkční způsobilost

Analytická citlivost

Analytická citlivost (mez detekce neboli LoD) bakteriálního testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay byla stanovena testováním ředění zpracované negativní matrice Caryové-Blairovy stolice (CBS) s přidavkem bakteriálních kultur *Yersinia* (2 kmeny), *Vibrio* (3 kmeny), *Plesiomonas* (2 kmeny) a STEC O157 (2 kmeny). S každou ze 3 šarží reagensů bylo testováno nejméně 24 replikátů. Pomocí probitové analýzy byla pro každou šarží reagensů stanovena hodnota LoD jednotlivých analytů, která byla potvrzena dalšími 24 replikáty s použitím jedné šarže reagensie v konfiguraci s jedním analytem a více analyty. Analytická citlivost je definována jako nejnižší koncentrace, při níž je ≥ 95 % všech replikátů testováno s pozitivním výsledkem, jak shrnuje Tabulka 2.

Tabulka 2: Analytická citlivost

Kmen	Koncentrace LoD (KTJ/ml) ^a	
	Zkumavka Aptima Multitest	Konzervovaná stolice
<i>Yersinia enterocolitica</i> , 33114	91	1 820
<i>Yersinia enterocolitica</i> , 1375, O:8	94	1 880
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> , EB101	90	1 800
<i>Vibrio vulnificus</i> , B9629	10	200
<i>Vibrio cholerae</i> , 8021	33	660
STEC O157:H7, EDL 931	53	1 060
O157:NM, CDC 92-3073	357	7 140
<i>Plesiomonas shigelloides</i> , CDC 3085-55	65	1 300
<i>Plesiomonas shigelloides</i> , GNI 14	34	680

KTJ = kolonie tvořící jednotky.

^a Koncentrace analytu ve zkumavce Aptima Multitest jsou cca 20× zředěné ve srovnání s konzervovanou stolicí (cca 150 µl konzervované stolice v cca 3 ml STM).

Inkluzivita/reaktivita – testování za mokra (wet)

Inkluzivita/reaktivita bakteriálního testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay byla stanovena testováním bakteriálních kmenů ve zpracované negativní matrici CBS. Každý kmen byl testován v triplicátech při 3násobné koncentraci LoD s 1 šarží reagensie v konfiguracích s jedním nebo více analyty. U kmenů, které nebyly detekovány při 3× LoD, byly provedeny další testy při vyšších koncentracích, dokud nebyla pozorována 100 % pozitivita. Tabulka 3 ukazuje nejnižší koncentraci každého kmene, u kterého byla pozorována 100% pozitivita.

Tabulka 3: Souhrn inkluзивity/reaktivity analytů pro test GI Expanded Bacterial Assay

Organismus	Č. ATCC nebo zdroj	Kmen/sérovar/sérotyp / antigenní vlastnosti	Testovaná koncentrace (3× LoD) (KTJ/ml)	
			Zkumavka Aptima Multitest	Konzervovaná stolice
<i>Yersinia enterocolitica</i>	BEI NR-207	CDC 497-70, O:8	282	5 640
	BEI NR-212	NCTC 11175, O:3	282	5 640
	23715	Billups-1803-68, O:8	282	5 640
	49397 ^c	1375, O:8	282	5 640
	NCTC 10463	P 77, O:5, 27	282	5 640
	CCUG 4588	Typ 2, O:9	282	5 640
	CCUG 8050	Není k dispozici	282	5 640
	CCUG 8232	Typ 5, O:1, 2, 3 O:2, 3 O:3/XI	282	5 640
	CCUG 8234	Typ 4	282	5 640
	55075	O:9	282	5 640
	27729	WA, typ 1, O:8	282	5 640
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	BEI NR-21990	48057, O4: K12	270	5 400
	BEI NR-21992	KXV 755, O4: K41	270	5 400
	BAA-242	VP250, O1:KUT	270	5 400
	27969	FC 1011	270	5 400
	BAA-241	VP232, O4:K68	270	5 400
	33845	117 [CDC KC830]	270	5 400
	43996	NCTC 10884 [70/116655]	270	5 400
	33846	205 [9302]	270	5 400
	49529	MDL 3875-7-83, O4:K12	270	5 400
	CCUG 34902	Není k dispozici	270	5 400
	CCUG 67711	Není k dispozici	270	5 400
	33847	279 [11590]	270	5 400
<i>Vibrio vulnificus</i>	33817	329 [CDC B3547], biotyp 2	33	660
	BAA-86	CDC 9505-95	33	660
	CCUG 38297	Není k dispozici	33	660
	CCUG 47321	Není k dispozici	33	660
	29306	CDC A1402 [P. Baumann 328]	33	660
	43382	VVL1	33	660
	29307	CDC A8694	33	660
	CCUG 38297 ^b	Není k dispozici	55	1 100

Tabulka 3: Souhrn inkluzivity/reaktivity analytů pro test GI Expanded Bacterial Assay (pokračování)

Organismus	Č. ATCC nebo zdroj	Kmen/sérovar/sérotyp / antigenní vlastnosti	Testovaná koncentrace (3× LoD) (KTJ/ml)	
			Zkumavka Aptima Multitest	Konzervovaná stolice
<i>Vibrio cholerae</i>	BEI NR-147	N16961, O:1	99	1 980
	BEI NR-148	CVD 101, O:1	99	1 980
	BEI NR-149	Nanking 32/123, O:2	99	1 980
	BEI NR-152	Nanking 32/124 (NCTC 8042), O:7	99	1 980
	14033	NCTC 8457 [R. Hugh 1092], O1, Inaba	99	1 980
	9459	AMC 20-A-10 [R. Hugh 583], Inaba	99	1 980
	CCUG 2573	NAG/NCV	99	1 980
	CCUG 2569	NAG/NCV	99	1 980
	CCUG 4070	Non O-1	99	1 980
	CCUG 21589	18	99	1 980
	CCUG 56875	Není k dispozici	99	1 980
	CCUG 53725	O1/O139	99	1 980
	CCUG14542	Není k dispozici	99	1 980
	9458	AMC 20-A-41 [R. Hugh 582], Ogawa	99	1 980
	25870	569B	99	1 980
STEC O157: H7	43890	CDC C984 [CDC 3526-87], H7	159	3 180
	43895	CDC EDL 933, H7	159	3 180
	43894	CDC EDL 932, H7	159	3 180
	700927	EDL 933, H7:K-	159	3 180
STEC O157: NM	700375	CDC 94-G7771, NM	1,197	23 940
	700377	CDC 92-3099, NM	1,197	23 940
	700378	CDC 92-3073, NM	1,197	23 940
	AR Bank # 427 ^a	Není k dispozici	1,197	23 940
	AR Bank # 428 ^a	Není k dispozici	1,197	23 940
	AR Bank # 429 ^a	Není k dispozici	1,197	23 940
	AR Bank # 430 ^a	Není k dispozici	1,197	23 940
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	14030	CDC 16408 [Ferguson a Henderson C27, RH 864], O:17	195	3 900
	51903 ^c	GNI 14	195	3 900
	51572	CIP 69.35 [2886]	195	3 900
	CCUG 7041A	O17: H2	195	3 900
	CCUG 9221	O17	195	3 900
	CCUG 14309	O17: H2	195	3 900
	CCUG 14597	Není k dispozici	195	3 900

KTJ = kolonie tvořící jednotky.

^a Tyto kmeny byly hodnoceny s použitím vyšší meze detekce (LoD) ze 2 sérotypů, což je sérotyp NM.^b U tohoto kmene byla pozorována 100% pozitivita při cca 5násobné LoD. Analýza *in silico* prokázala 100% homologii s amplifikovanou oblastí.^c Kmeny použité ke stanovení meze detekce (LoD).

Inkluzivita/reaktivita – analýza *in silico*

Inkluzivita bakteriálního testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay byla hodnocena pomocí analýzy inkluzivity *in silico* pro každý analyt. Analýza *in silico* byla provedena s použitím sekvencí analytů dostupných v databázi NCBI a v databázi sekvenování metodou „whole-genome shotgun“. Pro každý analyt byly odpovídající oligonukleotidové sekvence (primery a sondy) vyhodnoceny oproti databázovým sekvencím. Jakékoli sekvence s nedostatečnou délkou (nepokrývající celou oblast amplikonu) byly z analýzy vyloučeny.

Na základě analýzy *in silico* všech sekvencí dostupných v databázích k 26. březnu 2024 se předpokládá, že bakteriální test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay detekuje 99,9 % z 1 054 *Yersinia Enterocolitica*, 99,5 % z 1 337 *Vibrio parahaemolyticus*, 99,1 % z 1 180 *Vibrio vulnificus*, 98,0 % z 1 189 *Vibrio cholerae*, 100 % z 2 004 STEC O157, a 91,5 % z 47 *Plesiomonas shigelloides* vyhodnocených sekvencí.

Analytická specifita: Zkřížená reaktivita a mikrobiální interference – testování za mokra (wet)

Analytická specifita (zkřížená reaktivita) a mikrobiální interference pro test Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay byly hodnoceny v přítomnosti necílových mikroorganismů, které jsou buď fylogeneticky příbuzné analyzovaným látkám, nebo se potenciálně vyskytují v klinických vzorcích. Panely sestávající ze 109 bakterií, virů, parazitů a kvasinek, které uvádí Tabulka 4, byly testovány ve zpracované negativní matrici CBS v nepřítomnosti a v přítomnosti analytů testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay při 3násobné koncentraci LoD. Pokud není uvedeno jinak, bakterie, kvasinky a paraziti byly hodnoceny při koncentraci 10^6 KTJ/ml nebo 10^6 kopií rRNA/ml nebo 10^6 buněk/ml; viry byly hodnoceny při koncentraci 10^5 TCID₅₀/ml. Pokud byla při počátečním testování pozorována zkřížená reaktivita nebo interference, byl organismus testován při nižších koncentracích, dokud nebyl pozorován očekávaný výsledek. U žádného z organismů testovaných v testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay při uvedených koncentracích nebyla pozorována žádná zkřížená reaktivita ani mikrobiální interference.

Tabulka 4: Mikroorganismy testované na zkříženou reaktivitu a mikrobiální interferenci

Mikroorganismus	Testovaná koncentrace	Mikroorganismus	Testovaná koncentrace
<i>Arcobacter cryaerophilus</i>	10^6 KTJ/ml	<i>Enterococcus faecalis</i>	10^6 KTJ/ml
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	10^6 KTJ/ml	<i>Enterobacter aerogenes</i>	10^6 KTJ/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i>	10^6 KTJ/ml	<i>Enterobacter cloacae</i>	10^6 KTJ/ml
<i>Trabulsiella guamensis</i>	10^6 KTJ/ml	<i>Escherichia fergusonii</i>	10^6 KTJ/ml
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	10^6 kopií rRNA/ml	<i>Escherichia hermannii</i>	10^6 KTJ/ml
<i>Escherichia coli</i> (neshigatogenní)	10^6 KTJ/ml	<i>Escherichia vulneris</i>	10^6 KTJ/ml
<i>Giardia lamblia</i> BG-A ^a	10^6 kopií/ml	<i>Gardnerella vaginalis</i>	10^6 KTJ/ml
<i>Cyclospora</i> ^a	10^6 kopií/ml	<i>Helicobacter pylori</i>	10^6 KTJ/ml
<i>Cryptosporidium</i> ^a	10^6 kopií/ml	<i>Klebsiella oxytoca</i>	10^6 KTJ/ml
Norovirus (Noro GII) ^a	10^5 kopií/ml	<i>Klebsiella ozaenae</i>	10^6 KTJ/ml
Astrovirus ^a	10^5 kopií/ml	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10^6 KTJ/ml
Sapovirus (GII) ^a	10^5 kopií/ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	10^6 KTJ/ml

Tabulka 4: Mikroorganismy testované na zkříženou reaktivitu a mikrobiální interferenci (pokračování)

Mikroorganismus	Testovaná koncentrace	Mikroorganismus	Testovaná koncentrace
Enterovirus (Ent V) ^a	10 ⁵ kopií/ml	<i>Lactobacillus crispatus</i>	10 ⁶ KTJ/ml
Rhinovirus ^a	10 ⁵ kopií/ml	<i>Lactococcus lactis</i>	10 ⁶ KTJ/ml
Koronavirus 229E	10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Listeria grayi</i>	10 ⁶ KTJ/ml
Coxsackievirus typ B4	10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	10 ⁶ KTJ/ml
Adenovirus typu 7A	10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Morganella morganii</i>	10 ⁶ KTJ/ml
Rotavirus ^a	10 ⁵ kopií/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Anaerococcus tetradius</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Peptostreptococcus micros</i>	10 ⁶ kopií rRNA/ml
<i>Abiotrophia defectiva</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Photobacterium damsela</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Acinetobacter baumannii</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Prevotella bivia</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Prevotella melaninogenica</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Aeromonas hydrophila</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	10 ⁶ kopií rRNA/ml
<i>Alcaligenes faecalis</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Proteus penneri</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Anaerococcus vaginalis</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Providencia alcalifaciens</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Arcobacter butzleri</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Providencia rettgeri</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Bacillus cereus</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Providencia stuartii</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Bacteroides vulgatus</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Serratia liquefaciens</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Serratia marcescens</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Bifidobacterium longum</i>	10 ⁶ kopií rRNA/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Campylobacter fetus</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Campylobacter rectus</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Streptococcus anginosus</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Campylobacter sputorum</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Candida albicans</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Yersinia bercovieri</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Citrobacter freundii</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Citrobacter koseri</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Yersinia rohdei</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Clostridium difficile</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Campylobacter lari</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Entamoeba histolytica</i>	10 ⁴ buněk/ml
<i>Clostridium ramosum</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Megasphaera elsdenii</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Clostridium sordellii</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Chlamydia trachomatis</i>	10 ⁵ IFU/ml
<i>Clostridium tertium</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Leptotrichia buccalis</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Collinsella aerofaciens</i>	10 ⁶ KTJ/ml	Cytomegalovirus	10 ⁵ TCID ₅₀ /ml
<i>Corynebacterium genitalium</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Salmonella enterica</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Cronobacter sakazakii</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Campylobacter jejuni</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Edwardsiella tarda</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Shigella sonnei</i>	10 ⁶ KTJ/ml

Tabulka 4: Mikroorganismy testované na zkříženou reaktivitu a mikrobiální interferenci (pokračování)

Mikroorganismus	Testovaná koncentrace	Mikroorganismus	Testovaná koncentrace
<i>Eggerthella lenta</i>	10 ⁶ kopií rRNA/ml	STEC – <i>stx1</i>	10 ⁶ KTJ/ml
STEC – <i>stx2</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Vibrio mimicus</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Vibrio fluvialis</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Yersinia frederiksenii</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Vibrio furnissii</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Yersinia kristensenii</i>	10 ⁶ KTJ/ml
<i>Vibrio metschnikovii</i>	10 ⁶ KTJ/ml	<i>Vibrio alginolyticus</i> ^b	10 ⁴ KTJ/ml

KTJ = kolonie tvořící jednotky, IFU = inkluze tvořící jednotky, kopie rRNA = kopie ribozomální ribonukleové kyseliny,

TCID₅₀ = medián infekční dávky pro tkáňovou kulturu.

^a Transkripty *in vitro* byly použity k vyhodnocení zkřížené reaktivity a mikrobiální interference, protože kultivovaný virus nebo purifikovaná nukleová kyselina s celým genomem nejsou snadno dostupné.

^b Zkřížená reaktivita byla pozorována při koncentracích ≥ 10⁵ KTJ/ml.

Souběžné infekce / kompetitivní interference

Kompetitivní interference v testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay byla hodnocena v triplicátu za použití párů analytů testu o nízkých/vysokých koncentracích ve zpracované negativní matici CBS. Analyt s nízkou koncentrací byl testován při 3násobné LoD oproti analytu s vysokou koncentrací 10⁶ KTJ/ml. Analyty byly navíc testovány také bez přítomnosti druhého analytu. Pokud byla u analytu s nízkou koncentrací pozorována pozitivita menší než 100 %, byl analyt s vysokou koncentrací ředěn, dokud nebylo dosaženo koncentrace, při které bylo pro analyt s nízkou koncentrací dosaženo 100 % positivity. Nejvyšší koncentrace konkurenčního analytu, při které si analyt s nízkou koncentrací udržel 100 % pozitivitu, je uvedena v Tabulka 5. Při testování analytů ve vysoké koncentraci si všechny výsledky pro ostatní analyty zachovaly očekávanou pozitivitu; nebyla pozorována žádná kompetitivní interference.

Tabulka 5: Souhrn výsledků souběžné infekce

Analyt 1		Analyt 2		<i>Yersinia</i> % pozitivních	<i>Vibrio</i> % pozitivních	STEC O157 % pozitivních	<i>Plesiomonas</i> % pozitivních
Název	3× LoD (KTJ/ml) ^a	Název	Vysoká koncentrace (KTJ/ml) ^a				
Negativní	–	Negativní	–	0 %	0 %	0 %	0 %
<i>Yersinia</i>	282	Žádný	0	100 %	0 %	0 %	0 %
		<i>Vibrio</i> ^b	10 ⁴	100 %	100 %	0 %	0 %
		STEC O157	10 ⁶	100 %	0 %	100 %	0 %
		<i>Plesiomonas</i>	10 ⁶	100 %	0 %	0 %	100 %
<i>Vibrio</i>	270	Žádný	0	0 %	100 %	0 %	0 %
		<i>Yersinia</i>	10 ⁶	100 %	100 %	0 %	0 %
		STEC O157	10 ⁶	0 %	100 %	100 %	0 %
		<i>Plesiomonas</i>	10 ⁶	0 %	100 %	0 %	100 %

Tabulka 5: Souhrn výsledků souběžné infekce (pokračování)

STEC O157	1,197	Žádný	0	0 %	0 %	100 %	0 %
		<i>Yersinia</i>	10 ⁶	100 %	0 %	100 %	0 %
		<i>Vibrio</i> ^b	10 ⁴	0 %	100 %	100 %	0 %
		<i>Plesiomonas</i>	10 ⁶	0 %	0 %	100 %	100 %
<i>Plesiomonas</i>	195	Žádný	0	0 %	0 %	0 %	100 %
		<i>Yersinia</i>	10 ⁶	100 %	0 %	0 %	100 %
		<i>Vibrio</i>	10 ⁶	0 %	100 %	0 %	100 %
		STEC O157	10 ⁶	0 %	0 %	100 %	100 %
Žádný	0	<i>Yersinia</i>	10 ⁶	100 %	0 %	0 %	0 %
		<i>Vibrio</i>	10 ⁶	0 %	100 %	0 %	0 %
		STEC O157	10 ⁶	0 %	0 %	100 %	0 %
		<i>Plesiomonas</i>	10 ⁶	0 %	0 %	0 %	100 %

KTJ = kolonie tvořící jednotky, Konc = koncentrace, Poz = pozitivní.

^a Koncentrace analytu ve zkumavce Aptima Multitest.

^b U analytu 1 bylo pozorováno méně než 100 % pozitivních výsledků s bakterií *Vibrio* při koncentraci $\geq 10^5$ KTJ/ml.

Interference

V testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay byly hodnoceny potenciální inhibiční účinky endogenních a exogenních látek, které mohou být přítomny v klinickém vzorku. Klinicky relevantní koncentrace potenciálně interferujících látek byly přidány do zpracované negativní matrice CBS a testovány v nepřítomnosti a v přítomnosti analytů testu GI Expanded Bacterial Assay při 3násobné koncentraci LoD. Testy se prováděly v triplicátu. Látky a testované koncentrace uvádí Tabulka 6.

U žádné z látek v testovaných koncentracích nebyl zjištěn žádný dopad na výkon testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay.

Tabulka 6: Látky testované na interferenci

Typ látky	Generický název	Aktivní složka(y)	Testovaná koncentrace ^{a, b, c}
Antibiotika	Amoxicilin	Amoxicilin	0,7 µg/ml
	Ampicilin	Ampicilin	0,9 µg/ml
	Doxycyklin	Doxycyklin	0,2 µg/ml
	Metronidazol	Metronidazol	1,5 µg/ml
	Neosporin®	Polymyxin B sulfát, bacitracin zinečnatý, neomycin sulfát	1,3 % hmot./obj.
Antimikrobiální a antimykotické	Antiseptické ubrousky BZK	Benzalkoniumchlorid	1,3 % obj./obj.
	Nystatin	Nystatin	1,3 % obj./obj.
Projímadla a změkčovačla stolice	Čípky Dulcolax®	Bisacodyl	75 ng/ml
	Colace®	Dokusát sodný	3,0 µg/ml
	Minerální olejový klystýr Fleet®	Minerální olej	1,3 % obj./obj.
	Ex-Lax®	Sennosidy	0,8 µg/ml
	Miralax®	Polyethylenglykol 3350	0,1 mg/ml
	Magnéziové mléko	Hydroxid hořečnatý, hydroxid hlinitý	1,3 % obj./obj.
	Visicol®	Fosforečnan sodný	53 ng/ml
Protiprůjmový lék	Imodium®	Loperamid hydrochlorid	0,1 µg/ml
Lék proti svědění	Vagisil®	Benzokain	1,3 % hmot./obj.
	Preparation H®	Hydrokortizon	1,3 % hmot./obj.
Protizánětlivé	Fenylefrin hydrochlorid (na hemoroidy)	Fenylefrin hydrochlorid	0,4 ng/ml
	Mesalazin (pouze na lékařský předpis, pro Crohnovu chorobu / ulcerózní kolitidu)	Kyselina salicylová	0,4 µg/ml
	Aleve®	Naproxen sodný	4,5 µg/ml
Antacid	Pepto-Bismol®	Subsalicylát bizmutu	1,3 % obj./obj.
	Tums®	Uhličitan vápenatý	55 µg/ml
Rentgenkontrastní látka	Síran barnatý	Síran barnatý	0,1 mg/ml
Lubrikanty a ochranné prostředky na pokožku	Lubrikační gel K-Y® s glycerinem	Glycerol	1,3 % hmot./obj.
	Čistá bílá vazelína Vaseline® Original 100%	Vazelína	1,3 % hmot./obj.
	Desitin®	Oxid zinečnatý	1,3 % hmot./obj.

Tabulka 6: Látky testované na interferenci (pokračování)

Typ látky	Generický název	Aktivní složka(y)	Testovaná koncentrace ^{a, b, c}
Spermicid	Možnosti vaginálního antikoncepčního gelu Conceptrol®	Nonoxynol-9	1,3 % hmot./obj.
	Cholesterol	Cholesterol	50 µg/ml
	Mastné kyseliny	Kyselina palmitová	16 µg/ml
	Mastné kyseliny	Kyselina stearová	34 µg/ml
Endogenní	Triglyceridy, celkem (fekální tuk, intralipid)	Triglyceridy	1,3 % obj./obj.
	Lidská žluč	Bilirubin, konjugovaný	5,0 µg/ml
	Moč	Lidská moč	1,3 % obj./obj.
	Lidská plná krev	Krev/hemoglobin	1,3 % obj./obj.
	Mucin	Purifikovaný mucinový protein	0,05 % hmot./obj.

^a Koncentrace látky ve zkumavce Aptima Multitest.^b obj./obj.: objemové/objemové.^c hmotn./obj.: hmotnostní/objemové.

Klinické vzorky stolice připravené v různých konzervačních médiích byly vyhodnoceny z hlediska potenciálního vlivu na výkonnost testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay. Mezi hodnocenými konzervačními médii bylo 10 různých typů Caryové-Blairových transportních médií od různých dodavatelů a konzervační média obsahující fixativa uvedená v Tabulka 7. Všechna média byla testována s analyty testu GI Expanded Bacterial Assay při 3násobné koncentraci LoD. U všech Caryové-Blairových médií byl zaznamenán srovnatelný výkon. Když byly vzorky zpracovány v médiu obsahujícím fixativní prostředky, byla pozorována srovnatelná interference.

Tabulka 7: Konzervační média pro stolici testovaná na interferenci

Caryové-Blairova média	
Culture & Sensitivity (C&S) Medium	Protocol Cary-Blair Medium
Caryové-Blairovo transportní médium s indikátorem	Enterická transportní média (ETM)
Para-Pak® C&S	Caryové-Blairovo médium Puritan®, 2 ml ^a
Para-Pak® Enteric Plus	Caryové-Blairovo médium Puritan®, 5 ml ^a
Lahvička na transport stolice Cardinal Health™ C&S	Odběrový, transportní a konzervační systém Copan® FecalSwab® ^a
Fixační média (byla pozorována interference)	
Pufrovaný formalín Fisher®, 10 %	
Pufrovaný formalín Para-Pak®, 10 %	
Para-Pak® LV-PVA	

^a Klinická funkčnost těchto médií nebyla stanovena.

Přenos kontaminace

Testy Panther Fusion GI Bacterial Assay a GI Expanded Bacterial Assay patří do stejné skupiny testů, které oba využívají jako typ vzorku stolicí v Caryové-Blairově médiu. Postup zpracování je u obou testů totožný. Přenos kontaminace byl hodnocen pomocí testu Panther Fusion GI Bacterial Assay jako reprezentativního testu a byla prokázána 0% míra přenosu.

Preciznost/opakovatelnost v rámci laboratoře

Preciznost testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay v rámci laboratoře byla hodnocena pomocí panelu s 5 prvky, sestávajícího z analytů testu ve zpracované negativní matici CBS. Tento 5prvkový panel obsahoval 1 negativní prvek panelu a 2 prvky analytu s jedním analytem (*Yersinia*) a 2 prvky panelu s více analyty (s bakteriemi *Vibrio*, STEC O157 a *Plesiomonas*). Panely byly testovány 3 uživateli při 2 cyklech denně, přičemž byly použity 3 šarže reagensů na 3 systémech Panther Fusion v období 9 dnů.

Popis prvků panelu je uveden v Tabulka 8 spolu se shrnutím shody s očekávanými výsledky a průměrnou hodnotou Ct a analýzou variability mezi šaržemi reagensů, operátory, přístroji, dny, mezi cykly a v rámci cyklů a celkově (celkem).

Tabulka 8: Souhrn analýzy variability Ct

Panel	Popis	Analyt	Shoda/N	Shoda % ^a	Průměrné Ct	Mezi šaržemi		Mezi přístroji		Mezi uživateli		Mezi dny		Mezi cykly		V rámci cyklu		Celkem	
						SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
1	Negativní	Negativní (vnitřní 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	nízká poz. (1,5násobná 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	střední poz. (3násobná 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	nízká poz. (1,5násobná 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	střední poz. (3× 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 = prahová hodnota cyklu, CV = variační koeficient, Mod = střední, N = velikost vzorku, Poz = pozitivní, SD = směrodatná odchylka.

^a Shoda s očekávaným výsledkem pozitivitu panelu.

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay byla hodnocena na 3 pracovištích v USA s použitím 1 negativního prvku panelu a 4 prvků panelu pozitivních na 1 nebo 3 cíle. Testování provádělo 6 uživatelů (2 na každém pracovišti) po dobu 5 dnů s použitím 1 šarže testovacích reagensů. Každý cyklus zahrnoval 3 replikáty jednotlivých prvků panelu.

Negativní prvek panelu byl vytvořen s použitím matrice sestávající ze vzorků stolice negativních na všechny cíle testu, konzervovaných v Caryové-Blairově médiu zpracovaném do STM. Pozitivní prvky panelu byly vytvořeny přidáním koncentrací 1,5× LoD (slabě pozitivní) nebo 3× LoD (středně pozitivní) cílového analytu do negativní matrice.

Shoda s očekávanými výsledky byla u všech prvků panelu pro *Yersinia*, *Vibrio*, STEC O157 a *Plesiomonas* 100 % (Tabulka 9).

Tabulka 9: Shoda výsledků testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay s očekávanými výsledky

		Shoda s očekávanými výsledky	
Popis	Analyt	N	% (95% CI)
Neg	Vnitřní kontrola	89/89	100 (95,9–100)
Slabě 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)
Středně 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 spolehlivosti skóre, Mod = středně, N = velikost vzorku, Neg = negativní, Poz = pozitivní.

^a Slabě pozitivní = všechny cíle jsou 1,5násobek LoD.

^b Středně pozitivní = všechny cíle jsou 3násobek LoD.

^c Kmeny *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio parahaemolyticus*, STEC O157, a *Plesiomonas shigelloides* byly použity k vytvoření pozitivních panelů.

^d Jeden (1) falešně pozitivní výsledek pro *Vibrio* byl získán pro středně pozitivní prvek panelu *Yersinia*.

Variabilita signálu byla měřena jako %CV hodnot Ct. Celková variabilita signálu byla ≤ 1,61 % (SD ≤ 0,55) pro všechny složky panelu (Tabulka 10). Pro zdroje variability s výjimkou faktoru „v rámci cyklu“ byly hodnoty % CV ≤ 1,03 % pro všechny složky panelu. Variabilita signálu pro pozitivní kontroly testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay byla ≤ 1,01 % (SD ≤ 0,33) (Tabulka 11).

Tabulka 10: Variabilita signálu testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay v závislosti na cíli a koncentraci

Popis	Analyt	N	Mezi pracovišti			Mezi uživateli/ cykly ^c		Mezi dny		V rámci cyklu		Celkem	
			Průměrné Ct	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Slabě 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
Středně 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 = prahová hodnota cyklu, CV = variační koeficient, Mod = střední, N = velikost vzorku, Poz = pozitivní, SD = směrodatná odchylka.
Poznámka: Analýza byla provedena postupem SAS MIXED, který ve výchozím nastavení aplikuje dolní hranici 0 na všechny složky rozptylu v modelu. Pokud je složka rozptylu 0, zobrazí se SD a %CV jako 0,00.

^a Slabě pozitivní = všechny cíle jsou 1,5násobek LoD.

^b Středně pozitivní = všechny cíle jsou 3násobek LoD.

^c Odchylku mezi uživateli je možné nedopatřením zaměnit s odchylkou mezi cykly, odhady mezi operátory a mezi cykly jsou sloučeny do odhadů mezi operátory/cykly.

Tabulka 11: Variabilita signálu kontrol testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay Positive Controls

Kontrola	Analyt	N	Mezi pracovišti			Mezi uživateli		Mezi dny		V rámci dny		Celkem	
			Průměrné Ct	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Poz	<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 = prahová hodnota cyklu, CV = variační koeficient, N = velikost vzorku, Poz = pozitivní, SD = směrodatná odchylka.

Poznámka: Analýza byla provedena postupem SAS MIXED, který ve výchozím nastavení aplikuje dolní hranici 0 na všechny složky rozptylu v modelu. Pokud je složka rozptylu 0, zobrazí se SD a %CV jako 0,00.

Klinická funkčnost

Byla provedena multicentrická studie s použitím zbytkových vzorků stolice v Caryové-Blairově konzervačním médiu, které byly odebrány v rámci rutinní péče o pacienty na 10 klinikách v USA od pediatrických nebo dospělých pacientů s podezřením na akutní gastroenteritidu. Všechny vzorky byly testovány pomocí testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay a srovnávacích testů: PCR plus obousměrné sekvencování (provedené dvakrát) pro STEC O157 a testem amplifikace nukleových kyselin (NAAT) schváleným FDA pro všechny ostatní cíle. Pro případné testování neshodného výsledku byl použit alternativní NAAT schválený FDA. Pozitivní (PPA) a negativní (NPA) procentuální shoda s odpovídajícími oboustrannými 95% CI skóre byly vypočteny ve vztahu k výsledkům komparátoru, podle cílového viru a podle kategorie klinického vzorku.

Do studie bylo zařazeno celkem 1 548 prospektivních klinických vzorků a 251 retrospektivních vzorků; 94 vzorků bylo z analýzy výkonnosti vyloučeno (například duplicitní jedinci, neplatné výsledky testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial nebo srovnávací výsledky pro všechny cíle). Pro doplnění prospektivních a retrospektivních dat pro všechny cíle bylo posouzeno dalších 189 uměle vytvořených vzorků. Z 1 919 vzorků testovaných v platných cyklech testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay mělo 36 (1,9 %) zpočátku neplatné výsledky. Po opakovaném testování vykázalo platné výsledky 25 ze 36 vzorků, což představuje celkem 11 (0,6 %) vzorků s konečnými neplatnými výsledky. Konečný soubor dat sestával z 1 894 hodnotitelných vzorků; ne všechny byly hodnotitelné pro všechny analyty. Demografické údaje pro 1 705 hodnotitelných prospektivních a retrospektivních vzorků jsou uvedeny v Tabulka 12.

Tabulka 12: Souhrn demografických údajů subjektů

		Celkem N (%)	Prospektivní N (%)	Retrospektivní N (%)
Celkový počet klinických vzorků		1 705	1,523	182
Pohlaví	Ženské	888 (52,1)	793 (52,1)	95 (52,2)
	Mužské	817 (47,9)	730 (47,9)	87 (47,8)
Věková skupina	0 až 28 dní	7 (0,4)	7 (0,5)	0 (0)
	29 dní až < 2 roky	74 (4,3)	67 (4,4)	7 (3,8)
	2 až 5 let	55 (3,2)	50 (3,3)	5 (2,7)
	6 až 11 let	68 (4,0)	66 (4,3)	2 (1,1)
	12 až 17 let	73 (4,3)	71 (4,7)	2 (1,1)
	18 až 21 let	47 (2,8)	44 (2,9)	3 (1,6)
	22 až 64 let	825 (48,4)	724 (47,5)	101 (55,5)
	≥ 65 let	556 (32,6)	494 (32,4)	62 (34,1)

N = velikost populace.

Funkční charakteristiky pro detekci bakterií *Yersinia*, *Vibrio*, STEC O157 a *Plesiomonas* jsou uvedeny v Tabulka 13 až Tabulka 16.

Tabulka 13: Klinická funkčnost – *Yersinia* spp.

Původ vzorku	N	TP	FP	TN	FN	Prevalence ^a (%)	PPA % (95% CI) ^b	NPA % (95% CI) ^b
Prospektivní (čerstvé)	1 507	10	9 ^c	1,487	1 ^d	0,7	90,9 (62,3, 98,4)	99,4 (98,9, 99,7)
Retrospektivní (zmrazené)	182	15	3 ^e	164	0	N/A ^f	100 (79,6, 100)	98,2 (94,9, 99,4)
Uměle připravené (zmrazené)	189	63	0	126	0	N/A ^f	100 (94,3, 100)	100 (97,0, 100)

CI = interval spolehlivosti, FN = falešně negativní, FP = falešně pozitivní, N = velikost vzorku, NPA = negativní procentuální shoda, PPA = pozitivní procentuální shoda, TN = skutečně negativní, TP = skutečně pozitivní.

^a Prevalence ve studii hlášená na základě srovnávacího testování.

^b CI skóre.

^c 6 z 9 nesouhlasných falešně pozitivních prospektivních vzorků bylo dle alternativního testu NAAT pozitivních na bakterii *Yersinia*.

^d Nesouhlasný falešně negativní prospektivní vzorek byl dle alternativního testu NAAT negativní na bakterii *Yersinia*.

^e 3 nesouhlasné falešně pozitivní retrospektivní vzorky byly dle alternativního testu NAAT pozitivní na bakterii *Yersinia*.

^f Výpočet prevalence není použitelný.

Tabulka 14: Klinická funkčnost – *Vibrio* spp.

Původ vzorku	N	TP	FP	TN	FN	Prevalence ^a (%)	PPA % (95% CI) ^b	NPA % (95% CI) ^b
Prospektivní (čerstvé)	1 507	1	0	1,505	1 ^c	0,1	50,0 (9,5, 90,5)	100 (99,7, 100)
Retrospektivní (zmrazené)	182	9	6 ^d	167	0	N/A ^f	100 (70,1, 100)	96,5 (92,6, 98,4)
Uměle připravené (zmrazené)	189	63	1 ^e	125	0	N/A ^f	100 (94,3, 100)	99,2 (95,6, 99,9)

CI = interval spolehlivosti, FN = falešně negativní, FP = falešně pozitivní, N = velikost vzorku, NPA = negativní procentuální shoda, PPA = pozitivní procentuální shoda, TN = skutečně negativní, TP = skutečně pozitivní.

^a Prevalence ve studii hlášená na základě srovnávacího testování.

^b CI skóre.

^c Nesouhlasný falešně negativní prospektivní vzorek byl dle alternativního testu NAAT pozitivní na bakterii *Vibrio*.

^d Všechny 6 nesouhlasných falešně pozitivních retrospektivních vzorků bylo dle alternativního testu NAAT pozitivních na bakterii *Vibrio*.

^e Nesouhlasný falešně pozitivní uměle připravený vzorek byl dle alternativního testu NAAT negativní na bakterii *Vibrio*.

^f Výpočet prevalence není použitelný.

Tabulka 15: Klinická funkčnost – STEC O157

Původ vzorku	N	TP	FP	TN	FN	Prevalence ^a (%)	PPA % (95% CI) ^b	NPA % (95% CI) ^b
Prospektivní (čerstvé)	1,522	1	2 ^c	1,519	0	0,1	100 (20,7, 100)	99,9 (99,5, 100)
Retrospektivní (zmrazené)	182	3	1 ^d	178	0	N/A ^g	100 (43,9, 100)	99,4 (96,9, 99,9)
Uměle připravené (zmrazené)	189	62	1 ^e	125	1 ^f	N/A ^g	98,4 (91,5, 99,7)	99,2 (95,6, 99,9)

CI = interval spolehlivosti, FN = falešně negativní, FP = falešně pozitivní, N = velikost vzorku, NPA = negativní procentuální shoda, PPA = pozitivní procentuální shoda, TN = skutečně negativní, TP = skutečně pozitivní.

^a Prevalence ve studii hlášena na základě srovnávacího testování.

^b CI skóre.

^c 1 ze 2 nesouhlasných falešně pozitivních prospektivních vzorků byl dle alternativního testu NAAT negativní na bakterii STEC O157. Druhý nesouhlasný vzorek byl dle alternativního testu NAAT pozitivní na O157, ale negativní na *stx1/stx2*.

^d Nesouhlasný falešně pozitivní retrospektivní vzorek byl dle alternativního testu NAAT pozitivní na bakterii STEC O157.

^e Nesouhlasný falešně pozitivní uměle připravený vzorek byl dle alternativního testu NAAT negativní na bakterii STEC O157.

^f Nesouhlasný falešně negativní uměle připravený vzorek nebyl alternativním testem NAAT opakovaně testován.

^g Výpočet prevalence není použitelný.

Tabulka 16: Klinická funkčnost – *Plesiomonas*

Původ vzorku	N	TP	FP	TN	FN	Prevalence ^a (%)	PPA % (95% CI) ^b	NPA % (95% CI) ^b
Prospektivní (čerstvé)	1,507	1	1 ^c	1,505	0	0,1	100 (20,7, 100)	99,9 (99,6, 100)
Retrospektivní (zmrazené)	182	8	1 ^d	173	0	N/A ^f	100 (67,6, 100)	99,4 (96,8, 99,9)
Uměle připravené (zmrazené)	189	62	0	126	1 ^e	N/A ^f	98,4 (91,5, 99,7)	100 (97,0, 100)

CI = interval spolehlivosti, FN = falešně negativní, FP = falešně pozitivní, N = velikost vzorku, NPA = negativní procentuální shoda, PPA = pozitivní procentuální shoda, TN = skutečně negativní, TP = skutečně pozitivní.

^a Prevalence ve studii hlášena na základě srovnávacího testování.

^b CI skóre.

^c Nesouhlasný falešně pozitivní prospektivní vzorek byl dle alternativního testu NAAT pozitivní na bakterii *Plesiomonas*.

^d Nesouhlasný falešně pozitivní retrospektivní vzorek byl dle alternativního testu NAAT pozitivní na bakterii *Plesiomonas*.

^f Nesouhlasný falešně negativní uměle připravený vzorek nebyl alternativním testem NAAT opakovaně testován.

^g Výpočet prevalence není použitelný.

V prospektivních a retrospektivních vzorcích nebyly pomocí testu Panther Fusion GI Expanded Bacterial Assay ani srovnávacími metodami zjištěny žádné souběžné infekce.

Literatura

1. WHO's first ever global estimates of foodborne diseases find children under 5 account for almost one third of deaths. (První globální odhady WHO týkající se nemocí přenášených potravinami ukazují, že téměř třetinu úmrtí tvoří děti do 5 let.) Publikováno 3. prosince 2015. Navštíveno 27. května 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 vydání neznámé. Burden of foodborne illness: Overview. Ministerstvo zdravotnictví a sociálních služeb USA. Získáno 27. května 2025 z: 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*. Červen 2012; 54 Suppl 5(0 5):S385-90. doi: 10.1093/cid/cis053.
6. Centers for Disease Control and Prevention. About *Vibrio* Infection. CDC. Aktualizováno 14. května 2024. Přístup 2. června 2025. <https://www.cdc.gov/vibrio/about/index.html>
7. Armed Forces Health Surveillance Division. (Divize zdravotního dohledu ozbrojených sil.) *Escherichia coli*, Shiga Toxin-Producing (STEC) Reference Sheet. Ministerstvo obrany USA; 2022. Navštíveno 30. května 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. Aktualizováno 13. prosince 2023. Navštíveno 30. května 2025. <https://www.uptodate.com/contents/plesiomonas-shigelloides-infections/print>

Kontaktní údaje



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australský zadavatel
Hologic (Australia &
New Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

E-mailovou adresu a telefonní číslo oddělení technické podpory a zákaznických služeb požadované země najdete na adrese www.hologic.com/support.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion a související loga jsou ochranné známky a/nebo registrované ochranné známky společnosti Hologic, Inc., a/nebo jejích dceřiných společností v USA nebo v jiných zemích.

Veškeré ostatní ochranné známky, které se mohou vyskytnout v této příbalové informaci, jsou majetkem příslušných vlastníků.

Tento produkt může být krytý jedním či více patenty USA uvedenými na webové stránce www.hologic.com/patents.

©2026 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.

AW-34378-2601 Rev. 003
2026-07

Historie revizí	Datum	Popis
AW-34378-2601 Rev. 001	Říjen 2025	• Původní vydání

AW-34378-2601 Rev. 003	červenec 2026	• Aktualizována testovaná koncentrace z hodnoty 10^6 na 10^4 u <i>Clostridium tertium</i> v tabulce 4: Mikroorganismy testované na zkříženou reaktivitu a mikrobiální interferenci. • Aktualizována testovaná koncentrace z hodnoty 10^6 na 10^5 u Norovirus (Noro GII) a Astrovirus v tabulce 4: Mikroorganismy testované na zkříženou reaktivitu a mikrobiální interferenci. • Aktualizována testovaná koncentrace konzervované stolice u <i>Vibrio vulnificus</i>, zdroj CCUG 38297 na 1100 v tabulce 3: Souhrn inkuzivity/reaktivity analytů pro test GI Expanded Bacterial Assay. • V tabulce 5: Souhrn výsledků souběžné infekce byla odebrána poznámka pod čarou stanovující, že u <i>Plesiomonas</i> (analyt 1) byly pozorovány méně než 100% pozitivní výsledky v kombinaci s <i>Vibrio</i> (analyt 2) při koncentraci $\geq 10^5$ CFU/ml. • V tabulce 8: Souhrn analýzy variability Ct byl aktualizován popis středně pozitivního panelu <i>Yersinia</i> na 3x LoD. • Různé úpravy stylu, ochranných známek a formátování. • Obsah beze změn. Revize 002 se vynechává. Číslo revize se zvyšuje tak, aby odpovídalo anglické verzi (AW-34378-001 Rev. 003).
------------------------	---------------	---