

REF

RFIT-ASY-0118
RFIT-ASY-0119



BioFire® FilmArray® Meningitis/Encephalitis (ME) Panel

INSTRUKCJA OBSŁUGI



PL *Rx Only*

CE₂₇₉₇ **IVD**

Dział obsługi klienta i pomocy technicznej dla klientów w USA

Znajdź nas w Internecie

<http://www.BioFireDX.com>

Napisz do nas pocztą elektroniczną

support@BioFireDX.com

Napisz do nas pocztą tradycyjną

515 Colorow Drive
Salt Lake City, UT 84108
USA

Zadzwoń do nas

1-800-735-6544 — numer bezpłatny
1-801-736-6354 — Stany Zjednoczone

Prześlij faks

1-801-588-0507

Dział obsługi klienta i pomocy technicznej dla klientów spoza USA

Aby uzyskać pomoc techniczną, należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem handlowym firmy bioMérieux lub autoryzowanym dystrybutorem.

UWAGA DLA KLIENTÓW W UNII EUROPEJSKIEJ (UE): Każde poważne zdarzenie związane z wyrobem musi zostać zgłoszone firmie BioFire Diagnostics, LLC lub lokalnemu przedstawicielowi handlowemu bioMérieux oraz właściwemu organowi państwa członkowskiego, w którym użytkownik i/lub pacjent ma siedzibę.



BioFire Diagnostics, LLC
515 Colorow Drive
Salt Lake City, UT 84108
USA



Qarad EC-REP BV
Pas 257
B-2440 Geel, Belgium



bioMérieux SA
376, Chemin de l'Orme
69280 Marcy l'Etoile-
France

© Copyright 2007–2021, BioFire Diagnostics, LLC. Wszelkie prawa zastrzeżone.

RFIT-PRT-0350-05 Czerwiec 2021

Informacje zawarte w tym dokumencie podlegają zmianom bez powiadomienia. Żadna z części tego dokumentu nie może być powielana ani udostępniana w żadnej formie i przy pomocy jakichkolwiek środków, elektronicznych lub mechanicznych, w żadnym celu bez pisemnej zgody firmy BioFire Diagnostics, LLC.

Oprogramowanie FilmArray, Detector oraz moduły oprogramowania Metacall © 2002–2021 BioFire Diagnostics, LLC.



















BioFire Diagnostics, BioFire, logo BioFire, FilmArray i LCGreen to znaki towarowe firmy BioFire Diagnostics, LLC lub BioFire Defense, LLC, które są zastrzeżonymi znakami towarowymi na terytorium USA.

Wszystkie inne nazwy produktów i marki występujące w tym podręczniku to znaki towarowe lub zastrzeżone znaki towarowe odpowiednich właścicieli.

Zakup tego produktu obejmuje ograniczoną, nieprzekazywalną licencję zgodnie z określonymi zastrzeżeniami co najmniej jednego patentu obowiązującego na terytorium USA, zgodnie z wykazem na stronie internetowej firmy BioFire Diagnostics (<http://www.biofiredx.com/Legal-Notices/>) będącego własnością firmy BioFire i fundacji University of Utah Research Foundation.

SŁOWNICZEK SYMBOLI

Poniższe symbole można znaleźć na elementach zestawu BioFire ME Panel Kit oraz w niniejszej instrukcji obsługi. Podane niżej definicje należy traktować jako wytyczne przy interpretacji symboli.

ISO 15223-1					
Wyroby medyczne — symbole do stosowania na etykietach wyrobów medycznych, w ich oznakowaniu i w dostarczanych z nimi informacjach					
5.1.1 	Producent	5.1.2 	Autoryzowany przedstawiciel na terenie Wspólnoty Europejskiej	5.1.4 	Termin przydatności (RRRR-MM-DD)
5.1.5 	Kod serii (Numer partii)	5.1.6 	Numer katalogowy	5.1.7 	Numer seryjny
5.2.8 	Nie używać, jeśli opakowanie jest uszkodzone	5.3.2 	Przechowywać z dala od światła słonecznego	5.3.7 	Zakres temperatur
5.4.2 	Nie używać ponownie	5.4.3 	Zapoznać się z instrukcją obsługi	5.5.1 	Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>
5.5.5 	Zawartość wystarczająca do przeprowadzenia <n> testów				
Symbole stosowane na etykiecie — 81 FR 38911, wykaz nr (FDA-2013-N-0125)					
Rx Only	Wyłącznie do użytku profesjonalnego.				
Globalnie Zharmonizowany System Klasyfikacji i Oznakowania Chemikaliów (GHS) (ST/SG/AC.10/30)					
	Poważne uszkodzenie oczu, kat. 1		Toksyczność ostra, kat. 4 oraz podrażnienie skóry, kat. 2		Ostre zagrożenie dla środowiska wodnego kat. 1 oraz długoterminowe zagrożenie dla środowiska wodnego kat. 1
Dyrektywa 98/79/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 27 października 1998 r. w sprawie wyrobów medycznych używanych do diagnozy <i>in vitro</i> (IVDD 98/79/EC) oraz Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2017/746 z dnia 5 kwietnia 2017 r. w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki <i>in vitro</i> (IVDR 2017/746)					
CE	Znak CE				
Symbole producenta (BioFire Diagnostics, LLC)					
	Importer produktów do Unii Europejskiej		Produkt BioFire Meningitis/Encephalitis (ME) Panel		

ETYKIETY ELEKTRONICZNE

Do podręcznika dotyczącego niniejszego produktu można uzyskać dostęp online na stronie internetowej www.biofiredx.com/e-labeling/KEY-CODE. Kod produktu KEY-CODE jest podany na etykiecie na zewnętrznym opakowaniu, na końcu adresu URL. Kod produktu KEY-CODE niniejszej instrukcji obsługi podano również poniżej. Dodatkowo dostępna jest kopia papierowa. Można ją zamówić, kontaktując się z obsługą klienta telefonicznie albo za pomocą poczty elektronicznej lub tradycyjnej.

Instrukcja obsługi	www.biofiredx.com/e-labeling/ITI0035
Skrócona instrukcja obsługi	www.biofiredx.com/e-labeling/ITI0012
Karta charakterystyki	www.biofiredx.com/e-labeling/ITI0067
Oprogramowanie modułu saszetki panelu	www.biofiredx.com/e-labeling/ITIFA20ME14
Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności (dotyczy klientów z terenu UE)	https://ec.europa.eu/tools/eudamed

SPIS TREŚCI

SŁOWNICZEK SYMBOLI	II
ETYKIETY ELEKTRONICZNE	III
SPIS TREŚCI	IV
ZASTOSOWANIE.....	1
PRZEZNACZENIE	1
KOMPETENCJE UŻYTKOWNIKA I ŚRODOWISKO UŻYTKOWANIA	1
PODSUMOWANIE I OBJAŚNIENIE TESTU	2
PODSUMOWANIE WYKRYWANYCH DROBNOUSTROJÓW	2
<i>Bakterie</i>	2
<i>Wirusy</i>	4
<i>Drożdżaki</i>	6
ZASADA PROCEDURY	6
MATERIAŁY DOSTARCZANE	7
MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZANE	7
OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI.....	8
OGÓLNE ŚRODKI OSTROŻNOŚCI	8
ŚRODKI OSTROŻNOŚCI DOTYCZĄCE BEZPIECZEŃSTWA	8
ŚRODKI OSTROŻNOŚCI DOTYCZĄCE LABORATORIUM	10
PRZESTROGA ZWIĄZANA ZE ZGŁASZANIEM DO ORGANÓW DS. ZDROWIA PUBLICZNEGO W USA	11
ŚRODKI OSTROŻNOŚCI ZWIĄZANE Z ROZPORZĄDZENIEM REACH (WE 1907/2006)	11
PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ ODCZYNNIKÓW ORAZ POSTĘPOWANIE Z NIMI	11
WYMAGANIA DOTYCZĄCE PRÓBKII	12
PROCEDURA	12
ETAP 1: PRZYGOTOWANIE SASZETKI	12
ETAP 2: UWADNIANIE SASZETKI	13
ETAP 3: PRZYGOTOWANIE MIESZANINY PRÓBKII	13
ETAP 4: WPROWADZANIE MIESZANINY PRÓBKII	14
ETAP 5: WYKONYWANIE CYKLU SASZETKI	14
<i>BioFire 2.0</i>	15
<i>BioFire Torch</i>	15
KONTROLA JAKOŚCI	16
PROCESS CONTROLS (KONTROLE PROCESOWE)	16
MONITOROWANIE DZIAŁANIA SYSTEMU TESTOWEGO.....	17
KONTROLE ZEWNĘTRZNE.....	17
INTERPRETACJA WYNIKÓW	17
INTERPRETACJA WYNIKÓW OZNACZENIA.....	17
INTERPRETACJA DROBNOUSTROJU.....	18
RAPORT Z TESTU BIOFIRE ME PANEL	18
POLE CONTROLS (KONTROLE).....	19

RESULT SUMMARY (PODSUMOWANIE WYNIKÓW)	20
OGRANICZENIA PROCEDURY	21
WARTOŚCI OCZEKIWANE	23
SKUTECZNOŚĆ.....	25
SKUTECZNOŚĆ KLINICZNA	25
<i>Badanie wstępnie wybranych próbek archiwalnych</i>	<i>30</i>
<i>Badanie próbek spreparowanych</i>	<i>31</i>
<i>Porównanie kliniczne z użyciem systemu BioFire 2.0.....</i>	<i>32</i>
GRANICA WYKRYWALNOŚCI	33
REAKTYWNOŚĆ ANALITYCZNA (ZAKRES TESTU).....	35
SPECYFICZNOŚĆ ANALITYCZNA (REAKTYWNOŚĆ KRZYŻOWA I WYŁĄCZNOŚĆ)	39
ODTWARZALNOŚĆ	41
ZAKŁÓCENIA	43
BIBLIOGRAFIA	46
INFORMACJE GWARANCYJNE.....	48
HISTORIA ZMIAN.....	49

Przeznaczenie

BioFire® FilmArray® Meningitis/Encephalitis (ME) Panel to jakościowy, multipleksowy test oparty na wykrywaniu kwasów nukleinowych do diagnostyki *in vitro*, przeznaczony do stosowania z systemami BioFire® FilmArray®. BioFire ME Panel umożliwia jednocześnie wykrywanie i identyfikację kwasów nukleinowych wielu bakterii, wirusów i drożdżaków bezpośrednio w próbkach płynu mózgowo-rdzeniowego (CSF) pobranych poprzez nakłucie lędźwiowe od osób z objawami przedmiotowymi i/lub podmiotowymi zapalenia opon mózgowych i/lub zapalenia mózgu. Za pomocą testu BioFire ME Panel można zidentyfikować następujące drobnoustroje:

Bakterie:

- *Escherichia coli* K1
- *Haemophilus influenzae*
- *Listeria monocytogenes*
- *Neisseria meningitidis* (szczep otoczkowy)
- *Streptococcus agalactiae*
- *Streptococcus pneumoniae*

Wirusy:

- Cytomegalowirus
- Enterowirus
- Wirus opryszczki pospolitej typu 1
- Wirus opryszczki pospolitej typu 2
- Ludzki herpeswirus 6
- Ludzki parechowirus
- Wirus ospy wietrznej i półpaśca

Drożdżaki:

- *Cryptococcus neoformans/gattii*

BioFire ME Panel stanowi pomoc w diagnozowaniu określonych czynników powodujących zapalenie opon mózgowych i/lub zapalenie mózgu. Z wyników tego testu należy korzystać w połączeniu z innymi danymi klinicznymi, epidemiologicznymi i laboratoryjnymi. Wyników testu BioFire ME Panel nie należy wykorzystywać jako wyłącznej podstawy do postawienia rozpoznania, wdrożenia leczenia czy podejmowania innych decyzji dotyczących postępowania terapeutycznego. Wyniki dodatnie nie wykluczają współistniejącego zakażenia drobnoustrojami, które nie są wykrywane w teście BioFire ME Panel. Wykryty czynnik może nie być przyczyną choroby. Wyniki ujemne nie wykluczają zakażenia ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Nie wszystkie czynniki powodujące zakażenie OUN są wykrywane przez niniejszy test, a czułość na potrzeby zastosowań klinicznych może być inna od podanej w ulotce informacyjnej.

Test BioFire ME Panel nie jest przeznaczony do badania próbek pobranych z urządzeń medycznych założonych na stałe wewnątrz ośrodkowego układu nerwowego (OUN).

Test BioFire ME Panel jest przeznaczony do stosowania w połączeniu ze standardową metodą hodowli na potrzeby badania drobnoustrojów, określaniem serotypów i antybiogramem.

Kompetencje użytkownika i środowisko użytkowania

Test BioFire ME Panel jest przeznaczony do stosowania przez przeszkolonych pracowników medycznych i laboratoryjnych w warunkach laboratoryjnych lub pod nadzorem przeszkolonego pracownika laboratoryjnego.

PODSUMOWANIE I OBJAŚNIENIE TESTU

Zakażenia ośrodkowego układu nerwowego (OUN) powodują stany zapalne mózgu i/lub tkanek opon mózgowych otaczających mózg (tj. zapalenie opon mózgowych, zapalenie mózgu, zapalenie opon mózgowych i mózgu, określane w tym dokumencie wspólnie skrótem ME). W przybliżeniu 15% przypadków zachorowań kończy się zgonem, a wiele innych powoduje niepełnosprawność na całe życie, np. utratę kończyn, upośledzenie wzroku i słuchu, napady drgawkowe oraz upośledzenie procesów poznawczych i pamięci.¹ Produkt BioFire ME Panel umożliwia przeprowadzanie testów w celu identyfikacji 14 potencjalnych patogenów ośrodkowego układu nerwowego w płynie mózgowo-rdzeniowym (Tabela 1). Wyniki badania próbki przy użyciu testu BioFire ME Panel są dostępne w ciągu około jednej godziny.

Tabela 1. Bakterie, wirusy i drożdżaki wykrywane za pomocą testu BioFire ME Panel

Bakterie	
<i>Escherichia coli</i> K1	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Wirusy	
Cytomegalowirus (CMV)	Enterowirus (EV)
Ludzki herpeswirus typu 6 (HHV-6)	Wirus opryszczki pospolitej typu 1 (HSV-1)
Ludzki parechowirus (HPeV)	Wirus opryszczki pospolitej typu 2 (HSV-2)
Wirus ospy wietrznej i półpaśca (VZV)	
Drożdżaki	
<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	

Podsumowanie wykrywanych drobnoustrojów

Bakterie

Szczepy ***Escherichia coli* K1** stanowią prawie 80% bakterii *E. coli* izolowanych z płynu mózgowo-rdzeniowego.² Chociaż większość bakterii *E. coli* to nieszkodliwe drobnoustroje bytujące w jelitach ludzi i zwierząt, niektóre z nich powodują choroby przewodu pokarmowego oraz zakażenia pozajelitowe (np. zakażenia dróg moczowych, bakteriemie i zapalenie opon mózgowych). Bakterie *E. coli* związane z zapaleniem opon mózgowych zawierają czynniki zjadliwości przyczyniające się do ich patogenezы poprzez umożliwianie im rozprzestrzeniania się za pośrednictwem krwi, przejmowania funkcji prawidłowych komórek gospodarza, przenikania do komórek śródbłonna i uzyskiwania dostępu do tkanek OUN.³ Antygen K1 to otoczka chroniąca bakterię przed układem odpornościowym. Zakażenia te są szczególnie niepokojące w przypadku wcześniaków i noworodków, a ponadto odpowiadają za prawie 45% i 30% przypadków zapalenia opon mózgowych w tych grupach wiekowych (odpowiednio), przy czym współczynnik śmiertelności wynosi odpowiednio 13 i 25%.⁴ Zakażenia u osób dorosłych są rzadsze i mają zazwyczaj charakter oportunistyczny. Następują po narażeniu jałowych narządów na zawartość przewodu pokarmowego po urazie lub zabiegach chirurgicznych; obserwowany współczynnik śmiertelności osób dorosłych wynosi 28–36%.^{5,6}

Haemophilus influenzae to gram-ujemna pałeczka, którą można wyizolować wyłącznie od ludzi.⁷ Szczepy bakterii *H. influenzae* dzieli się na dwie grupy na podstawie występowania lub braku otoczki polisacharydowej.^{7,8} Szczepy otoczkowe dzielą się z kolei na sześć serotypów (od a do f). Przed powszechnym wykorzystaniem szczepionek skoniugowanych przeciw bakteriom *H. influenzae* typu b (Hib) szczep Hib odpowiadał za > 80% inwazyjnych zakażeń bakteriami *H. influenzae*, głównie u dzieci poniżej piątego roku życia⁷, ze współczynnikiem śmiertelności od 3% do 6% oraz występowaniem trwałych następstw, takich jak nieznaczna utrata słuchu lub upośledzenie umysłowe, w 20–30% przypadków.⁸ Na terenach objętych rutynowymi szczepieniami większość inwazyjnych zakażeń bakteriami *H. influenzae* jest powodowanych przez szczepy o nieokreślonym typie. Pozostają one istotną przyczyną zapalenia opon mózgowych, szczególnie u osób, u których występują stany predysponujące do tej choroby, takie jak zapalenie ucha lub zatok, cukrzyca, niedobór odporności lub uraz głowy z wyciekami płynu mózgowo-rdzeniowego.⁹ Szacuje się, że zapalenie opon

mózgowych spowodowane bakteriami *H. influenzae* występuje w USA z częstością wynoszącą około 0,08 przypadku na 100 000 osób¹. Ponadto w kilku ostatnich dziesięcioleciach bakterie te były czynnikiem etiologicznym bakteryjnego zapalenia opon mózgowych w 20–50% przypadków zachorowań na świecie.¹⁰

Listeria monocytogenes, czynnik powodujący listeriozę, jest pałeczką gram-dodatnią występującą powszechnie w ziemi i wodzie. Występuje ona w przewodzie pokarmowym nawet 5% zdrowych osób dorosłych.^{11,12} Listeriozę uważa się za jedno z najcięższych bakteryjnych zakażeń przenoszonych przez żywność ze względu na wysoki współczynnik śmiertelności nawet w przypadku wczesnego podania antybiotyków (11–60%).^{12,13} Inwazyjna listerioza może być przyczyną poronienia, sepsy, zapalenia opon mózgowych oraz zapalenia opon mózgowych i mózgu. Do populacji narażonych na rozwój inwazyjnej listeriozy należą osoby z upośledzoną odpornością, kobiety w ciąży, noworodki, płody i osoby starsze.^{2,11} Zapalenie opon mózgowych spowodowane bakterią *L. monocytogenes* według zgłoszeń występuje w przybliżeniu w 0,05 przypadku na 100 000 osób w USA rocznie¹, a ponadto powoduje 0,5–2,0% przypadków bakteryjnego zapalenia opon mózgowych w krajach poza USA.¹⁰

***Neisseria meningitidis* (szczep otoczkowy)** to tlenowa dwójka Gram-ujemna, będąca drobnoustrojem wymagającym, przenoszona poprzez kontakt ze śluzem lub drogą kropelkową, często przez nosicieli bezobjawowych. Wyodrębniono co najmniej 12 różnych serogrup bakterii *N. meningitidis*, z czego sześć wiąże się z epidemiami (grupy A, B, C, W, X i Y).¹⁴ Serogrupa odnosi się do typów antygenów otoczkowych. W zasadzie tylko szczepy otoczkowe bakterii *N. meningitidis* uważa się za patogenne. Choroba meningokokowa (zapalenie opon rdzenia i/lub posocznica meningokokowa) jest rzadka w krajach rozwiniętych, jednak możliwe jest wystąpienie jej ognisk i wciąż stanowi problem w zakresie zdrowia publicznego w krajach rozwijających się. Najczęściej występuje u noworodków, dzieci i młodzieży. Pojawia się zazwyczaj w miejscach zamieszkiwanych przez dużą liczbę osób (takich jak internaty szkolne lub koszary wojskowe). Sezonowa szczytowa zapadalność występuje późną zimą i wczesną wiosną¹⁵, przy czym roczna zapadalność wynosi około 0,2 przypadku na 100 000 osób w USA.¹ Choroba może postępować niezwykle szybko (< 24 godzin) z wystąpieniem niedociśnienia, niewydolności wielonarządowej, wstrząsu oraz niedokrwienia obwodowego będącego przyczyną utraty kończyn, a współczynnik śmiertelności wynosi około 5–10%.¹⁶ Na terenie USA dostępnych jest sześć zarejestrowanych szczepionek przeciw meningokokom, które można stosować u osób w różnym wieku, w zależności od szczepionki.¹⁷ Pomimo szczepień na dużą skalę na całym świecie kilka serogrup bakterii *N. meningitidis* nadal powoduje okresowe występowanie ognisk tej choroby, szczególnie w Afryce Subsaharyjskiej.¹⁴ Bardzo duże zmniejszenie zachorowań na meningokokowe zapalenie opon powodowanych przez serogrupę C zaobserwowano w krajach, w których wprowadzono szczepionki przeciwko tej serogrupie.¹⁸

Bakterie ***Streptococcus agalactiae*** (*Streptococcus* z grupy B, GBS) stanowią ważną przyczynę zapalenia opon mózgowych u noworodków, szczególnie wcześniaków, i często współwystępują z sepsą noworodków.^{2,19} Najważniejszym czynnikiem ryzyka zachorowania noworodka jest kolonizacja organizmu matki bakteriami GBS.² Od 1996 r. w wytycznych amerykańskiej agencji CDC (zaktualizowanych w 2010 r.)²⁰ znajduje się zalecenie profilaktycznego podawania antybiotyków na kilka godzin przed porodem, co spowodowało zmniejszenie częstości występowania bakterii GBS u noworodków.²¹ U dorosłych pacjentów występowanie bakterii GBS jest związane ze starszym wiekiem lub ciężką chorobą podstawową. Szacowana ogólna zapadalność w USA wynosi 0,25 zakażenia na 100 000 osób¹, natomiast zachorowalność spowodowana przez bakterie GBS u noworodków wynosiła 0,2–2,4 na 1000 urodzeń w Europie w ciągu ostatnich kilku dziesięcioleci²². Współczynniki śmiertelności wynoszą od 10% u noworodków²³ do 25–30% u osób dorosłych.^{24,25}

Bakterie ***Streptococcus pneumoniae*** tworzą kolonie w górnych drogach oddechowych i stanowią najczęściej izolowany patogen dróg oddechowych w przypadku pozaszpitalnego zapalenia płuc. Bakterie te stanowią również główną przyczynę zapalenia opon mózgowych, szczególnie u dzieci i osób w podeszłym wieku, a najczęściej u tych, u których występuje choroba podstawowa. Współczynnik zapadalności związany z tymi bakteriami wynosi około 0,8 zakażenia na 100 000 osób w USA¹. Ponadto bakterie te powodują 20–31% przypadków bakteryjnego zapalenia opon mózgowych w krajach poza USA.¹⁰ Współczynnik śmiertelności również jest wysoki: 8–15% u dzieci i 20–37% u osób dorosłych.²⁶ W krajach ubogich współczynnik śmiertelności wynosi blisko 50%, szczególnie w przypadku współistniejącego zakażenia wirusem HIV.²⁷

Neurologiczne następstwa choroby (upośledzenie funkcji poznawczych, głuchota, padaczka) występowały nawet u 40% osób, które przeżyły.^{28,29} Na terenie USA zarejestrowane są dwie szczepionki skojarzone przeciw pneumokokom (PPV23 i PCV13), których stosowanie jest zalecane w przypadku noworodków, osób z upośledzoną odpornością i osób w wieku powyżej 65 lat³⁰. Pomagają one zmniejszyć o 50–80% ryzyko zachorowania zarówno na chorobę inwazyjną, jak i na pneumokokowe zapalenie płuc.³¹

Wirusy

Ludzki **cytomegalowirus** (CMV) to zawierający dwuniciowy DNA wirus z rodziny *Herpesviridae*. Dane dotyczące seroprewalencji wskazują, że zakażenie tym wirusem jest prawie wszechobecne w światowej populacji, ze wskaźnikiem wynoszącym blisko 100% w krajach rozwijających się³² oraz 36–90% w USA w zależności od wieku i rasy/pochodzenia etnicznego.³³ Przenikanie wirusa CMV z organizmu matki może spowodować zakażenie wrodzone o poważnych, długoterminowych następstwach, jednak zazwyczaj u osób zdrowych zakażenia przebiegają w sposób niezauważony lub mogą powodować objawy podobne do mononukleozy. Ciężka postać choroby u pacjentów immunokompetentnych występuje rzadko³⁴, jednak wirus CMV jest patogenem oportunistycznym u osób o obniżonej lub upośledzonej odporności, wywołującym zakażenie pierwotne lub uaktywnienie zakażenia utajonego. Aż do lat 90. XX wieku, zanim stało się dostępne bardzo skuteczne leczenie antyretrowirusowe, według szacunków u blisko połowy pacjentów zakażonych wirusem HIV rozwijało się ciężkie zakażenie wirusem CMV, głównie zapalenie siatkówki, zapalenie okrężnicy lub zapalenie płuc spowodowane wirusem CMV.³⁵ Jeśli nie zostanie zastosowane leczenie, choroba spowodowana przez wirus CMV może być w tych populacjach śmiertelna.

Enterowirusy (EV) to niewielkie wirusy RNA należące do rodziny *Picornaviridae* związane z chorobami występującymi u ludzi i wywołujące od bezobjawowych lub łagodnych zakażeń po ciężkie choroby ośrodkowego układu nerwowego (OUN) wymagające hospitalizacji. Zakażenia są najczęstsze u dzieci, przy czym większość z nich występuje w miesiącach letnich.³⁶ Do najpowszechniejszych serotypów wirusów EV należą wirusy Coxsackie A9 i B1 oraz echowirusy 6, 9 i 18, które stanowią ponad 50% wykrywanych serotypów.³⁶ Zakażenie następuje poprzez drogę fekalno-oralną i kropelkową. Może się ono szybko rozprzestrzeniać w skupiskach ludzkich, szczególnie na obszarach charakteryzujących się złymi warunkami sanitarnymi.³⁷ Wirusy EV to jedna z często identyfikowanych przyczyn zakaźnego zapalenia mózgu / zapalenia opon mózgowych. Obserwowana częstość występowania wynosi 5,5–30% w zależności od lokalizacji i danych demograficznych pacjentów.^{38–40}

Wirusy opryszczki pospolitej typu 1 i 2 (HSV-1 i HSV-2) to wirusy DNA z rodziny *Herpesviridae*, nazwane tak ze względu na rozprzestrzeniające się owrzodzenia skórne powodowane przez zakażenia tymi wirusami. Do zakażeń wirusem HSV-1 dochodzi zazwyczaj we wczesnym dzieciństwie. Objawiają się one przede wszystkim zmianami w okolicy ust. Natomiast wirus HSV-2 wiąże się przede wszystkim ze zmianami na narządach płciowych, a do zakażenia dochodzi w późniejszym okresie życia w związku z aktywnością seksualną. Po zakażeniu pierwotnym (które najczęściej jest bezobjawowe) wirus HSV zasiedla komórki nerwowe. Do uaktywnienia wirusa powodującego zmiany lub inne ciężkie stany chorobowe (takie jak zakażenie ośrodkowego układu nerwowego) może dochodzić przez całe życie, a do potencjalnych przyczyn takiego uaktywnienia należą: gorączka, uraz, narażenie na promieniowanie UV (światło słoneczne), stres, zaburzenia hormonalne i zmiany w układzie odpornościowym.³⁷ W USA całkowita seroprewalencja wirusa HSV-1 wynosi około 60%.⁴¹ Całkowita seroprewalencja wirusa HSV-2 wynosi około 16%, jednak różni się w zależności od wieku, płci i pochodzenia etnicznego.⁴² Szacuje się, że na całym świecie wirusem HSV-1 zakażonych jest w przybliżeniu 90% ludzi, natomiast wirus HSV-2 jest mniej rozpowszechniony — zakażonych jest nim 15–80% ludzi.⁴³ Wirus HSV jest jedną z najczęstszych przyczyn wirusowego zapalenia mózgu i znaczącą przyczyną zapalenia opon mózgowych. W przeprowadzonym w Wielkiej Brytanii badaniu na dużą skalę, w którym użyto ponad 1600 próbek płynu mózgowo-rdzeniowego⁴⁴, wirus HSV-1 wykryto u 25 (1,5%) pacjentów (u prawie wszystkich wystąpiło zapalenie mózgu), natomiast wirus HSV-2 wykryto u 33 (1,9%) pacjentów (u prawie wszystkich wystąpiło zapalenie opon mózgowych). Ta całkowita częstość występowania w płynie mózgowo-rdzeniowym wynosząca w przybliżeniu 3% jest podobna do zaobserwowanej w przeprowadzonym niedawno

badaniu płynu mózgowo-rdzeniowego pobranego od pacjentów w stanie Nowy Jork.⁴⁰ W badaniu tym zaobserwowano również podobny rozkład wirusów HSV-1 i HSV-2 w przypadku zapalenia mózgu i zapalenia opon mózgowych.

Ludzki herpeswirus 6 (HHV-6) odkryto w połowie lat 80. XX wieku⁴⁵, gdy zwiększenie liczby pacjentów o obniżonej odporności doprowadziło do wzrostu liczebności populacji osób podatnych na rozwój ciężkiej postaci choroby.³⁷ Występują dwa gatunki wirusa: HHV-6A i HHV-6B. Badania wykazały, że u ponad 95% osób w wieku powyżej dwóch lat występuje jeden lub oba warianty tego wirusa⁴⁶, a zakażenie staje się utajone poprzez integrację wirusa z komórkami gospodarza. Zakażenie pierwotne wirusem HHV-6B powoduje różyczkę (wysypkę) u niemowląt, natomiast objawy kliniczne zakażenia wirusem HHV-6A pozostają raczej nieokreślone. Jednak niektóre badania sugerują, że zakażenie wirusem HHV-6A może być powiązane z chorobą zapalną lub neurologiczną, a ponadto że wirus HHV-6A charakteryzuje się większym neurotropizmem niż wirus HHV-6B.^{47,48} Tę hipotezę potwierdza odkrycie, że wirus HHV-6 rezyduje w tkankach ośrodkowego układu nerwowego (OUN), w tym w mózgu⁴⁹, i może powodować ich uszkodzenie oraz prowadzić do zapalenia mózgu / zapalenia opon mózgowych. Ponadto w niedawno przeprowadzonym badaniu wirus HHV-6 zidentyfikowano w płynie mózgowo-rdzeniowym 1,8% pacjentów z zapaleniem mózgu / zapaleniem opon mózgowych.⁴⁰ Choroba ośrodkowego układu nerwowego (OUN) związana z wirusem HHV-6 występuje zarówno u dzieci, jak i osób dorosłych, co sugeruje, że inwazja tego układu jest możliwa podczas zakażenia pierwotnego.⁴⁶ Zakażenie ośrodkowego układu nerwowego (OUN) może wystąpić u pacjentów immunokompetentnych, jednak dochodzi do niego dużo częściej u osób z ciężkim upośledzeniem odporności.^{37,46} Jednak wiadomo, że u pacjentów bezobjawowych zachodzi reaktywacja wirusa HHV-6 i że możliwe jest jego wykrycie za pomocą metody PCR u ogólnie zdrowych osób bez objawów czynnego zakażenia wirusem HHV-6.⁵⁰ Badania nad wirusem HHV-6 w prawidłowej tkance mózgu pozwoliły także zidentyfikować DNA wirusa HHV-6 metodą PCR u nawet 85% pacjentów bez objawów czynnego zakażenia⁵¹. Wykazano, że DNA wirusa HHV-6 może pozostawać w płynie mózgowo-rdzeniowym po ostrym zakażeniu. W badaniu z udziałem 56 pacjentów po allogenicznym przeszczepieniu komórek macierzystych DNA wirusa HHV-6 wykryto w płynie mózgowo-rdzeniowym 14 (27%) pacjentów bez objawów ze OUN.⁵² Biorąc pod uwagę częstość występowania zakażenia utajonego i możliwość bezobjawowej reaktywacji, wyniki dodatnie pod względem HHV-6 należy interpretować uważnie w połączeniu z objawami klinicznymi i dodatkowymi testami laboratoryjnymi.

Ludzkie parechowirusy (HPeV) stanowią kolejny rodzaj z rodziny *Picornaviridae*. Wirusy HPeV sklasyfikowano początkowo, po ich odkryciu w latach 50. XX wieku, jako enterowirusy. Zidentyfikowano co najmniej tuzin ich serotypów. Seroprewalencja wirusa HPeV-1 sięga blisko 100% w populacjach osób dorosłych, przy czym do większości zakażeń dochodzi we wczesnym dzieciństwie.^{53–55} Tak jak w przypadku wirusa EV, do zakażenia dochodzi drogą fekalno-oralną lub kropelkową, a do jego najczęstszych objawów należą łagodne objawy ze strony układu oddechowego lub choroba przewodu pokarmowego.⁵³ Choroba ośrodkowego układu nerwowego (OUN) spowodowana wirusem HPeV-1 jest rzadka, natomiast wirus HPeV-3 wiąże się z rozwojem ciężkich chorób, takich jak sepsa, zapalenie mózgu, zapalenie opon mózgowych i zapalenie wątroby u dzieci w wieku < 3 miesięcy.⁵⁶ W przeprowadzonych niedawno badaniach płynu mózgowo-rdzeniowego pobranego od noworodków z podejrzeniem choroby ośrodkowego układu nerwowego (OUN) lub sepsy wykazano częstość występowania wirusa HPeV wynoszącą 3–17%; prawie we wszystkich przypadkach był to wirus HPeV-3.^{57–59} Obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego u noworodków, które przeżyły chorobę ośrodkowego układu nerwowego (OUN) spowodowaną przez wirus HPeV, wykazało uszkodzenie istoty białej mózgu, a w późniejszym okresie życia u tych dzieci wystąpiły zaburzenia rozwojowe.⁶⁰

Wirus ospy wietrznej i półpaśca (VZV) to wirus zawierający dwuniciowy DNA z rodziny *Herpesviridae*, powodujący zazwyczaj zakażenia w dzieciństwie (ospa wietrzna), po czym pozostaje utajony w komórkach i może ulec późniejszej reaktywacji (półpasiec w wieku dorosłym). Do pierwotnego zakażenia wirusem VZV dochodzi drogą kropelkową, a zakażenie nowego gospodarza rozpoczyna się w obrębie komórek nabłonka dróg oddechowych. Po zakażeniu pierwotnym (gorączka i złe samopoczucie, którym towarzyszy wysypka plamisto-grudkowa) wirus VZV zasiedla zwoje czuciowe układu nerwowego, a zakażenie przyjmuje postać utajoną.³⁷ W USA u blisko 90% populacji doszło do zakażenia wirusem VZV przed pojawieniem się szczepionek.³⁷ Podobny odsetek zakażeń zgłaszano w krajach europejskich.^{61,62} Spośród osób zakażonych u 10–30% wystąpił półpasiec (bolesna wysypka spowodowana reaktywacją latentnego wirusa w zwojach

korzeni grzbietowych), głównie w późniejszym okresie życia.^{63,64} Szacuje się, że średnia globalna zapadalność na półpasiec wynosi 4,0–4,5 przypadku na 1000 osobolat⁶⁵, co podkreśla częstotliwość reaktywacji wirusa VZV na całym świecie. W badaniach wykazano, że wirus VZV jest przejściowo wykrywalny za pomocą metody PCR we krwi dorosłych osób, u których nie występują objawy choroby (zarówno immunokompetentnych, jak i o obniżonej odporności), co sugeruje, że do reaktywacji wirusa dochodzi w ciągu życia, jednak jest ona zazwyczaj neutralizowana przez układ odpornościowy.^{66,67} Zapalenie mózgu i zapalenie opon mózgowych są powikłaniami zarówno ospy wietrznej, jak i półpaśca. W jednym z przeprowadzonych badań wirus VZV okazał się trzecim z najczęściej wykrywanych wirusów u pacjentów z objawami przedmiotowymi i podmiotowymi zapalenia mózgu / zapalenia opon mózgowych, a częstość występowania w populacji objętej badaniem wyniosła 1,9%.⁴⁰ U pacjentów o obniżonej odporności choroba neurologiczna spowodowana przez wirus VZV może stać się przewlekła i prowadzić do postępującego pogarszania stanu zdrowia i zgonu.⁶³ Na terenie USA dostępne są dwie zarejestrowane szczepionki zawierające żywe, atenuowane wirusy VZV; jedna z nich jest przeznaczona do szczepienia dzieci przeciw ospie wietrznej, natomiast druga służy do szczepienia osób dorosłych przeciw półpaścowi.⁶⁸

Drożdżaki

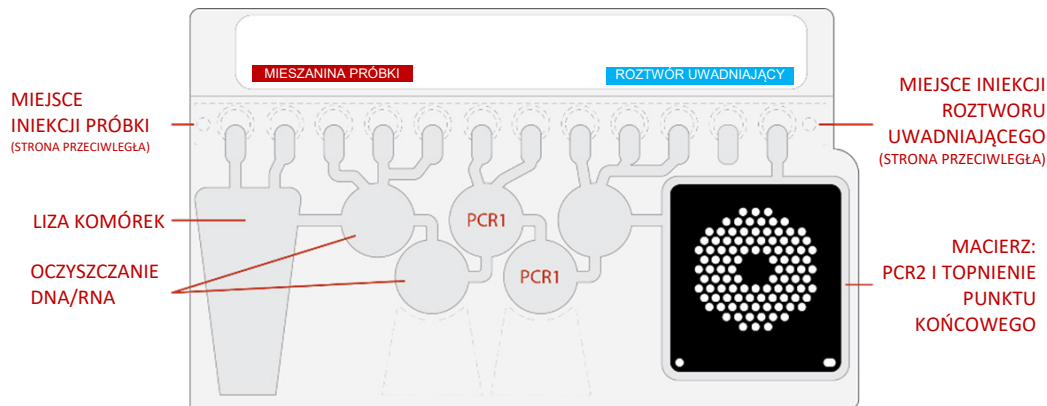
Cryptococcus neoformans* i *Cryptococcus gattii to grzyby występujące w glebie i ptasich odchodach, które po przedostaniu się do dróg oddechowych mogą stać się patogenne i rozprzestrzeniać się na inne układy narządów (w szczególności do mózgu i opon mózgowych). Grzyb *C. neoformans*, gdy występuje u osób o obniżonej odporności, jest uznawany za patogen oportunistyczny. Takie zakażenie jest chorobą definiującą AIDS u 50% pacjentów cierpiących na AIDS.^{2,69} Zakażenie grzybem *C. gattii* jest względnie rzadkie, jednak jego częstość wydaje się wzrastać. Zakażenia grzybem *C. gattii*, wiązane zazwyczaj z klimatem tropikalnym i subtropikalnym, od lat 90. XX wieku były zgłaszane w Kolumbii Brytyjskiej (Kanada), na Wybrzeżu Północno-Zachodnim (USA) i na północno-wschodnich terenach USA, a także w Europie.^{70–73} Grzyb *C. gattii* może powodować choroby nie tylko osób o obniżonej odporności, ale także u immunokompetentnych pacjentów, szczególnie gdy występuje u nich choroba podstawowa.² Śmiertelność spowodowana przez kryptokokowe zapalenie opon mózgowych jest wysoka i wynosi od 10% do prawie 50% u pacjentów z obniżoną odpornością.^{69,72}

Zasada procedury

Saszetka BioFire ME Panel jest zamkniętym, jednorazowym układem, zawierającym wszystkie niezbędne odczynniki do przygotowania próbki, reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) i detekcji. Umożliwia izolację, amplifikację i wykrywanie kwasu nukleinowego różnych patogenów wywołujących zapalenie opon mózgowych i zapalenie mózgu w pojedynczej próbce płynu mózgowo-rdzeniowego pobranej w drodze nakłucia lędźwiowego. Po pobraniu próbki użytkownik wstrzykuje do saszetki Hydration Solution (Roztwór uwadniający) oraz próbkę zawieszoną w buforze BioFire® FilmArray® Sample Buffer (Bufor próbki), wprowadza saszetkę do modułu BioFire® FilmArray® Module i uruchamia cykl. Cały cykl trwa około godziny. Dalsze informacje znaleźć w odpowiednim podręczniku operatora systemu BioFire® FilmArray®.

Etapy cyklu w systemie BioFire:

- Liza próbki poprzez wytrząsanie (liza mechaniczna) oraz liza chemiczna w buforze Sample Buffer (Bufor próbki).
- Ekstrakcja i oczyszczanie wszystkich kwasów nukleinowych znajdujących się w próbce za pomocą technologii kulek magnetycznych.
- Zagnieżdżona multipleksowa reakcja PCR:
 - Najpierw przeprowadzana jest pojedyncza, wielkoobjętościowa, wysoko multipleksowa reakcja (PCR1)
 - Następnie przeprowadzane są liczne reakcje singlepleks PCR drugiego etapu (PCR2), podczas których namnażane są sekwencje w obrębie produktów PCR1
- Detekcja na podstawie analizy punktów końcowych krzywych denaturacji i generowanie wyników dla każdej sekwencji docelowej w macierzy BioFire ME Panel.



MATERIAŁY DOSTARCZANE

Każdy zestaw zawiera odczynniki w ilości wystarczającej do wykonania oznaczenia 30 (zestaw 30 testów; RFIT-ASY-0118) lub 6 (zestaw 6 testów; RFIT-ASY-0119) próbek:

- Pojedynczo pakowane saszetki BioFire ME Panel
- Jednorazowe ampułki z buforem Sample Buffer (Bufor próbek) (1,0 ml)
- Jednorazowe, wypełnione strzykawki BioFire® FilmArray® Hydration Injection Vials (Strzykawki z roztworem uwadniającym) (1,5 ml) (niebieskie)
- Jednorazowe strzykawki BioFire® FilmArray® Sample Injection Vials (Strzykawki z próbką) (czerwone)
- Pojedynczo zapakowane Transfer Pipettes (Pipety transferowe)
- Oprogramowanie modułu saszetki BioFire® FilmArray® Meningitis/Encephalitis (ME) Panel
To oprogramowanie jest wymagane do uruchomienia testu BioFire ME Panel i można je pobrać na stronie www.biofire.com/e-labeling/ITIFA20ME14, jeśli nie zostało jeszcze zainstalowane w systemie BioFire 2.0 lub BioFire Torch.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZANE

- System BioFire® FilmArray®, w tym:
 - System BioFire® FilmArray® 2.0 lub BioFire® FilmArray® Torch wraz z towarzyszącym oprogramowaniem podstawowym specyficznym dla danego systemu.
 - BioFire® FilmArray® Pouch Loading Station (Stacja ładowania saszetek)

UWAGA: pierwsza generacja systemu BioFire, czyli system BioFire® FilmArray® (REF: FLM1-ASY-0001), nie jest już dystrybuowany ani produkowany. Informacje na temat działania tego systemu z testem BioFire ME Panel można znaleźć w wersji 04 niniejszej Instrukcji obsługi.

- 10-procentowy roztwór wybielacza lub podobny środek odkażający

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Ogólne środki ostrożności

1. Wyniki testu BioFire ME Panel musi wnikliwie zinterpretować przeszkolony lekarz, uwzględniając występujące u pacjenta objawy przedmiotowe i podmiotowe, wyniki innych badań diagnostycznych oraz wszelkie istotne dane epidemiologiczne.
2. Saszetki BioFire ME Panel są przeznaczone do stosowania wyłącznie z systemami BioFire 2.0 i BioFire Torch.
3. Zawsze należy sprawdzać datę ważności saszetki. Nie wolno używać saszetek po upływie tej daty.
4. Saszetki BioFire są przechowywane próżniowo w pojedynczo opakowanych pojemnikach. Aby zachować integralność saszetek w celu zapewnienia prawidłowego działania, przed rozpakowaniem saszetek w celu załadowania w urządzeniu należy upewnić się, że moduł BioFire jest dostępny i sprawny.

Środki ostrożności dotyczące bezpieczeństwa

1. Należy stosować środki ochrony indywidualnej, w tym jednorazowe, bezpudrowe rękawiczki i fartuch laboratoryjny. Należy chronić skórę, oczy i błony śluzowe. W trakcie pracy z odczynnikami lub próbkami należy często zmieniać rękawiczki.
2. Wszystkie próbki i odpady należy traktować jako materiał potencjalnie zakaźny. Przestrzegać wytycznych dotyczących bezpieczeństwa, podanych m.in. w następujących dokumentach:
 - CDC/NIH Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories⁷⁴
 - CLSI Document M29 Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections⁷⁵
 - Inne stosowne wytyczne
3. Należy przestrzegać obowiązujących w danej placówce procedur dotyczących bezpieczeństwa pracy z próbkami biologicznymi.
4. Materiały wykorzystane do wykonania tego oznaczenia, w tym odczynniki, próbki i zużyte fiolki buforu, należy utylizować zgodnie z przepisami krajowymi, wojewódzkimi i lokalnymi.
5. Sample buffer (Bufor próbki) zawiera chlorek guanidyny i Triton X100. Obowiązują następujące wytyczne:

Obowiązują następujące wytyczne.

 - Zagrożenia dla zdrowia
 - Toksyczność ostra, doustna (kat. 4)
 - H302 — działa szkodliwie po połknięciu.
 - Działanie żrące/drażniące na skórę (kat. 2)
 - H315 — działa drażniąco na skórę.
 - Poważne uszkodzenie oczu/działanie drażniące na oczy (kat. 1)
 - H318 — powoduje poważne uszkodzenie oczu.
 - Zagrożenia dla środowiska
 - Niebezpieczne dla środowiska wodnego, ostre zagrożenie dla środowiska wodnego (kat. 1)
 - H400 — działa bardzo toksycznie na organizmy wodne.

- Zagrożenie dla środowiska wodnego, długotrwałe zagrożenie dla środowiska wodnego (kat. 1)
 - H410 — działa bardzo toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.
- Zwroty wskazujące środki ostrożności
 - Zapobieganie
 - P273 — unikać uwolnienia do środowiska.
 - P280 — stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.
 - Reagowanie
 - P391 — zebrać wyciek.
 - P332 + P313 — w przypadku wystąpienia podrażnienia skóry: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
 - P305 + P351 + P338 — W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.
 - P301 + P312 — W PRZYPADKU POŁKNIECIA: w przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub z lekarzem.
 - P337 + P313 — w przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.

Dalsze informacje można znaleźć w karcie charakterystyki (SDS) testu BioFire ME Panel:

<https://www.biofiredx.com/e-labeling/IT10067>.

6. Sample Buffer (Bufor próbki) tworzy niebezpieczne związki i opary po zmieszaniu z wybielaczem lub innymi środkami odkażającymi.

OSTRZEŻENIE: Nigdy nie wolno dodawać wybielacza do produktu Sample Buffer (Bufor próbki) ani resztek próbki.

7. Wybielacz, zalecany środek dezynfekujący, ma właściwości żrące i może powodować silne podrażnienie i uszkodzenia skóry oraz oczu. Jego pary i mgiełka mogą podrażniać drogi oddechowe. Wybielacz jest szkodliwy po połknięciu i wdychaniu. Zalecane są następujące środki pierwszej pomocy.
 - Kontakt z oczami: Przytrzymując otwarte oko, płukać wodą przez 15–20 minut. Jeśli poszkodowany ma soczewki kontaktowe, zdjąć je po 5 minutach płukania i kontynuować płukanie. Zasięgnąć porady lekarskiej.
 - Kontakt ze skórą: Natychmiast rozpocząć płukanie dużą ilością wody i prowadzić je przez co najmniej 15 minut. Jeśli dojdzie do podrażnień, zasięgnąć porady lekarskiej.
 - Połknięcie: Nie wywoływać wymiotów. Wypić szklankę wody. Jeśli dojdzie do podrażnień, zasięgnąć porady lekarskiej.
 - Dalsze informacje można znaleźć w odpowiedniej karcie charakterystyki.

Środki ostrożności dotyczące laboratorium

1. Zapobieganie zanieczyszczeniu mikrobiologicznemu

W związku z wysoką czułością testu BioFire ME Panel ważna jest ochrona próbki oraz obszaru roboczego przed zanieczyszczeniem poprzez staranne przeprowadzenie procedury testu zgodnie z wytycznymi w niniejszej instrukcji, w tym z poniższymi zaleceniami:

- Personel laboratoryjny może być bezobjawowym nosicielem i rozprzestrzeniać powszechne patogeny (np. *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, HSV-1 itp.), nieświadomie zanieczyszczając próbki podczas ich pobierania, transportowania lub oznaczania. Zaleca się staranne przestrzeganie procedur oraz środków ostrożności dotyczących obchodzenia się z próbkami i ich oznaczania, opisanych w niniejszym dokumencie, w celu zminimalizowania ryzyka zanieczyszczenia, które może doprowadzić do uzyskania błędnych wyników. Środki ostrożności mogą obejmować dodatkowe środki ochrony indywidualnej, takie jak maska twarzowa w sytuacji występowania objawów przedmiotowych lub podmiotowych zakażenia układu oddechowego lub przeziębienia.
- Próbkę należy przetwarzać w czystej komorze bezpieczeństwa biologicznego, jeśli jest dostępna, lub zgodnie z wytycznymi danego laboratorium. Jeśli nie stosuje się komory bezpieczeństwa biologicznego, należy przygotowywać próbki pod wyciągiem (takim jak stacja robocza AirClean PCR), w osłonie przeciwbryzgowej (np. Bel-Art Scienceware Splash Shields) lub osłonie twarzy.
- Komory zapewniające bezpieczeństwo biologiczne używanej do przeprowadzania testów patogenów w płynie mózgowo-rdzeniowym (OUN) (np. prowadzenia hodowli) nie należy używać do przygotowywania próbki ani ładowania saszetek.
- Przed przystąpieniem do pracy z próbkami należy dokładnie oczyścić obszar roboczy i stację Pouch Loading Station (Stacja ładowania saszetek) BioFire, korzystając z odpowiedniego środka czyszczącego, np. świeżo przygotowanego 10-procentowego roztworu wybielacza lub podobnego środka odkażającego. Aby uniknąć nagromadzenia pozostałości i potencjalnego zniszczenia próbki lub zakłóceń ze strony środków odkażających, zdezynfekowane powierzchnie należy przetrzeć wodą.
- Można pracować z jedną próbką i jedną saszetką jednocześnie. Między przygotowaniem poszczególnych próbek i saszetek należy zawsze zmieniać rękawiczki i czyścić miejsce pracy.
- Na czas wyjmowania ampułek Sample Buffer (Buforu próbki) i Sample/Hydration Injection Vials (Strzykawek z próbką / roztworem uwadniającym) z większych opakowań należy zakładać czyste rękawiczki. Gdy opakowania te nie są używane, muszą pozostawać szczelnie zamknięte.

2. Zapobieganie zanieczyszczeniu amplikonem

Częstym problemem w przypadku oznaczeń z wykorzystaniem metody PCR są wyniki fałszywie dodatnie spowodowane zanieczyszczeniem obszaru roboczego amplikonem PCR. Ponieważ saszетка BioFire ME to układ zamknięty, ryzyko zanieczyszczenia amplikonem jest niskie, o ile saszетка pozostanie nienaruszona po zakończeniu testu. W celu zapobieżenia zanieczyszczeniu amplikonem należy postępować zgodnie z następującymi wytycznymi:

- Zużyte saszетки należy wyrzucać do odpowiedniego pojemnika na materiały stanowiące zagrożenie biologiczne bezpośrednio po zakończeniu cyklu.
- Unikać nadmiernej manipulacji saszetkami po zakończeniu cyklu.
- Po pracy ze użytą saszetką należy zmienić rękawiczki.
- Nie narażać saszetek na kontakt z ostrymi krawędziami lub przedmiotami, które mogą spowodować nakłucie.

OSTRZEŻENIE: W razie zaobserwowania obecności płynu na zewnątrz saszetki płyn i saszetkę należy niezwłocznie odizolować i wyrzucić do pojemnika na materiały stanowiące zagrożenie biologiczne. Moduł urządzenia i obszar roboczy należy odkażić w sposób opisany w odpowiednim podręczniku operatora systemu BioFire.

NIE PRZEPROWADZAĆ DALSZYCH OZNACZEŃ DO MOMENTU ODKAŻENIA OBSZARU.

Przestroga związana ze zgłaszaniem do organów ds. zdrowia publicznego w USA

Lokalne, wojewódzkie i ogólnokrajowe przepisy dotyczące powiadamiania o przypadkach chorób podlegających obowiązkowi zgłoszenia są stale aktualizowane i obejmują szereg drobnoustrojów, w przypadku których konieczny jest nadzór i badania epidemiologiczne.^{76,77} Ponadto amerykańska agencja Centers for Disease Control (CDC) zaleca, aby w razie wykrycia, za pomocą testu diagnostycznego niezależnego od hodowli (CIDT), patogenów powodujących choroby podlegające obowiązkowi zgłoszenia, laboratorium ułatwiło uzyskanie izolatu lub materiałów klinicznych celem przedłożenia właściwemu laboratorium ds. zdrowia publicznego, aby pomóc w wykryciu ogniska choroby i badaniach epidemiologicznych. Laboratoria odpowiadają za przestrzeganie przepisów wojewódzkich i/lub lokalnych, w związku z czym powinny skontaktować się z lokalnymi i/lub wojewódzkimi laboratoriami ds. zdrowia publicznego celem uzyskania izolatu i/lub wytycznych dotyczących przedłożenia próbki klinicznej.

Środki ostrożności związane z rozporządzeniem REACH (WE 1907/2006)

Poniższe ma zastosowanie wyłącznie do krajów Unii Europejskiej (UE) w odniesieniu do rozporządzenia w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń w zakresie chemikaliów (REACH) (WE 1907/2006):

Zaleca się, aby wszystkie odpady z badania, w tym materiał używany do usuwania wycieków, zanieczyszczone opakowania i/lub niezużyte i przeterminowane testy IVD, zostały spalone. Należy przestrzegać lokalnych przepisów dotyczących utylizacji odpadów.

PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ ODCZYNNIKÓW ORAZ POSTĘPOWANIE Z NIMI

1. Zestaw testu, w tym saszetki z odczynnikami i bufony, należy przechowywać w temperaturze pokojowej (15–25°C). **NIE SCHŁADZAĆ.**
2. Unikać przechowywania materiałów w pobliżu grzejników lub wentylacji albo w warunkach bezpośredniego nasłonecznienia.
3. Wszystkie elementy zestawu należy przechowywać i stosować łącznie. Nie używać elementów jednego zestawu ze składnikami innego zestawu. Po zużyciu wszystkich saszetek należy zutylizować wszelkie pozostałe elementy zestawu.
4. Nie wyjmować saszetek z opakowania do momentu uzyskania gotowości do zbadania próbki. Po otwarciu opakowania saszetki należy jak najszybciej umieścić w niej próbkę (w ciągu około 30 minut).
5. Po umieszczeniu próbki w saszetce należy jak najszybciej uruchomić cykl (w ciągu około 60 minut). Nie wystawiać pełnej saszetki na działanie temperatury powyżej 40°C (104°F) przed wykonaniem testu.

WYMAGANIA DOTYCZĄCE PRÓBK

W tej części opisano wymagania dotyczące pobierania i przygotowania próbek oraz postępowania z nimi w sposób zapewniający uzyskanie precyzyjnych wyników.

Pobieranie próbek płynu mózgowo-rdzeniowego	Próbki płynu mózgowo-rdzeniowego należy pobierać w drodze nakłucia lędźwiowego. Próbek tych nie należy wirować, rozcieńczać ani przetwarzać w jakikolwiek inny sposób przed wykonaniem testu.
Minimalna objętość próbki	0,2 ml (200 µl) płynu mózgowo-rdzeniowego
Transport i przechowywanie	<p>Próbki należy oznaczyć z użyciem testu BioFire ME Panel tak szybko, jak to tylko możliwe.^a Jeśli konieczne jest przechowywanie, należy stosować następujące warunki:</p> <ul style="list-style-type: none">• Temperatura pokojowa (około 15–25°C) przez maksymalnie jeden dzień• lub w warunkach chłodniczych (około 2–8°C) przez maksymalnie siedem dni.

^a Walidacja wydajności obejmowała ocenę próbek klinicznych, które były zamrożone w temperaturze –70°C lub niższej przez okres maksymalnie 127 dni. Dopuszczalne jest jednak dłuższe przechowywanie zamrożonych próbek. Należy przestrzegać zasad i protokołów walidacji przechowywania próbek w danej instytucji.

PROCEDURA

Należy się zapoznać ze skróconą instrukcją obsługi testu BioFire ME Panel lub odpowiednim podręcznikiem operatora systemu BioFire, aby uzyskać bardziej szczegółowe instrukcje, w tym rysunkowe.

W trakcie pracy z saszetkami i próbkami należy nosić rękawiczki i inne środki ochrony indywidualnej. W danym momencie należy przygotowywać tylko jedną saszetkę BioFire ME Panel. Po umieszczeniu próbki w saszetce należy niezwłocznie przenieść ją do modułu BioFire w celu rozpoczęcia cyklu. Po zakończeniu cyklu saszetkę należy wyrzucić do pojemnika na materiały stanowiące zagrożenie biologiczne.

Etap 1: Przygotowanie saszetki

1. Dokładnie oczyścić miejsce pracy i stację Pouch Loading Station (Stacja ładowania saszetek) BioFire świeżo przygotowanym 10% roztworem wybielacza (lub odpowiedniego środka odkażającego), a następnie przetrzeć wodą.
2. Wyjąć saszetkę z próżniowego opakowania, rozrywając lub przecinając opakowanie zewnętrzne w miejscu nacięcia i otwierając aluminiowy pojemnik.

UWAGA: Można użyć saszetki, jeśli próżniowe zamknięcie opakowania zostało naruszone. Należy podjąć próbę uwodnienia saszetki, wykonując czynności opisane w części Uwadnianie saszetki. Jeśli uwodnienie saszetki się powiedzie, kontynuować cykl. Jeśli uwodnienie saszetki się nie powiedzie, należy wyrzucić saszetkę i użyć nowej w celu zbadania próbki.

3. Sprawdzać datę ważności saszetki. Nie stosować przeterminowanych saszetek.
4. Włożyć saszetkę do stacji Pouch Loading Station (Stacja ładowania saszetek) BioFire, wyrównując czerwoną i niebieską etykietę na saszetce z czerwoną i niebieską strzałką na tej stacji.
5. Zamkniętą czerwoną strzykawką Sample Injection Vial (Strzykawka z próbką) umieścić w czerwonej studzience stacji Pouch Loading Station (Stacja ładowania saszetek) BioFire.
6. Zamkniętą niebieską strzykawką Hydration Injection Vial (Strzykawka z roztworem uwadniającym) umieścić w niebieskiej studzience stacji Pouch Loading Station (Stacja ładowania saszetek) BioFire.

Etap 2: Uwadnianie saszetki

1. Odkręcić strzykawkę Hydration Injection Vial (Strzykawka z roztworem uwadniającym) od niebieskiego korka.
2. Odłączyć strzykawkę Hydration Injection Vial (Strzykawka z roztworem uwadniającym), pozostawiając niebieski korek w studzience stacji Pouch Loading Station (Stacja ładowania saszetek) BioFire.
3. Końcówkę kaniuli strzykawki Hydration Injection Vial (Strzykawka z roztworem uwadniającym) umieścić w porcie uwadniania saszetki znajdującym się bezpośrednio pod niebieską strzałką stacji Pouch Loading Station (Stacja ładowania saszetek).
4. Pewnym, szybkim ruchem wcisnąć mocno, aby przebić uszczelnienie. Da się słyszeć ciche pstryknięcie i opór ustąpi. Odczekać, aż próżnia spowoduje zaciągnięcie prawidłowej ilości roztworu Hydration Solution (Roztwór uwadniający) do saszetki.
 - Jeśli roztwór Hydration Solution (Roztwór uwadniający) nie zostanie automatycznie zaciągnięty do saszetki, należy powtórzyć etap 2, aby sprawdzić, czy plomba portu uwadniania saszetki nie została uszkodzona. Jeśli roztwór Hydration Solution (Roztwór uwadniający) znów nie został zaciągnięty do saszetki, należy wyrzucić saszetkę, wziąć nową i powtórzyć czynności od *etapu 1: Przygotowanie saszetki*.
5. Należy upewnić się, że saszetka została uwodniona.
 - Obrócić etykietę kodu kreskowego do dołu i sprawdzić, czy płyn został wprowadzony do studzienek na odczynnik (znajdujących się w podstawie sztywnej, wykonanej z tworzywa sztucznego części saszetki). Mogą być widoczne małe pęcherzyki powietrza.
 - Jeśli próba uwodnienia saszetki się nie powiedzie (suche odczynniki będą widoczne w postaci białych grudek), należy powtórzyć czynność 2, aby sprawdzić, czy złamano plombę portu lub przygotować nową saszetkę i powtórzyć czynności opisane w punkcie „Przygotowanie saszetki”, poczynawszy od czynności 2.

Etap 3: Przygotowanie mieszaniny próbki

1. Dodać bufor Sample Buffer (Bufor próbki) do strzykawki Sample Injection Vial (Strzykawka z próbką).
 - Przytrzymać ampułkę zawierającą bufor próbki Sample Buffer (Bufor próbki), kierując końcówkę ku górze.

UWAGA: Nie dotykać końcówki ampułki w trakcie pracy, ponieważ może to doprowadzić do zanieczyszczenia.

- Mocno ścisnąć fakturowaną zawleczkę z tworzywa sztucznego, znajdującą się z boku ampułki, do momentu rozszczelnienia.
- Odwrócić ampułkę nad strzykawką Sample Injection Vial (Strzykawka z próbką) z czerwonym korkiem i dozować bufor Sample Buffer (Bufor próbki) poprzez powolne i mocne ściśnięcie, a następnie drugie ściśnięcie.

UWAGA: Nie ścisnąć ampułki wielokrotnie. Spowoduje to pienienie, którego należy unikać.

2. Dokładnie wymieszać próbkę pacjenta.
3. Za pomocą pipety Transfer Pipette (Pipeta transferowa) dołączonej do zestawu testu pobrać próbkę płynu mózgowo-rdzeniowego (CSF) do drugiej kreski (około 0,2 ml) pipety Transfer Pipette (Pipeta transferowa).

4. Dodać próbkę do buforu Sample Buffer (Bufor próbki) znajdującego się w strzykawce Sample Injection Vial (Strzykawka z próbką).
5. Zamknąć szczelnie pokrywkę Sample Injection Vial (Strzykawki z próbką) i wyrzucić Transfer Pipette (Pipetę transferową) do pojemnika na odpady stanowiącego zagrożenie biologiczne.

UWAGA: NIE UŻYWAĆ pipety Transfer Pipette (Pipeta transferowa) do mieszania próbki po dodaniu jej do strzykawki Sample Injection Vial (Strzykawka z próbką).

6. Wyjąć strzykawkę Sample Injection Vial (Strzykawka z próbką) ze stacji Pouch Loading Station (Stacja ładowania saszetek) BioFire i co najmniej trzykrotnie delikatnie ją odwrócić, aby wymieszać zawartość.
7. Ponownie umieścić strzykawkę Sample Injection Vial (Strzykawka z próbką) w czerwonej studzience stacji Pouch Loading Station (Stacja ładowania saszetek) BioFire.

Etap 4: Wprowadzanie mieszaniny próbki

1. Powoli obrócić strzykawkę Sample Injection Vial (Strzykawka z próbką), aby odkręcić ją od czerwonego korka i odczekać 5 sekund, pozostawiając ją na korku.

UWAGA: Odczekanie 5 sekund zmniejsza ryzyko wyciekania i zakażenia próbką.

2. Podnieść strzykawkę Sample Injection Vial (Strzykawka z próbką), pozostawiając czerwony korek w studzience stacji Pouch Loading Station (Stacji ładowania saszetek) BioFire i umieścić końcówkę kaniuli strzykawki Sample Injection Vial (Strzykawka z próbką) w porcie próbki saszetki znajdującym się bezpośrednio pod czerwoną strzałką stacji Pouch Loading Station (Stacja ładowania saszetek).
3. Pewnym, szybkim ruchem wcisnąć mocno, aby przebić uszczelnienie (będzie słyszalne ciche pstryknięcie) i próbka zostanie zassana do saszetki poprzez próżnię.
4. Upewnić się, że próbka została wprowadzona.
 - Obrócić etykietę kodu kreskowego do dołu i sprawdzić, czy płyn został wprowadzony do studzienki na odczytnik obok portu ładowania próbki.
 - Jeśli saszetka nie zaciągnie próbki ze strzykawki Sample Injection Vial (Strzykawka z próbką), należy wyrzucić saszetkę. Przygotować nową saszetkę i powtórzyć czynności opisane w punkcie „Przygotowanie saszetki”.
5. Wyrzucić strzykawkę Sample Injection Vial (Strzykawka z próbką) i Hydration Injection Vial (Strzykawka z roztworem uwadniającym) do odpowiedniego pojemnika na odpady ostre stanowiącego zagrożenie biologiczne.
6. Zapisać identyfikator Sample ID (ID próbki) w przeznaczonym do tego celu miejscu na etykiecie saszetki lub przykleić identyfikator Sample ID (ID próbki) z kodem kreskowym i wyjąć saszetkę ze stacji Pouch Loading Station (Stacja ładowania saszetek) BioFire.

Etap 5: Wykonywanie cyklu saszetki

Oprogramowanie BioFire® FilmArray® wyświetla szczegółowe instrukcje prowadzące operatora przez cały cykl. Krótkie instrukcje dotyczące systemów BioFire 2.0 i BioFire Torch podano poniżej. Bardziej szczegółowe instrukcje zawierają odpowiednie podręczniki operatora urządzeń BioFire System.

BioFire 2.0

1. Upewnić się, że system BioFire (moduł(y) i komputer) jest włączony, a oprogramowanie uruchomione.
2. Postępując zgodnie z instrukcjami wyświetlanymi na ekranie i procedurami opisanymi w podręczniku operatora, umieścić saszetkę w module oraz wprowadzić dane saszetki, próbki i operatora.

Informacje umożliwiające identyfikację saszetki (Lot Number (Numer partii) i Serial Number (Numer seryjny)), Pouch Type (Typ saszetki) i Protocol (Protokół) są wstępnie zaprogramowane w prostokątnym kodzie kreskowym znajdującym się na saszetce BioFire. Dane te zostaną automatycznie wprowadzone po zeskanowaniu kodu kreskowego. Jeśli zeskanowanie kodu kreskowego jest niemożliwe, dane saszetki, takie jak Lot Number (Numer partii), Serial Number (Numer seryjny), Pouch Type (Typ saszetki) oraz Protocol (Protokół) można wprowadzić ręcznie, korzystając z informacji podanych na etykiecie saszetki i wprowadzając je w odpowiednie pola. W celu zredukowania liczby błędów przy wprowadzaniu danych zdecydowanie zaleca się wprowadzanie informacji dotyczących saszetki poprzez zeskanowanie kodu kreskowego.

UWAGA: Przy ręcznym wyborze typu saszetki należy upewnić się, że informacje w polu Pouch Type (Typ saszetki) są zgodne z etykietą saszetki BioFire ME Panel.

3. Wprowadzić identyfikator Sample ID (ID próbki). Identyfikator Sample ID (ID próbki) można wprowadzić ręcznie lub zeskanować go za pomocą czytnika kodów kreskowych, gdy używany jest identyfikator Sample ID (ID próbki) w postaci kodu kreskowego.
4. W razie potrzeby wybrać protokół odpowiedni dla badanego typu próbki z listy rozwijanej Protocol (Protokół) i potwierdzić wybór.
5. Wprowadzić nazwę użytkownika i hasło w polach Name (Nazwa) i Password (Hasło).

UWAGA: Kolor czcionki nazwy użytkownika będzie czerwony do momentu jej rozpoznania przez oprogramowanie.

6. Sprawdzić na ekranie wprowadzone informacje dotyczące cyklu. Jeśli są prawidłowe, wybrać pozycję Start Run (Uruchom cykl).

Po rozpoczęciu cyklu na ekranie wyświetli się lista czynności wykonywanych przez moduł oraz liczba minut pozostałych do zakończenia cyklu.

UWAGA: W pierwszej minucie pracy homogenizator emituje dźwięk o wysokiej częstotliwości.

7. Po zakończeniu cyklu należy wyjąć saszetkę, postępując zgodnie z instrukcjami wyświetlanymi na ekranie, a następnie wyrzucić ją do pojemnika na materiały stanowiące zagrożenie biologiczne.
8. Plik cyklu zostaje automatycznie zapisany w bazie danych oprogramowania BioFire, a raport z testu można wyświetlić, wydrukować i/lub zapisać jako plik PDF.

BioFire Torch

1. Upewnić się, że system BioFire Torch jest włączony.
2. Na ekranie dotykowym wybrać dostępny moduł lub zeskanować czytnikiem kodów kreskowych kod kreskowy na saszetce.

Informacje umożliwiające identyfikację saszetki (Lot Number (Numer partii) i Serial Number (Numer seryjny)), Pouch Type (Typ saszetki) i Protocol (Protokół) są wstępnie zaprogramowane w prostokątnym kodzie kreskowym znajdującym się na saszetce FilmArray. Dane te zostaną automatycznie wprowadzone po zeskanowaniu kodu

kreskowego. Jeśli zeskanowanie kodu kreskowego jest niemożliwe, dane saszetki, takie jak Lot Number (Numer partii), Serial Number (Numer seryjny), Pouch Type (Typ saszetki) oraz Protocol (Protokół) można wprowadzić ręcznie, korzystając z informacji podanych na etykiecie saszetki i wprowadzając je w odpowiednie pola. W celu zredukowania liczby błędów przy wprowadzaniu danych zdecydowanie zaleca się wprowadzanie informacji dotyczących saszetki poprzez zeskanowanie kodu kreskowego.

UWAGA: Przy ręcznym wyborze typu saszetki należy upewnić się, że informacje w polu Pouch Type (Typ saszetki) są zgodne z etykietą saszetki BioFire ME.

3. Wprowadzić identyfikator Sample ID (ID próbki). Identyfikator Sample ID (ID próbki) można wprowadzić ręcznie lub zeskanować go za pomocą czytnika kodów kreskowych, gdy używany jest identyfikator Sample ID (ID próbki) w postaci kodu kreskowego.
4. Włożyć saszetkę do modułu.

Upewnić się, że etykieta mocowania saszetki leży płasko na górze saszetki i nie uległa zagięciu. Po włożeniu saszetki moduł (Module) chwyci ją i wciągnie do komory.

5. W razie potrzeby należy zaznaczyć i/lub potwierdzić protokół z poziomu listy rozwijanej Protocol (Protokół).
6. Wprowadzić nazwę użytkownika i hasło operatora, a następnie wybrać pozycję Next (Dalej).

UWAGA: Kolor czcionki nazwy użytkownika będzie czerwony do momentu jej rozpoznania przez oprogramowanie.

7. Sprawdzić na ekranie wprowadzone informacje dotyczące cyklu. Jeśli są prawidłowe, wybrać pozycję Start Run (Uruchom cykl).

Po rozpoczęciu cyklu na ekranie wyświetli się lista czynności wykonywanych przez moduł oraz liczba minut pozostałych do zakończenia cyklu.

UWAGA: W pierwszej minucie pracy homogenizator emituje dźwięk o wysokiej częstotliwości.

8. Po zakończeniu cyklu należy wyjąć częściowo wysuniętą saszetkę i natychmiast wyrzucić ją do pojemnika na odpady stanowiące zagrożenie biologiczne.
9. Plik cyklu zostaje automatycznie zapisany w bazie danych oprogramowania BioFire, a raport z testu można wyświetlić, wydrukować i/lub zapisać jako plik PDF.

KONTROLA JAKOŚCI

Process Controls (Kontrole procesowe)

Każda saszetka zawiera zintegrowane dwie kontrole procesowe:

1. **Procedura RNA Process Control (Kontrola procesowa RNA)**

Sekwencją docelową dla oznaczenia RNA Process Control (Kontrola procesowa RNA) jest transkrypt RNA z drożdżaków *Schizosaccharomyces pombe*. Drożdżaki znajdują się w saszetce w postaci liofilizowanej. Ich uwodnienie następuje podczas wprowadzania próbki. Materiał kontrolny przechodzi wszystkie etapy procesu testu, w tym lizę, oczyszczanie kwasu nukleinowego, odwrotną transkrypcję, reakcję PCR fazy pierwszej, rozcieńczanie, reakcję PCR fazy drugiej oraz denaturację DNA. Dodatni wynik uzyskany dla kontroli wskazuje, że wszystkie etapy przeprowadzone w saszetce FilmArray ME odbyły się prawidłowo.

2. Procedura PCR2 Control (Kontrola PCR2)

Oznaczenie PCR2 Control (Kontrola PCR2) wykrywa docelowy DNA umieszczony w studzienkach macierzy wraz z odpowiednimi starterami. Wynik dodatni oznacza, że reakcja PCR fazy drugiej przebiegła pomyślnie.

Wyniki obu oznaczeń kontrolnych muszą być dodatnie, aby cykl został uznany za zakończony powodzeniem. W przypadku niepowodzenia badania którejkolwiek kontroli w polu Controls (Kontrola) w raporcie z testu (w prawym górnym rogu) wyświetli się komunikat Failed (Niepowodzenie), a wszystkie wyniki oznaczone zostaną jako Invalid (Nieprawidłowy). Jeśli oznaczenie kontroli zakończy się niepowodzeniem, próbkę należy zbadać ponownie z wykorzystaniem nowej saszetki.

Monitorowanie działania systemu testowego

Oprogramowanie BioFire automatycznie uznaje cykl za nieprawidłowy, jeśli temperatura topnienia (T_m) dla którejkolwiek kontroli, RNA Process Control (Kontrola procesowa RNA) lub PCR2 Control (Kontrola PCR2), przekroczy dopuszczalny zakres: 79,8–83,8 w przypadku kontroli RNA Process Control (Kontrola procesowa RNA) lub 73,7–77,7 w przypadku kontroli PCR2 Control (Kontrola PCR2). Jeśli jest to wymagane przez lokalne, krajowe lub ustalone przez organizację akredytującą wytyczne dotyczące kontroli jakości, użytkownicy mogą monitorować system poprzez wyznaczanie trendu wartości T_m dla oznaczeń kontroli i rejestrowanie go zgodnie ze standardowymi praktykami kontroli jakości w laboratorium.^{78,79} Instrukcje uzyskiwania wartości T_m dla oznaczeń kontroli zawiera odpowiedni podręcznik operatora systemu BioFire. Procedura PCR2 Control (Kontrola PCR2) jest używana w przypadku większości typów saszetek BioFire, zatem może być wykorzystywana do monitorowania systemu w przypadku używania wielu typów saszetek w tym samym systemie BioFire.

Kontrole zewnętrzne

Kontroli zewnętrznych należy używać zgodnie z protokołami procedur laboratoryjnych i wymogami odpowiednich organizacji akredytujących, w przypadkach gdy ma to zastosowanie. Jako zewnętrznych kontroli dodatnich można użyć uprzednio oznaczonych próbek dodatnich lub próbek ujemnych, do których dodano ściśle określone drobnoustroje. W handlu mogą być również dostępne materiały kontrolne od innych producentów, z których należy korzystać zgodnie z załączonymi instrukcjami oraz wymaganiami odpowiednich organizacji akredytujących, jeśli ma to zastosowanie.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Oprogramowanie BioFire automatycznie analizuje i interpretuje wyniki oznaczenia i wyświetla wyniki końcowe w raporcie z testu (przykładowy raport z testu można znaleźć w skróconej instrukcji obsługi testu BioFire ME Panel). Analizy przeprowadzone przez oprogramowanie BioFire i szczegółowe informacje na temat raportu z testu opisano poniżej.

Interpretacja wyników oznaczenia

Po zakończeniu fazy 2. reakcji PCR moduł BioFire Module wykonuje analizę denaturacji DNA produktów reakcji PCR w wysokiej rozdzielczości i mierzy sygnał fluorescencji wygenerowany w poszczególnych studzienkach (dalsze informacje można znaleźć w podręczniku operatora systemu BioFire). Oprogramowanie BioFire wykonuje wówczas kilka analiz i wyświetla ostateczny wynik oznaczenia. Poniżej opisano etapy tych analiz.

Analiza krzywych topnienia. Oprogramowanie BioFire ocenia krzywą topnienia DNA dla każdej studzienki macierzy fazy 2. reakcji PCR w celu ustalenia, czy produkt reakcji PCR był obecny w tej studzience. Jeśli profil denaturacji wskazuje na obecność produktu reakcji PCR, oprogramowanie do analizy oblicza temperaturę topnienia (T_m) krzywej. Wartość temperatury topnienia (T_m) jest następnie porównywana z oczekiwanym zakresem temperatury topnienia (T_m) dla oznaczenia. Jeśli oprogramowanie ustali, że krzywa topnienia jest dodatnia, a wartość T_m przypada w charakterystycznym dla oznaczenia zakresie wartości T_m , krzywa nazywana jest krzywą dodatnią. Jeśli oprogramowanie ustali, że krzywa

topnienia jest ujemna lub wartość T_m nie przypada w odpowiednim zakresie wartości T_m , krzywa nazywana jest krzywą ujemną.

Analiza powtórzeń. Po zidentyfikowaniu krzywych denaturacji oprogramowanie ocenia trzy powtórzenia dla każdego oznaczenia, aby ustalić jego wynik. Aby wynik oznaczenia można było uznać za dodatni, co najmniej dwie z trzech krzywych topnienia muszą zostać uznane za dodatnie, a także wartość T_m dla co najmniej dwóch z trzech dodatnich krzywych topnienia musi być podobna ($\pm 1^\circ\text{C}$). Wyniki oznaczeń, które nie spełniają tych kryteriów, uznawane są za ujemne.

Interpretacja drobnoustroju

Zgłaszane wyniki testu BioFire ME Panel dla drobnoustroju (Detected (Wykryto) lub Not Detected (Nie wykryto)) bazują na analizie i interpretacji jednego oznaczenia (większość drobnoustrojów) lub kombinacji dwóch oznaczeń (*Haemophilus influenzae*, wirus opryszczki pospolitej typu 2 oraz wirus ospy wietrznej i półpaśca). W przypadku wyników bazujących na dwóch oznaczeniach wynik Detected (Wykryto) jest zgłaszany, gdy wynik jednego lub obu oznaczeń jest dodatni, natomiast wynik Not Detected (Nie wykryto) jest zgłaszany tylko wtedy, gdy wynik obydwu oznaczeń jest ujemny.

UWAGA: W próbce mogą występować serotypy bakterii *E. coli* inne niż K1. Nie zostaną one wykryte przez test BioFire ME Panel.

UWAGA: Szczepy bezotoczkowe bakterii *Neisseria meningitidis* nie są wykrywane przez test BioFire ME Panel.

UWAGA: Test BioFire ME Panel nie umożliwia rozróżnienia utajonych i czynnych zakażeń wirusami CMV i HHV-6. Wykrycie tych wirusów może oznaczać zakażenie pierwotne, zakażenie wtórne (reaktywację) lub obecność utajonego wirusa. Wyniki testu należy zawsze interpretować w połączeniu z innymi danymi klinicznymi, laboratoryjnymi i epidemiologicznymi.

UWAGA: U pacjentów z podejrzeniem kryptokokowego zapalenia opon mózgowych, u których uzyskano ujemny wynik reakcji PCR w kierunku kryptokoków, na przykład z wykorzystaniem testu BioFire ME Panel, należy wykonać badanie w kierunku CrAg.

Raport z testu BioFire ME Panel

Raport z testu BioFire ME Panel jest automatycznie wyświetlany po zakończeniu cyklu i składa się z trzech części: Run Summary (Podsumowanie cyklu), Result Summary (Podsumowanie wyników) i Run Details (Szczegóły cyklu) (przykładowy raport z testu można znaleźć w skróconej instrukcji obsługi testu BioFire Meningitis/Encephalitis Panel). Raport z testu można zapisać jako plik PDF lub wydrukować.

Część **Run Summary** (Podsumowanie cyklu) raportu z testu zawiera identyfikator Sample ID (ID próbki), datę i godzinę cyklu, wyniki uzyskane dla kontroli i ogólne podsumowanie wyników testu. Każdy drobnoustrój, dla którego uzyskano wynik Detected (Wykryto) jest wymieniony w odpowiednim polu podsumowania. Jeśli dla wszystkich oznaczeń drobnoustrojów uzyskano wynik ujemny, w polu Detected (Wykryto) wyświetlony zostanie komunikat None (Brak). W polu Controls (Kontrole) wyświetlany jest komunikat Passed (Powodzenie), Failed (Niepowodzenie) lub Invalid (Nieprawidłowy). Szczegółowe informacje dotyczące interpretacji kontroli i odpowiedniego postępowania w przypadku analizy kontroli zakończonej niepowodzeniem można znaleźć poniżej w punkcie Pole Controls (Kontrole).

Część **Result Summary** (Podsumowanie wyników) raportu z testu zawiera wynik dla każdego drobnoustroju docelowego przetestowanego za pomocą panelu. Możliwe wyniki dla każdego drobnoustroju to Detected (Wykryto), Not Detected (Nie wykryto) lub Invalid (Nieprawidłowy). Szczegółowe informacje dotyczące interpretacji wyników testu i odpowiedniego postępowania w przypadku uzyskania wyników Invalid (Nieprawidłowy) można znaleźć poniżej w punkcie Results Summary (Podsumowanie wyników).

Część **Run Details** (Szczegóły cyklu) zawiera dodatkowe informacje o cyklu, w tym: pouch information (informacje o saszetce) (type (typ), lot number (numer partii) i serial number (numer seryjny)), Run Status (Status cyklu) (Completed (Zakończony), Incomplete (Niezakończony), Aborted (Przerwany)), Instrument Error (Błąd urządzenia), Instrument Communication Error (Błąd komunikacji z urządzeniem) lub Software Error (Błąd oprogramowania), protokół wykorzystany do przeprowadzenia testu, tożsamość operatora, który przeprowadził test, oraz moduł urządzenia używany do przeprowadzenia testu.

Po zakończeniu cyklu można edytować identyfikator Sample ID (ID próbki). Jeśli informacja ta zostanie zmieniona, do raportu z testu dodana zostanie dodatkowa część — **Change History** (Historia zmian). W części Change History (Historia zmian) znajduje się zmienione pole wraz z zapisem pierwotnym, zapisem zmienionym oraz informacją o operatorze, który wprowadził zmianę, i datą wprowadzenia zmiany. Identyfikator Sample ID (ID próbki) to jedyne pole raportu, które można zmienić.

Pole Controls (Kontrole)

W polu Controls (Kontrole) raportu z testu wyświetlany jest komunikat Passed (Powodzenie), Failed (Niepowodzenie) lub Invalid (Nieprawidłowy). W polu Controls (Kontrole) komunikat Passed (Powodzenie) jest wyświetlany wyłącznie wtedy, gdy cykl zakończy się powodzeniem (bez błędów dotyczących modułu urządzenia lub oprogramowania) i oznaczenie obu kontroli saszetki (RNA Process Control (Kontrola procesowa RNA) i PCR2 Control (Kontrola PCR2)) zakończy się powodzeniem. W polu Controls (Kontrole) jest wyświetlany komunikat Failed (Niepowodzenie), jeśli cykl zakończył się powodzeniem (bez błędów dotyczących modułu urządzenia lub oprogramowania), ale nie powiodło się co najmniej jedno oznaczenie kontroli saszetki. Jeśli wynik kontroli to Failed (Niepowodzenie), wówczas dla wszystkich testów w panelu jako wynik wyświetlany jest komunikat Invalid (Nieprawidłowy) i konieczne jest ponowne zbadanie próbki z wykorzystaniem nowej saszetki.

Tabela 2 zawiera podsumowanie i objaśnienie możliwych wyników kontroli oraz opis działań.

Tabela 2. Interpretacja komunikatu w polu Controls (Kontrole) raportu z testu BioFire ME Panel

Wynik kontroli	Objaśnienie	Wymagane działanie	Rezultat
Passed (Powodzenie)	Cykl został zakończony z powodzeniem ORAZ Analiza obu kontroli saszetki zakończyła się powodzeniem.	Brak	Przekazać wyniki umieszczone w raporcie z testu.
Failed (Niepowodzenie)	Cykl został zakończony z powodzeniem ALE Analiza co najmniej jednej kontroli saszetki, RNA Process Control (Kontrola procesowa RNA) i/lub PCR2 Control (Kontrola PCR2), zakończyła się niepowodzeniem.	Powtórzyć test z wykorzystaniem nowej saszetki.	Zaakceptować wyniki powtórzonego testu. Jeśli błąd wystąpi ponownie, należy skontaktować się z działem pomocy technicznej w celu uzyskania dalszych instrukcji.
Invalid (Nieprawidłowy)	Kontrole są nieprawidłowe, ponieważ cykl nie został zakończony. (zazwyczaj oznacza to błąd oprogramowania lub sprzętu).	Zanotować kody błędów wyświetlone w trakcie cyklu i komunikaty w polu Run Status (Status cyklu) w części Run Details (Szczegóły cyklu) raportu. Dalsze instrukcje można znaleźć w odpowiednim podręczniku operatora urządzenia FilmArray lub uzyskać, kontaktując się z działem pomocy technicznej. Po skorygowaniu błędu należy powtórzyć test lub powtórzyć test z wykorzystaniem innego urządzenia/modułu.	Zaakceptować prawidłowe wyniki powtórzonego testu. Jeśli błąd wystąpi ponownie, należy skontaktować się z działem pomocy technicznej w celu uzyskania dalszych instrukcji.

Result Summary (Podsumowanie wyników)

W części Result Summary (Podsumowanie wyników) znajduje się kompletna lista wyników testu. Możliwe wyniki dla każdego drobnoustroju to Detected (Wykryto), Not Detected (Nie wykryto) i Invalid (Nieprawidłowy). Tabela 3 zawiera objaśnienie poszczególnych interpretacji i działań niezbędnych do uzyskania ostatecznego wyniku.

Tabela 3. Raportowanie wyników i wymagane działania

Wynik	Objaśnienie	Działania
Detected (Wykryto)	<p>Cykl został zakończony z powodzeniem</p> <p>ORAZ</p> <p>Analiza obu kontroli saszetki zakończyła się powodzeniem (Passed (Powodzenie))</p> <p>ORAZ</p> <p>W interpretowanych oznaczeniach uzyskano wynik dodatni na podstawie następujących wymogów dla co najmniej 2 z 3 powtórzeń oznaczenia:</p> <ul style="list-style-type: none"> – dodatnia krzywa topnienia oraz – wartości Tm danych topnienia nie przekraczają wartości granicznych specyficznych dla oznaczenia oraz – wartości Tm danych topnienia nie różnią się między sobą o więcej niż $\pm 1^{\circ}\text{C}$. 	<p>Wyniki można przekazać.</p> <p>UWAGA: Jeśli wyniki Detected (Wykryto) są zgłaszane dla 2 lub większej liczby rodzajów drobnoustrojów w próbce, zaleca się ponowne przetestowanie próbki, aby potwierdzić ten wynik wskazujący na obecność wielu rodzajów drobnoustrojów.</p>
Not Detected (Nie wykryto)	<p>Cykl został zakończony z powodzeniem</p> <p>ORAZ</p> <p>Analiza obu kontroli saszetki zakończyła się powodzeniem (Passed (Powodzenie))</p> <p>ORAZ</p> <p>W interpretowanych oznaczeniach uzyskano wynik ujemny, czyli nie spełniły one wymogów oznaczenia o wyniku dodatnim, opisanych dla wyniku Detected (Wykryto).</p>	<p>Wyniki można przekazać.</p>
Invalid (Nieprawidłowy)	<p>Cykl nie został zakończony z powodzeniem ze względu na następujące stany: Aborted (Przerwany), Incomplete (Niezakończony), Instrument Communication Error (Błąd komunikacji z urządzeniem), Instrument Error (Błąd urządzenia) lub Software Error (Błąd oprogramowania)</p> <p>LUB</p> <p>Analiza obu kontroli saszetki zakończyła się niepowodzeniem (Failed (Niepowodzenie)).</p>	<p>Instrukcje zawiera Tabela 2, <i>Interpretacja komunikatu w polu Controls (Kontrola) raportu FilmArray</i>.</p>

OGRANICZENIA PROCEDURY

- Wyłącznie do użytku profesjonalnego.
- Lekarz dokonujący oceny stanu pacjenta powinien korzystać z wyników tego testu w połączeniu z historią kliniczną, danymi epidemiologicznymi i innymi dostępnymi danymi.
- Niniejszy test jest testem jakościowym i nie dostarcza informacji o ilości kwasów nukleinowych drobnoustrojów wykrytych w próbce.
- Test BioFire ME Panel jest przeznaczony do stosowania wyłącznie w systemach BioFire 2.0 i BioFire Torch. Wydajność panelu została określona na systemie BioFire FilmArray (nie jest już produkowany ani dystrybuowany), systemie BioFire 2.0 oraz BioFire Torch.
- Próbkę płynu mózgowo-rdzeniowego nie powinny być wirowane, rozcieńczane ani przetwarzane w jakikolwiek inny sposób przed wykonaniem testu.
- Test nie jest przeznaczony do badania próbek pobranych z urządzeń medycznych założonych na stałe (np. do drenażu płynu mózgowo-rdzeniowego).
- Nie określono skuteczności tego testu dla próbek płynu mózgowo-rdzeniowego pobranego od pacjentów bez objawów przedmiotowych i/lub podmiotowych zapalenia opon mózgowych i/lub zapalenia mózgu.
- Skuteczność testu BioFire ME Panel nie została oceniona w odniesieniu do próbek płynu mózgowo-rdzeniowego pobranych od osób podczas antybiotykoterapii.
- Nie ustalono skuteczności testu w monitorowaniu leczenia zakażenia którymkolwiek z drobnoustrojów oznaczanych za pomocą tego panelu.
- Nie określono skuteczności tego testu w odniesieniu do próbek płynu mózgowo-rdzeniowego pobranego od pacjentów o obniżonej odporności.
- Ze względu na niewielką liczbę próbek dodatnich zgromadzonych dla określonych drobnoustrojów w trakcie prospektywnego badania klinicznego skuteczność testu w odniesieniu do HSV-1, HSV-2, ludzkiego parechowirusa, VZV, HHV-6 i *C. neoformans/gattii* ustalono, wykorzystując również próbki zebrane w ramach retrospektywnego badania klinicznego.
- Ze względu na niewielką liczbę próbek dodatnich zgromadzonych dla określonych drobnoustrojów w trakcie prospektywnego i retrospektywnego badania klinicznego skuteczność testu w odniesieniu do bakterii *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus agalactiae*, cytomegalowirusa i ludzkiego parechowirusa ustalono, używając głównie próbek spreparowanych klinicznie.
- Spośród szczepów bakterii *E. coli* w teście BioFire ME Panel wykrywane są wyłącznie te, które mają antygen otoczkowy K1. Wszystkie pozostałe szczepy/serotypy bakterii *E. coli* nie zostaną wykryte.
- Spośród szczepów bakterii *N. meningitidis* w teście BioFire ME Panel wykrywane są wyłącznie szczepy otoczkowe. Szczepy bezotoczkowe bakterii *N. meningitidis* nie zostaną wykryte.
- Dodatnie i ujemne wartości predykcyjne w dużej mierze zależą od rozpowszechnienia. Wyniki fałszywie dodatnie są bardziej prawdopodobne w przypadku analizów o małej częstotliwości występowania.
- U pacjentów z podejrzeniem kryptokokowego zapalenia opon mózgowych, u których uzyskano ujemny wynik reakcji PCR w kierunku kryptokoków, na przykład z wykorzystaniem testu BioFire ME Panel, należy wykonać badanie w kierunku antygenu kryptokokowego (CrAg).

- Ujemny wynik testu BioFire ME Panel nie wyklucza możliwości zakażenia ośrodkowego układu nerwowego (OUN) i nie należy go traktować jako wyłącznej podstawy do postawienia rozpoznania, wdrożenia leczenia czy podejmowania innych decyzji dotyczących postępowania terapeutycznego. Ujemne wyniki mogą zostać uzyskane z kilku powodów, w tym w związku z zakażeniami OUN wywoływanymi przez drobnoustroje niewykrywane w teście BioFire ME Panel.
- Dodatni wyniku testu BioFire ME Panel (wykrycie kwasu nukleinowego drobnoustroju) nie jest równoznaczny z tym, że te drobnoustroje stanowią czynnik zakaźny lub powodujący objawy kliniczne. Kwas nukleinowy wirusów, bakterii lub drożdżaków może się utrzymywać *in vivo* niezależnie od żywotności drobnoustroju i (lub) czynnego zakażenia.
- Przedostawanie się wirusa do płynu mózgowo-rdzeniowego zachodzi często w przypadku półpaśca spowodowanego reaktywacją wirusa VZV. Wykrycie wirusa VZV w płynie mózgowo-rdzeniowym może w takiej sytuacji nie wskazywać na przyczynę choroby ośrodkowego układu nerwowego (OUN).
- Herpeswirusy (CMV, HHV-6, HSV-1, HSV-2 oraz VZV) mogą bytować w formie utajonej, która ulega reaktywacji podczas zakażenia spowodowanego innymi patogenami, w tym czynnikami niewykrywanymi przez test BioFire ME Panel, które mogą powodować zapalenie opon mózgowych / zapalenie mózgu (np. *Mycobacterium tuberculosis* lub HIV). W przypadku wykrycia za pomocą testu BioFire ME Panel herpeswirusy można uznać za prawdopodobną przyczynę zapalenia opon mózgowych / zapalenia mózgu jedynie w odpowiednich okolicznościach klinicznych, po konsultacjach ze specjalistą.
- Nieprzestrzeganie prawidłowych procedur pobierania próbek, obchodzenia się z nimi, a także transportowania, przechowywania lub oznaczania, może wpłynąć na wykrywanie kwasów nukleinowych drobnoustrojów i doprowadzić do uzyskania nieprawidłowych (fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych) wyników.
- Istnieje wiele potencjalnych źródeł lub przyczyn wyników fałszywie dodatnich i/lub fałszywie ujemnych. Wyniki testu BioFire ME Panel należy zawsze interpretować w połączeniu z innymi danymi klinicznymi, epidemiologicznymi i laboratoryjnymi.
- Zanieczyszczenie drobnoustrojami i amplikonem może spowodować uzyskanie błędnych (fałszywie dodatnich) wyników tego testu. Szczególną uwagę należy zwrócić na środki ostrożności dotyczące laboratorium w punkcie Ostrzeżenia i środki ostrożności.
- Wyniki fałszywie dodatnie mogą być spowodowane zanieczyszczeniem próbek lub testu drobnoustrojami rozprzestrzeganymi przez osoby bez objawów czynnego zakażenia. Bakterie *S. pneumoniae* i *H. influenzae* mogą pochodzić z dróg oddechowych zdrowych osób. Wirus HSV-1 może też pochodzić od osób z czynną lub nawracającą opryszczką. W celu zminimalizowania ryzyka uzyskania wyników fałszywie dodatnich w wyniku zanieczyszczenia należy zachować ostrożność podczas pobierania i oznaczania próbek. Szczególną uwagę należy zwrócić na środki ostrożności dotyczące laboratorium w punkcie Ostrzeżenia i środki ostrożności.
- Błędne (fałszywie dodatnie) wyniki mogą być spowodowane nieswoistą amplifikacją lub reaktywnością krzyżową. Drobnoustroje, w przypadku których występuje ryzyko reaktywności krzyżowej z oznaczeniem BioFire ME Panel, wymieniono w części „Specyficzność analityczna”. Możliwa jest również reaktywność krzyżowa z dodatkowymi drobnoustrojami lub wariantami drobnoustrojów, które nie zostały uwzględnione w ocenie skuteczności.
- Oznaczenie w kierunku enterowirusów BioFire ME Panel może wykazywać reaktywność krzyżową z ludzkimi rinowirusami. Ludzkie rinowirusy są pod względem genetycznym bardzo podobne do enterowirusów i mogą pochodzić z dróg oddechowych zdrowych osób lub osób z objawami przedmiotowymi i podmiotowymi zakażenia dróg oddechowych. Jednak rinowirusy rzadko występują w płynie mózgowo-rdzeniowym u ludzi i nie są uważane za czynnik etiologiczny zapalenia opon mózgowych. Należy zachować ostrożność podczas pobierania i testowania próbek, aby zapobiec zanieczyszczeniu rinowirusami.

- Jeśli w próbce wykryte zostaną dwa lub większa liczba rodzajów drobnoustrojów, zaleca się ponowne przeprowadzenie testu w celu potwierdzenia wyniku wskazującego na obecność wielu rodzajów drobnoustrojów.
- Istnieje ryzyko uzyskania fałszywie ujemnych wyników w związku z błędami w pobieraniu, transportowaniu, przechowywaniu lub oznaczaniu próbek, w tym w wyniku pomieszania próbek.
- Gdy stężenie drobnoustrojów w próbce jest mniejsze od granicy wykrywalności urządzenia, mogą wystąpić wyniki fałszywie ujemne. Leczenie przeciwdrobnoustrojowe może wpływać na ilość drobnoustrojów w próbce (zmniejszać ją).
- Istnieje ryzyko uzyskania fałszywie ujemnych wyników w związku z wariantami sekwencji, delecjami lub rearanżacjami w docelowych genach oznaczenia. Warianty sekwencji o znanym wpływie na wykrywanie analitów swoistych dla testu BioFire ME Panel (np. szczep 95/1906 wirusa HSV-1) wskazano w części „Reaktywność analityczna”. Do wpływu na reaktywność i wykrywanie może również dojść w przypadku nowych wariantów, które nie zostały uwzględnione w ocenie skuteczności i/lub zidentyfikowane na podstawie wyszukiwań w bazie danych sekwencji. Identyfikacja i/lub pojawienie się nowych wariantów sekwencji może wpływać na wykrywanie i jest rutynowo monitorowane w ramach programu nadzoru po wprowadzeniu produktu na rynek.
- Istnieje ryzyko uzyskania błędnych wyników na skutek zakłóceń lub inhibicji ze strony substancji lub kwasów nukleinowych znajdujących się w próbce. Substancje i stężenia oceniane pod kątem interferencji wymieniono w części „Zakłócenia”. Możliwe jest również wystąpienie zakłóceń w związku z obecnością substancji / kwasów nukleinowych lub stężeń innych niż opisane w części „Zakłócenia”.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

W prospektywnym badaniu klinicznym mającym na celu ocenę testu BioFire ME Panel pobrano 1560 kwalifikujących się próbek (płyn mózgowo-rdzeniowy pobrany poprzez nakłucie lędźwiowe). Próbki te przetestowano w 11 ośrodkach na terenie Stanów Zjednoczonych w okresie około ośmiu miesięcy (od lutego do września 2014 roku). Liczbę i odsetek wyników dodatnich uzyskanych za pomocą testu BioFire ME Panel przedstawiono według grup wiekowych w poniższej tabeli. Ogółem za pomocą testu BioFire ME Panel wykryto co najmniej jeden drobnoustrój w 136 próbkach objętych badaniem prospektywnym (odsetek wyników dodatnich 8,7%), przy czym w sumie wykryto 141 analitów (w pięciu próbkach stwierdzono ko-detekcję, patrz Tabela 6).

Tabela 4. Podsumowanie wartości oczekiwanych (ustalonych za pomocą testu BioFire ME Panel) według grup wiekowych na potrzeby prospektywnej oceny klinicznej (od lutego do września 2014 r.)

Wynik testu BioFire ME Panel	Razem (n = 1560)	< 2 mies. (n = 299)	2–23 mies. (n = 143)	2–17 lat (n = 197)	18–34 lat (n = 224)	35–64 lat (n = 522)	65+ lat (n = 175)
Bakterie							
<i>E. coli</i> K1	3 (0,2%)	0 (0%)	1 (0,7%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (0,4%)	0 (0%)
<i>H. influenzae</i>	2 (0,1%)	0 (0%)	1 (0,7%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0,2%)	0 (0%)
<i>L. monocytogenes</i>	0 (0,0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>N. meningitidis</i>	0 (0,0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>S. agalactiae</i>	1 (0,1%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0,6%)
<i>S. pneumoniae</i>	16 (1,0%)	2 (0,7%)	2 (1,4%)	2 (1%)	3 (1,3%)	4 (0,8%)	3 (1,7%)
Wirusy							
CMV	6 (0,4%)	4 (1,3%)	0 (0%)	1 (0,5%)	1 (0,4%)	0 (0%)	0 (0%)
EV	51 (3,3%)	31 (10,4%)	5 (3,5%)	11 (5,6%)	4 (1,8%)	0 (0%)	0 (0%)
HSV-1	4 (0,3%)	0 (0%)	2 (1,4%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (0,4%)	0 (0%)
HSV-2	12 (0,8%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0,4%)	8 (1,5%)	3 (1,7%)

Wynik testu BioFire ME Panel	Razem (n = 1560)	< 2 mies. (n = 299)	2–23 mies. (n = 143)	2–17 lat (n = 197)	18–34 lat (n = 224)	35–64 lat (n = 522)	65+ lat (n = 175)
HHV-6	22 (1,4%)	9 (3%)	7 (4,9%)	2 (1%)	3 (1,3%)	1 (0,2%)	0 (0%)
HPeV	12 (0,8%)	12 (4%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
VZV	7 (0,4%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (1,3%)	3 (0,6%)	1 (0,6%)
Drożdżaki							
<i>C. neoformans/gattii</i>	5 (0,3%)	1 (0,3%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0,4%)	2 (0,4%)	1 (0,6%)

Tabela 5. Odsetek wyników dodatnich uzyskanych za pomocą testu BioFire ME Panel w ramach prospektywnej oceny klinicznej; sumaryczny i według grup wiekowych

Razem (n = 1560)	
Wyniki ujemne	1424 (91,3%)
Wyniki dodatnie	136 (8,7%)
Jeden rodzaj drobnoustrojów	131 (8,4%)
Ko-detekcje	5 (0,3%)
Wyniki dodatnie według grup wiekowych	
< 2 mies. (n = 299)	58 (19,4%)
2–23 mies. (n = 143)	17 (11,9%)
2–17 lat (n = 197)	15 (7,6%)
18–34 lat (n = 224)	15 (6,7%)
35–64 lat (n = 522)	23 (4,4%)
65+ lat (n = 175)	8 (4,6%)

W prospektywnej ocenie klinicznej testu BioFire ME Panel zgłoszono łącznie 5 próbek, w których wykryto wiele analitów (tj. zakażenia mieszane). Stanowią one 3,7% (5/136) próbek dodatnich i 0,3% wszystkich przebadanych próbek (5/1560). Wartości oczekiwane dla każdego wyniku testu BioFire ME Panel w przypadku ko-detekcji przedstawiono w poniższej tabeli.

Tabela 6. Wartości oczekiwane w przypadku ko-detekcji (uzyskanych za pomocą testu BioFire ME Panel) w prospektywnej ocenie klinicznej (od lutego do września 2014 r.)

Analit	Prewalencja w przypadku ko-detekcji (n = 5)	
Bakterie		
<i>E. coli</i> K1	0	0%
<i>H. influenzae</i>	0	0%
<i>L. monocytogenes</i>	0	0%
<i>N. meningitidis</i>	0	0%
<i>S. agalactiae</i>	1	20%
<i>S. pneumoniae</i>	2	40%
Wirusy		
CMV	1	20%
EV	1	20%
HSV-1	1	20%
HSV-2	1	20%

Analit	Prewalencja w przypadku ko-detekcji (n = 5)	
HHV-6	1	20%
HPeV	1	20%
VZV	1	20%
Drożdżaki		
<i>C. neoformans/gattii</i>	0	0%

SKUTECZNOŚĆ

W badaniach klinicznych i nieklinicznych ustalono, że skuteczność testu BioFire ME Panel, w tym wartość granicy wykrywalności (patrz część „Granica wykrywalności” poniżej), procentowa zgodność wyników dodatnich i procentowa zgodność wyników ujemnych, jak również odtwarzalność są równoważne w systemach FilmArray i BioFire 2.0. W badaniach nieklinicznych również wykazano podobną skuteczność w systemach BioFire Torch.

UWAGA: Moduły BioFire Torch to urządzenia BioFire 2.0, które powtórnie skonfigurowano w celu utworzenia systemu w układzie pionowym, aby zwiększyć wydajność na ograniczonej przestrzeni.

Skuteczność kliniczna

Skuteczność kliniczną testu BioFire ME Panel określono podczas wieloośrodkowego badania przeprowadzonego w 11 ośrodkach badawczych na terenie Stanów Zjednoczonych, znajdujących się w różnych lokalizacjach geograficznych, w okresie od lutego do września 2014 roku. Próbkę zarejestrowano na potrzeby badania w okresie od lutego do czerwca po pobraniu niezwłocznie zamrożono na potrzeby późniejszych testów w laboratorium, w którym je pozyskano. Na potrzeby prospektywnego badania klinicznego pozyskano łącznie 1643 próbek płynu mózgowo-rdzeniowego, z czego 83 wykluczono. Najczęstszą przyczyną wykluczenia próbek było uznanie, że nie spełniają one kryteriów kwalifikacyjnych po ich rejestracji na potrzeby badania. Końcowy zbiór danych obejmował 1560 próbek, z czego 545 (35%) zamrożono przed wykonaniem testów. Tabela 7 przedstawia podsumowanie danych demograficznych dotyczących 1560 próbek uwzględnionych w badaniu prospektywnym.

Tabela 7. Podsumowanie danych demograficznych na potrzeby prospektywnej oceny klinicznej testu BioFire ME Panel

Próbki w badaniu prospektywnym (%)	
Świeże	1015 (65%)
Zamrożone	545 (35%)
Wszystkie próbki	1560
Płeć	Liczba próbek (%)
Męska	797 (51%)
Żeńska	763 (49%)
Grupa wiekowa	Liczba próbek (%)
< 2 mies.	299 (19%)
2–23 mies.	143 (9%)
2–17 lat	197 (13%)
18–34 lat	224 (14%)
35–64 lat	522 (33%)
65+ lat	175 (11%)

Próbki w badaniu prospektywnym (%)	
Status	Liczba próbek (%)
Pacjenci ambulatoryjni	112 (7%)
Pacjenci hospitalizowani	920 (59%)
Pacjenci oddziału ratunkowego	528 (34%)

Skuteczność testu BioFire ME Panel oceniono, porównując wyniki testu BioFire ME Panel dla każdego elementu testu z odpowiednimi metodami porównawczymi/referencyjnymi przedstawionymi w poniższej tabeli.

Tabela 8. Metody porównawcze użyte do oceny klinicznej testu BioFire ME Panel

Analit FilmArray	Metoda porównawcza	Lokalizacja testu porównawczego
<i>E. coli</i> K1	Posiew bakteriologiczny płynu CSF	Laboratorium, w którym pozyskano próbki
<i>H. influenzae</i>		
<i>L. monocytogenes</i>		
<i>N. meningitidis</i>		
<i>S. agalactiae</i>		
<i>S. pneumoniae</i>		
CMV	Dwa oznaczenia PCR z dwukierunkowym potwierdzeniem sekwencji ^a	Laboratorium BioFire
EV		
HSV-1		
HSV-2		
HHV-6		
HPeV		
VZV		
<i>C. neoformans/gattii</i>		

^a Wszystkie oznaczenia były ukierunkowane na inne sekwencje kwasu nukleinowego niż sekwencje identyfikowane przez test BioFire ME Panel.

W badaniu oceniono łącznie 1560 próbek. Czulość kliniczną, inaczej procentową zgodność wyników dodatnich (ang. positive percent agreement, PPA), obliczono według wzoru $100\% \times (TP / (TP + FN))$. Wyniki prawdziwie dodatnie (TP) wskazują, że zarówno w teście BioFire ME Panel, jak i metodzie referencyjnej/porównawczej uzyskano wynik dodatni dla określonego analitu, natomiast wyniki fałszywie ujemne (FN) wskazują, że wynik testu FilmArray był ujemny, natomiast wynik uzyskany za pomocą metody porównawczej był dodatni. Specyficzność, inaczej procentową zgodność wyników ujemnych (ang. negative percent agreement, NPA), obliczono według wzoru $100\% \times (TN / (TN + FP))$. Wyniki prawdziwie ujemne (TN) wskazują, że zarówno w teście BioFire ME Panel, jak i metodzie referencyjnej/porównawczej uzyskano wynik ujemny, natomiast wyniki fałszywie dodatnie (FP) wskazują, że wynik testu BioFire ME Panel był dodatni, natomiast wynik uzyskany za pomocą metody porównawczej był ujemny. Obliczono dwustronne przedziały ufności 95%.

Tabela 9. Podsumowanie prospektywnego badania skuteczności klinicznej testu FilmArray ME^a

Analit		Czułość (w porównaniu do hodowli)			Specyficzność (w porównaniu do hodowli)		
		TP / (TP + FN)	%	95% CI	TN / (TN + FP)	%	95% CI
Bakterie							
E. coli K1	Świeże	1/1	100	—	1014/1014	100	99,6–100
	Zamrożone	1/1	100	—	543/544	99,8	99,0–100
	Razem	2/2	100	34,2–100	1557/1558 ^{b,c}	99,9	99,6–100
H. influenzae	Świeże	1/1	100	—	1013/1014	99,9	99,4–100
	Zamrożone	0/0	—	—	545/545	100	99,3–100
	Razem	1/1	100	—	1558/1559 ^d	99,9	99,6–100
L. monocytogenes	Świeże	0/0	—	—	1015/1015	100	99,6–100
	Zamrożone	0/0	—	—	545/545	100	99,3–100
	Razem	0/0	—	—	1560/1560	100	99,8–100
N. meningitidis	Świeże	0/0	—	—	1015/1015	100	99,6–100
	Zamrożone	0/0	—	—	545/545	100	99,3–100
	Razem	0/0	—	—	1560/1560	100	99,8–100
S. agalactiae	Świeże	0/1	0,0	—	1013/1014	99,9	99,4–100
	Zamrożone	0/0	—	—	545/545	100	99,3–100
	Razem	0/1 ^e	0,0	—	1558/1559 ^e	99,9	99,6–100
S. pneumoniae	Świeże	2/2	100	34,2–100	1008/1013	99,5	98,8–99,8
	Zamrożone	2/2	100	34,2–100	536/543	98,7	97,4–99,4
	Razem	4/4	100	51,0–100	1544/1556 ^f	99,2	98,7–99,6
Analit		Procentowa zgodność wyników dodatnich (w porównaniu do PCR z dwukierunkowym potwierdzeniem sekwencji)			Procentowa zgodność wyników ujemnych (w porównaniu do PCR z dwukierunkowym potwierdzeniem sekwencji)		
		TP / (TP + FN)	%	95% CI	TN / (TN + FP)	%	95% CI
Wirusy							
CMV	Świeże	2/2	100	34,2–100	1010/1013	99,7	99,1–99,9
	Zamrożone	1/1	100	20,7–100	544/544	100	99,3–100
	Razem	3/3	100	43,9–100	1554/1557 ^g	99,8	99,4–99,9
EV	Świeże	43/44	97,7	88,2–99,6	965/971	99,4	98,7–99,7
	Zamrożone	1/2	50,0	—	542/543	99,8	99,0–100
	Razem	44/46 ^h	95,7	85,5–98,8	1507/1514 ^h	99,5	99,0–99,8
HSV-1	Świeże	1/1	100	—	1013/1014	99,9	99,4–100
	Zamrożone	1/1	100	—	543/544	99,8	99,0–100
	Razem	2/2	100	34,2–100	1556/1558 ⁱ	99,9	99,5–100
HSV-2	Świeże	6/6	100	61,0–100	1008/1009	99,9	99,4–100
	Zamrożone	4/4	100	51,0–100	540/541	99,8	99,0–100
	Razem	10/10	100	72,2–100	1548/1550 ^j	99,9	99,5–100
HHV-6	Świeże	13/15	86,7	62,1–96,3	997/1000	99,7	99,1–99,9
	Zamrożone	5/6	83,3	43,6–97,0	535/536	99,8	99,0–100
	Razem	18/21 ^k	85,7	65,4–95,0	1532/1536 ^k	99,7	99,3–99,9
HPeV	Świeże	9/9	100	70,1–100	1003/1006	99,7	99,1–99,9
	Zamrożone	0/0	—	—	545/545	100	99,3–100
	Razem	9/9	100	70,1–100	1548/1551 ^l	99,8	99,4–99,9

Analit		Procentowa zgodność wyników dodatnich (w porównaniu do PCR z dwukierunkowym potwierdzeniem sekwencji)			Procentowa zgodność wyników ujemnych (w porównaniu do PCR z dwukierunkowym potwierdzeniem sekwencji)		
		TP / (TP + FN)	%		TP / (TP + FN)	%	
VZV	Świeże	3/3	100	43,9–100	1010/1012	99,8	99,3–99,9
	Zamrożone	1/1	100	—	543/544	99,8	99,0–100
	Razem	4/4	100	51,0–100	1553/1556^m	99,8	99,4–99,9
Drożdżaki							
C. neoformans/gattii	Świeże	0/0	—	—	1015/1015	100	99,6–100
	Zamrożone	1/1	100	—	540/544	99,3	98,1–99,7
	Razem	1/1	100	—	1555/1559ⁿ	99,7	99,3–99,9

- ^a Miary skuteczności czułość i specyficzność dotyczą wyłącznie oznaczanych bakterii, dla których jako metodę referencyjną zastosowano złoty standard: posiew bakteriologiczny płynu mózgowo-rdzeniowego. Miary skuteczności procentowa zgodność wyników dodatnich i procentowa zgodność wyników ujemnych odnoszą się do wszystkich pozostałych analizów, dla których w charakterze metod porównawczych zastosowano oznaczenia z wykorzystaniem reakcji PCR/sekwencjonowania.
- ^b Próbkę FP była ujemna pod względem bakterii *E. coli* K1 w teście za pomocą niezależnego oznaczenia PCR (ukierunkowanego na region kwasu nukleinowego odmienny od identyfikowanego za pomocą testu BioFire ME Panel). Zapalenie opon mózgowych zostało klinicznie wykluczone u tego pacjenta.
- ^c Dodatkowa próbka pobrana od noworodka: w płynie mózgowo-rdzeniowym wykazano pleocytozę (WBC 3738) i bakterie *E. coli*. Wyniki uzyskane poprzez posiew płynu mózgowo-rdzeniowego oraz za pomocą testu BioFire ME Panel były ujemne, jednak informacje na temat wcześniejszego leczenia antybiotykami były niedostępne, a u pacjenta postawiono kliniczne rozpoznanie zapalenia opon mózgowych.
- ^d Bakterie *H. influenzae* wykryto w jednej próbce FP za pomocą niezależnego oznaczenia PCR, zaobserwowano je również w barwieniu metodą Grama; u pacjenta, od którego pobrano tę próbkę, lekarz zdiagnozował zapalenie opon mózgowych wywołane przez bakterie Gram-ujemne.
- ^e Zgodnie ze zgłoszeniem laboratorium bakterie *S. agalactiae* w próbce FN występowały w bardzo niewielkiej ilości (dwie kolonie). Próbkę FP była ujemna pod względem bakterii *S. agalactiae* w teście przy użyciu niezależnego oznaczenia PCR.
- ^f Bakterie *S. pneumoniae* wykryto w 5 z 12 próbek FP za pomocą niezależnego oznaczenia PCR; dodatkowe informacje dotyczące siedmiu próbek FP z niepotwierdzonym wynikiem wyszczególniono poniżej — patrz Tabela 10.
- ^g Wirus CMV wykryto w 1 z 3 próbek FP za pomocą niezależnego oznaczenia PCR.
- ^h Wirus EV wykryto w 2 z 2 próbek FN za pomocą niezależnego oznaczenia PCR; dla jednej z nich w ponownym teście FilmArray ME uzyskano wynik dodatni. Wirus EV wykryto w 5 z 7 próbek FP za pomocą niezależnego oznaczenia PCR.
- ⁱ Obie próbki FP były ujemne pod względem wirusa HSV-1 w teście za pomocą niezależnego oznaczenia PCR.
- ^j Wirus HSV-2 wykryto w 1 z 2 próbek FP za pomocą niezależnego oznaczenia PCR; u pacjenta, od którego pobrano tę próbkę, lekarz zdiagnozował zapalenie opon mózgowych spowodowane wirusem HSV.
- ^k Wirus HHV-6 wykryto w 2 z 3 próbek FN i 1 z 4 próbek FP za pomocą niezależnego oznaczenia PCR.
- ^l Wirus HPeV wykryto w 1 z 3 próbek FP za pomocą niezależnego oznaczenia PCR; u pacjenta, od którego pobrano tę próbkę, lekarz zdiagnozował zapalenie opon mózgowych spowodowane wirusem HPeV. U obu pacjentów, od których pobrano pozostałe dwie próbki, zdiagnozowano zakażenie wirusem HPeV po jego wykryciu we krwi.
- ^m Wirus VZV wykryto w 1 z 3 próbek FP za pomocą niezależnego oznaczenia PCR; u pacjenta, od którego pobrano tę próbkę, lekarz zdiagnozował półpasiec. Z pozostałych dwóch próbek z wynikami FP jedną pobrano od pacjenta z rozpoznaniem półpasca usznego.
- ⁿ Drożdżaki *C. neoformans/gattii* wykryto w 2 z 4 próbek FP, używając dostępnego w handlu testu antygenowego. Dla jednej próbki FP uzyskano wynik dodatni za pomocą standardowej metody hodowli. Dodatkowe informacje dotyczące skuteczności testu BioFire ME Panel w badaniu antygenów kryptokokowych przedstawiono poniżej.

Spośród 12 wyników fałszywie dodatnich pod względem bakterii *S. pneumoniae* siedmiu nie udało się potwierdzić za pomocą niezależnego oznaczenia PCR. Przeprowadzono przegląd danych medycznych pochodzących od pacjentów, od których pobrano te próbki, a jego rezultaty podsumowano poniżej — patrz Tabela 10. U żadnego z tych pacjentów nie potwierdzono bakteryjnego zapalenia opon mózgowych / zapalenia mózgu. Nie ustalono przyczyny tych wyników fałszywie dodatnich.

Tabela 10. Kliniczna charakterystyka pacjentów, u których uzyskano niepotwierdzone, fałszywie dodatnie wyniki pod względem bakterii *S. pneumoniae*

Wiek pacjenta	WBC w płynie CSF	Wynik testu FilmArray	Metoda porównawcza: hodowla/badanie PCR ^a	Diagnoza podana w dokumentacji medycznej
< 2 mies.	3	Dodatni	Ujemny/Ujemny	Zakażenie nie dotyczące OUN (posiew moczu: <i>S. agalactiae</i>)
65+	2	Dodatni	Ujemny/Ujemny	<i>Nieustalona</i>
2–17	0	Dodatni	Ujemny/Ujemny	Zakażenie nie dotyczące OUN (zapalenie grudek chłonnych mieszków włosowych)
< 2 mies.	3	Dodatni	Ujemny/Ujemny	Zakażenie nie dotyczące OUN (wirus paragrypy)
18–34	1	Dodatni	Ujemny/Ujemny	Choroba OUN, niezakaźna (padaczka)
35–64	1	Dodatni	Ujemny/Ujemny	Zakażenie nie dotyczące OUN (zapalenie wątroby typu B), szpiczak mnogi
18–34	1	Dodatni	Ujemny/Ujemny	Zakażenie nie dotyczące OUN (samoistne porażenie nerwu twarzowego)

^a Była to taka sama reakcja PCR, jak opisana w przypisie f do Tabela 9.

Metodą porównawczą użytą do oceny skuteczności testu BioFire ME Panel w wykrywaniu drożdżaków *C. neoformans/gattii* była reakcja PCR z dwukierunkowym potwierdzeniem sekwencji. Skuteczność testu FilmArray Panel w wykrywaniu drożdżaków *Cryptococcus* obliczono także w porównaniu z testami ukierunkowanymi na drożdżaki *Cryptococcus*, które przeprowadzono w laboratorium po zleceniu przez lekarza testu dla podgrupy badanych pacjentów. Tabela 11 przedstawia skuteczność testu BioFire ME Panel, po uwzględnieniu dostępnych danych, w porównaniu do badania antygenów kryptokokowych (N = 196), standardowego posiewu (N = 1560) oraz posiewu grzybów (N = 23). Godny uwagi jest fakt, że wyniki dla siedmiu z ośmiu próbek CrAg-dodatnich były niezgodne z wynikami testu BioFire ME Panel. Wszystkie siedem próbek było ujemnych pod względem drożdżaków *Cryptococcus* w obydwu oznaczeniach porównawczych wykorzystujących metodę PCR. Na podstawie przeglądu danych medycznych uzyskano informację, że wszyscy pacjenci w czasie pobrania próbek byli poddawani terapii przeciwgrzybiczej w celu leczenia kryptokokowego zapalenia opon mózgowych lub kryptokokozji i/lub występowało u nich wcześniej zakażenie drożdżakami *Cryptococcus*. Z tego względu dodatnie wyniki pod względem antygeny u tych pacjentów, przy jednoczesnym wyniku ujemnym reakcji PCR i detekcji drobnoustrojów na podstawie hodowli, są prawdopodobnie spowodowane przetrwaniem antygeny, a nie obecnością żywego drobnoustroju.

Tabela 11. Skuteczność testu BioFire ME Panel w oznaczaniu drożdżaków *C. neoformans/gattii* względem metod porównawczych

Metoda porównawcza do oznaczania drożdżaków <i>Cryptococcus</i>	Procentowa zgodność wyników dodatnich			Procentowa zgodność wyników ujemnych		
	TP / (TP + FN)	%	95% CI	TN / (TN + FP)	%	95% CI
Antygen kryptokokowy	1/8 ^a	12,5	2,2–47,1	187/188 ^b	99,5	97,0–99,5
Standardowy posiew	2/3 ^c	66,7	20,8–93,9	1554/1557 ^d	99,8	99,4–99,9
Posiew grzybów	0/0	—	—	22/23 ^e	95,7	79,0–99,2

^a W przypadku siedmiu próbek uzyskano wynik dodatni w teście CrAg przeprowadzonym w ośrodku klinicznym, natomiast wynik ujemny uzyskano dla nich za pomocą standardowej metody posiewu, testu BioFire ME Panel i dwóch oznaczeń porównawczych. Wszystkich siedmiu pacjentów, od których pobrano te próbki, było poddawanych leczeniu przeciwgrzybicznemu przed wykonaniem nakłucia lędźwiowego i/lub przebyło wcześniej zakażenie drożdżakami *Cryptococcus*. Dla ósmej próbki uzyskano wynik dodatni w oznaczeniu CrAg, teście BioFire ME Panel i standardowej metodzie posiewu.

^b Drożdżaki *Cryptococcus* wykryto w jednej próbce FP za pomocą zestawu testowego CrAg w laboratorium BioFire.

^c Jedna próbka FN okazała się także dodatnia w standardowej metodzie posiewu, a ujemna w teście BioFire ME Panel i dwóch oznaczeniach porównawczych. Laboratorium zgłosiło odtworzenie tylko jednej kolonii.

^d Drożdżaki *Cryptococcus* wykryto w 1 z 3 próbek FP przy użyciu zestawów testowych CrAg w laboratorium BioFire (jest to ta sama próbka FP, co opisana w przypisie b).

^e Jedna próbka FP była ujemna w badaniu standardową metodą posiewu oraz teście CrAg przeprowadzonym w ośrodku klinicznym, a także ujemna w dwóch oznaczeniach porównawczych, natomiast w teście CrAg przeprowadzonym w laboratorium BioFire dla próbki tej uzyskano wynik dodatni (jest to ta sama próbka FP, co opisana w przypisie b).

W teście BioFire ME Panel zgłoszono łącznie 5 próbek, w których wykryto wiele rozróżnialnych drobnoustrojów (0,3% wszystkich próbek, 5/1560; oraz 3,7% próbek dodatnich, 5/136). Każda próbka, w której wykryto wiele analitów, zawierała dwa drobnoustroje, z czego co najmniej jeden nie został wykryty za pomocą metody referencyjnej/porównawczej (tj. każda próbka zawierała co najmniej jeden wynik fałszywie dodatni).

Tabela 12. Kombinacje ko-detekcji uzyskanych za pomocą testu BioFire ME Panel

Ko-detekcja wykrytych drobnoustrojów	Liczba próbek	Anality, których dotyczy rozbieżność (wykryte tylko przez test FilmArray)
CMV + <i>S. pneumoniae</i>	1	CMV
EV + HPeV	1	EV
HSV-1 + HHV-6	1	HSV-1
HSV-2 + <i>S. agalactiae</i>	1	<i>S. agalactiae</i>
<i>S. pneumoniae</i> + VZV	1	<i>S. pneumoniae</i> , VZV

Łączny wskaźnik powodzenia w przypadku testu BioFire ME Panel w pierwszej analizie tych próbek wyniósł 98,9% (1560/1577); 17 testów się nie powiodło (11 z powodu nieukończenia testu, a sześć z powodu niepowodzenia kontroli). Nie zaobserwowano nieszczelności saszetek.

Badanie wstępnie wybranych próbek archiwalnych

Niektóre anality nie występowały w próbkach objętych prospektywnym badaniem klinicznym, bądź też charakteryzowały się niską prevalencją. W celu uzupełnienia wyników prospektywnego badania klinicznego przeprowadzono ocenę 235 wstępnie wybranych próbek archiwalnych (z czego 25 było ujemnych). Były to archiwalne próbki kliniczne, wybrane ze względu na uzyskany we wcześniejszych testach wynik dodatni pod względem jednego z następujących analitów: *Cryptococcus*, CMV, *E. coli*, *H. influenzae*, HSV-1, HSV-2, HHV-6, HPeV, *L. monocytogenes*, *N. meningitidis*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae* lub VZV; bądź też wynik ujemny uzyskany we wcześniejszych testach laboratoryjnych. Przed zbadaniem za pomocą testu BioFire ME Panel obecność (lub nieobecność) oczekiwanych analitów zweryfikowano w każdej próbce, używając potwierdzającego testu molekularnego (np. metody PCR z dwukierunkowym potwierdzeniem sekwencji). Spośród 210 próbek dodatnich wynik historyczny potwierdzono metodą porównawczą w przypadku 150 (150/210; 71,4%); do obliczeń wartości PPA użyto tylko próbek z potwierdzoną obecnością analitu, natomiast do analizy wartości NPA użyto wszystkich próbek, tak jak to przedstawia Tabela 15.

Próbki podzielono na „panele testowe” i randomizowano w taki sposób, że osoby wykonujące test BioFire ME Panel nie znały oczekiwanego wyniku testu. Podsumowanie dostępnych danych demograficznych dotyczących badanych próbek zawiera Tabela 13, natomiast wyniki testów wykonywanych z użyciem produktu FilmArray ME Panel zawiera Tabela 14.

Tabela 13. Podsumowanie danych demograficznych

Wstępnie wybrane próbki archiwalne	
Wszystkie próbki	235
Płeć	Liczba próbek (%)
Męska	70 (30%)
Żeńska	90 (38%)
Nieznana	75 (32%)
Grupa wiekowa	Liczba próbek (%)
< 2 mies.	5 (2%)
2–23 mies.	19 (8%)
2–17 lat	19 (8%)
18–34 lat	33 (14%)
35–64 lat	65 (28%)
65+ lat	26 (11%)
Nieznana	68 (29%)

Tabela 14. Podsumowanie danych dotyczących skuteczności badania próbek archiwalnych za pomocą testu BioFire ME Panel

Analit	Procentowa zgodność wyników dodatnich			Procentowa zgodność wyników ujemnych		
	TP / (TP + FN)	%	95% CI	TN / (TN + FP)	%	95% CI
Bakterie						
<i>E. coli</i> K1	2/2	100	34,2–100	35/35	100	90,1–100
<i>H. influenzae</i>	3/3	100	43,9–100	39/39	100	91–100
<i>L. monocytogenes</i>	1/1	100	—	41/41	100	91,4–100
<i>N. meningitidis</i>	7/7	100	64,6–100	34/34	100	89,8–100
<i>S. agalactiae</i>	2/2	100	34,2–100	40/40	100	91,2–100
<i>S. pneumoniae</i>	17/17	100	81,6–100	21/21	100	84,5–100

Analit	Procentowa zgodność wyników dodatnich			Procentowa zgodność wyników ujemnych		
	TP / (TP + FN)	%	95% CI	TN / (TN + FP)	%	95% CI
Wirusy						
CMV	7/8	87,5	52,9–97,8	181/181	100	97,9–100
HSV-1	16/16	100	80,6–100	156/157	99,4	96,5–99,9
HSV-2	33/34	97,1	85,1–99,5	136/136	100	97,3–100
HHV-6	12/16 ^a	75,0	50,5–89,8	168/168	100	97,8–100
HPeV	2/3	66,7	20,8–93,9	187/187	100	98,0–100
VZV	22/22	100	85,1–100	162/164	98,8	95,7–99,7
Drożdżaki						
<i>C. neoformans/gattii</i>	19/19 ^b	100	83,2–100	171/171	100	97,8–100

^a Dwie próbki poddano sekwencjonowaniu i zidentyfikowano jako zawierające wirusa HHV-6A, natomiast 14 próbek zawierało wirusa HHV-6B. Z czterech próbek FN w teście FilmArray jedną poddano sekwencjonowaniu i zidentyfikowano jako zawierającą wirusa HHV-6A, a pozostałe trzy próbki FN zidentyfikowano jako zawierające wirusa HHV-6B. Uzyskana wartość PPA wyniosła 50% (1/2); 95% CI 9,5–90,5% oraz 79% (11/14); 95% CI 52,4–92,4% odpowiednio dla wirusów HHV-6A i HHV-6B.

^b Jedną próbkę poddano sekwencjonowaniu i zidentyfikowano jako zawierającą drożdżaki *C. gattii*, pozostałe 18 próbek zawierało drożdżaki *C. neoformans*.

Badanie próbek spreparowanych

Kilku analitów, takich jak *Haemophilus influenzae*, nie wykryto zarówno w badaniu prospektywnym, jak i z wykorzystaniem próbek archiwalnych w ilości wystarczającej, aby wykazać skuteczność systemu. Aby uzupełnić dane prospektywne i archiwalne, przeprowadzono ocenę próbek spreparowanych. Próbkę zastępczą przygotowano, używając pozostałości próbek, dla których uzyskano wcześniej wynik ujemny pod względem wszystkich analitów panelu ME Panel w badaniu za pomocą testu FilmArray i metod porównawczych. Do co najmniej 25 próbek na każdy analit dodano ilość analitu wynoszącą $2 \times \text{LoD}$ (granica wykrywalności), a do pozostałych dodano analit w czterech dodatkowych stężeniach, uzyskując istotny klinicznie zakres. W tym celu użyto co najmniej pięciu różnych, oznaczonych ilościowo szczepów każdego drobnoustroju. Próbkę przygotowano i randomizowano wraz z próbkami ujemnymi (bez dodatku analitu) w taki sposób, że status analitu każdej spreparowanej próbki był nieznany osobom analizującym te próbki. Próbkę spreparowaną zamrożono, a następnie rozprowadzono po ośrodkach prowadzących prospektywne badania kliniczne w celu wykonania testów. Wyniki uzyskane za pomocą testu FilmArray przedstawia Tabela 15.

Tabela 15. Skuteczność testu BioFire ME Panel oceniona przy użyciu próbek spreparowanych

Analit	PPA			NPA		
	TP / (TP + FN)	%	95% CI	TN / (TN + FP)	%	95% CI
<i>E. coli</i> K1	47/49 ^a	95,9	86,3–98,9	245/245	100	98,5–100
<i>H. influenzae</i>	50/50	100	92,9–100	243/244	99,6	97,7–99,9
<i>L. monocytogenes</i>	50/50	100	92,9–100	244/244	100	98,5–100
<i>N. meningitidis</i>	75/75	100	95,1–100	219/219	100	98,3–100
<i>S. agalactiae</i>	48/50 ^b	96,0	86,5–98,9	244/244	100	98,5–100
CMV	47/49 ^c	95,9	86,3–98,9	245/245	100	98,5–100
HHV-6	50/50	100	92,9–100	243/244	99,6	97,7–99,9
HPeV	50/50	100	92,9–100	244/244	100	98,5–100

^a Zaobserwowano jeden wynik fałszywie ujemny dla bakterii *E. coli* K1 w stężeniu $2 \times \text{LoD}$ oraz jeden wynik fałszywie ujemny dla bakterii *E. coli* K1 w stężeniu $0,2 \times \text{LoD}$.

^b Oba wyniki fałszywie ujemne dla bakterii *S. agalactiae* zaobserwowano w stężeniu $0,2 \times \text{LoD}$.

^c Oba wyniki fałszywie ujemne dla wirusa CMV zaobserwowano w stężeniu $0,2 \times \text{LoD}$.

Porównanie kliniczne z użyciem systemu BioFire 2.0

Aby wykazać, że skuteczność testu BioFire ME Panel jest taka sama przy użyciu systemu BioFire 2.0, jak podczas korzystania z systemu FilmArray, przeprowadzono ocenę kombinacji pozostałości próbek płynu mózgowo-rdzeniowego pozbawionych danych identyfikacyjnych oraz spreparowanych próbek płynu mózgowo-rdzeniowego uwzględniających wszystkie 14 analitów objętych testem BioFire ME Panel. Łącznie przetestowano 149 próbek, z czego 21 to próbki kliniczne, a 128 to próbki spreparowane. Każdy analit był reprezentowany co najmniej pięciokrotnie w zestawie próbek. Wszystkie próbki poddano ocenie przy użyciu obu systemów. Wyniki testu FilmArray przedstawia Tabela 16 (wyniki uzyskane przy użyciu systemu BioFire 2.0 podano w liczniku, a wyniki uzyskane przy użyciu systemu FilmArray podano w mianowniku).

Tabela 16. Podsumowanie klinicznego badania porównującego skuteczność testu BioFire ME Panel wykonanego przy użyciu systemu BioFire 2.0 (FA2.0) z wykonanym przy użyciu systemu FilmArray (FA)

Analit		Procentowa zgodność wyników dodatnich			Procentowa zgodność wyników ujemnych		
		FA2.0/FA	%	95% CI	FA2.0/FA	%	95% CI
Bakterie							
<i>E. coli</i> K1	Kliniczne	0/0	—	—	21/21	100%	84,5–100%
	Spreparowane	5/6	83,3%	43,7–97,0%	122/122	100%	97,0–100%
	Razem	5/6	83,3%	43,7–97,0%	143/143	100%	97,4–100%
<i>H. influenzae</i>	Kliniczne	0/0	—	—	21/21	100%	84,5–100%
	Spreparowane	10/10	100%	72,3–100%	118/118	100%	96,9–100%
	Razem	10/10	100%	72,3–100%	139/139	100%	97,3–100%
<i>L. monocytogenes</i>	Kliniczne	0/0	—	—	21/21	100%	84,5–100%
	Spreparowane	5/5	100%	56,6–100%	123/123	100%	97,0–100%
	Razem	5/5	100%	56,6–100%	144/144	100%	97,4–100%
<i>N. meningitidis</i>	Kliniczne	0/0	—	—	21/21	100%	84,5–100%
	Spreparowane	11/11	100%	74,1–100%	117/117	100%	96,8–100%
	Razem	11/11	100%	74,1–100%	138/138	100%	97,3–100%
<i>S. agalactiae</i>	Kliniczne	1/1	100%	20,7–100%	20/20	100%	83,9–100%
	Spreparowane	5/5	100%	56,6–100%	123/123	100%	97,0–100%
	Razem	6/6	100%	61,0–100%	143/143	100%	97,4–100%
<i>S. pneumoniae</i>	Kliniczne	1/1	100%	20,7–100%	20/20	100%	83,9–100%
	Spreparowane	6/7	85,7%	48,7–97,4%	120/121	99,2%	95,5–99,9%
	Razem	7/8	87,5%	52,9–97,8%	140/141	99,3%	96,1–99,9%
Wirusy							
CMV	Kliniczne	1/1	100%	20,7–100%	20/20	100%	83,9–100%
	Spreparowane	5/5	100%	56,6–100%	123/123	100%	97,0–100%
	Razem	6/6	100%	61,0–100%	143/143	100%	97,4–100%
EV	Kliniczne	1/1	100%	20,7–100%	20/20	100%	83,9–100%
	Spreparowane	11/12	91,7%	64,6–98,5%	114/116	98,3%	93,9–99,5%
	Razem	12/13	92,3%	66,7–98,6%	134/136	98,5%	94,8–99,6%
HSV-1	Kliniczne	3/3	100%	43,9–100%	18/18	100%	82,4–100%
	Spreparowane	3/3	100%	43,9–100%	125/125	100%	97,0–100%
	Razem	6/6	100%	61,0–100%	143/143	100%	97,4–100%
HSV-2	Kliniczne	2/2	100%	34,2–100%	19/19	100%	83,2–100%
	Spreparowane	3/3	100%	43,9–100%	125/125	100%	97,0–100%
	Razem	5/5	100%	56,6–100%	144/144	100%	97,4–100%
HHV-6	Kliniczne	3/3	100%	43,9–100%	18/18	100%	82,4–100%
	Spreparowane	9/9	100%	70,1–100%	117/119	98,3%	94,1–99,5%
	Razem	12/12	100%	75,8–100%	135/137	98,5%	94,8–99,6%

Analit		Procentowa zgodność wyników dodatnich			Procentowa zgodność wyników ujemnych		
		FA2.0/FA	%	95% CI	FA2.0/FA	%	95% CI
HPeV	Kliniczne	0/0	—	—	21/21	100%	84,5–100%
	Spreparowane	8/8	100%	67,6–100%	120/120	100%	96,9–100%
	Razem	8/8	100%	67,6–100%	141/141	100%	97,4–100%
VZV	Kliniczne	3/3	100%	43,9–100	18/18	100%	82,4–100%
	Spreparowane	4/4	100%	51,0–100%	124/124	100%	97,0–100%
	Razem	7/7	100%	64,6–100%	142/142	100%	97,4–100%
Drożdżaki							
C. neoformans/gattii	Kliniczne	2/2	100%	34,2–100%	19/19	100%	83,2–100%
	Spreparowane	15/15	100%	79,6–100%	112/113	99,1%	95,2–99,9%
	Razem	17/17	100%	81,6–100%	131/132	99,2%	95,8–99,9%
Zgodność ogólna		117/120	97,5%	92,9–99,2%	1960/1966	99,7%	99,3–99,9%

Wykazano zgodność na poziomie 100% testu BioFire ME Panel w przypadku 18 odrębnych próbek klinicznych. Dodatkowo zaobserwowano także zgodność na poziomie 100% w przypadku dziewięciu z 14 analitów podczas oceny próbek spreparowanych. Zaobserwowano sporadyczne wyniki rozbieżne, co prawdopodobnie było spowodowane różnicami w detekcji wynikającymi z dodania stężenia bliskiego wartości LoD lub nieoczekiwaną detekcją niskich stężeń (poniżej wartości LoD) analitu występującego jako tło w matrycy klinicznej, którą początkowo oznaczono jako ujemną. Łączna wartość PPA dla próbek klinicznych i spreparowanych wyniosła 97,5% z dolną granicą dwustronnego 95% przedziału ufności (95% CI) na poziomie 92,9%, natomiast łączna wartość NPA wyniosła 99,7% z dolną granicą dwustronnego 95% CI na poziomie 99,3%.

Granica wykrywalności

Granice wykrywalności (LoD) analitów oznaczanych za pomocą testu BioFire ME Panel oszacowano, testując roztwory spreparowanych próbek zawierających znane stężenia drobnoustrojów (bakterii, wirusów i drożdżaków). Wartość LoD potwierdzono, testując 20 powtórzeń spreparowanej próbki zawierającej anality w szacowanym dla nich stężeniu LoD. Wartość LoD potwierdzano, gdy drobnoustrój został wykryty w co najmniej 19 z 20 powtórzeń testu (19/20 = 95%). W badaniach potwierdzających wartość LoD uwzględniono również międzynarodowe standardy Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), jeśli były dostępne.

Potwierdzone wartości LoD dla każdego analitu testu BioFire ME Panel oznaczanego w systemach BioFire 2.0 i BioFire Torch zawiera Tabela 17.

UWAGI: W przypadku bakterii i drożdżaków stężenia LoD przedstawiono w jednostkach CFU/ml (na podstawie metody wyliczania na płytkach) lub jako liczbę komórek na ml (oszacowaną na podstawie OD₆₀₀). Jednostka CFU/ml służy do pomiaru żywotnych komórek i może powodować zaniżenie ilości materiału genetycznego (kwasu nukleinowego) obecnego w próbce, szczególnie w przypadku bakterii wymagających lub autolitycznych (np. *N. meningitidis* i *S. pneumoniae*).

W przypadku większości wirusów wartość LoD jest przedstawiana w jednostkach TCID₅₀/ml (TCID = dawka zakaźna dla hodowli komórkowej). Jednostka TCID₅₀/ml nie jest bezpośrednią miarą liczby cząstek lub kwasów nukleinowych wirusów, lecz stanowi pośrednie odzwierciedlenie miana wirusów na podstawie zakaźności i cytotoksyczności. Pomiar wartości TCID₅₀ mogą być wysoce zmienne i są uzależnione od metodyki, techniki i innych parametrów, w tym rodzaju zakażanych komórek, podłoża hodowlanego i warunków hodowli, cytotoksyczności wirusa itp. Nie jest odpowiednie określanie względnej czułości detekcji dla różnych izolatów, typów oraz hodowli i/lub pomiędzy różnymi oznaczeniami molekularnymi na podstawie wartości LoD przedstawionych w jednostkach TCID₅₀/ml.

W przypadku niektórych wirusów i bakterii wartość LoD podano (także) w postaci liczby kopii kwasu nukleinowego/ml określonej na podstawie molekularnej oceny ilościowej za pomocą ilościowego oznaczenia PCR w czasie rzeczywistym (qPCR). Na dokładność stężeń w reakcji qPCR może wpływać wydajność ekstrakcji, dokładność krzywej standardowej, warunki prowadzenia oznaczenia, inhibitory i (lub) sekwencja. Ocena ilościowa z wykorzystaniem reakcji qPCR nie została porównana z materiałem referencyjnym ani innymi metodami oceny ilościowej.

Stężenia międzynarodowych standardów WHO podano w jednostkach międzynarodowych (j.m.) na ml. Jednostki międzynarodowe są określane w prowadzonych wspólnie badaniach na całym świecie, co wskazano w instrukcji obsługi dołączonej do standardu.

Tabela 17. Granica wykrywalności (LoD) dla analitów testu BioFire ME Panel

ME Panel Analit	Badane gatunki/izolat	Stężenie LoD ^a
BAKTERIE		
<i>E. coli</i> K1	<i>E. coli</i> K1, szczep C5 [Bort]; typ O18ac:K1:H7 ATCC 700973	1,0E+03 CFU/ml
<i>H. influenzae</i>	<i>H. influenzae</i> , szczep AMC 36-A-1 [572] typ b, biotyp I ATCC 10211	1,0E+03 CFU/ml
<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i> , szczep 1071/53, typ 4b ATCC 13932	1,0E+03 CFU/ml
<i>N. meningitidis</i>	<i>N. meningitidis</i> , szczep M-1574 [199/W135] ATCC 43744	1,0E+02 CFU/ml (ok. 1,80E+03 kopii/ml)
<i>S. agalactiae</i>	<i>S. agalactiae</i> , szczep typowy, G19, grupa B ATCC 13813	1,0E+03 CFU/ml
<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i> , szczep SV 1, serotyp 1 ATCC 33400	1,0E+02 komórek/ml (ok. 1,50E+03 kopii/ml)
WIRUSY		
CMV	CMV, AD-169 Zeptomatrix 0810003CF	1,0E+02 TCID ₅₀ /ml (4,30E+03 kopii/ml lub j.m./ml ^b)
	CMV, Merlin Międzynarodowy standard WHO (NIBSC 09/162) ^b	
EV^c (Gatunki A-D)	Wirus Cocksackie A6, gatunek A, szczep Gdula ATCC VR-1801	5,0E+01 TCID ₅₀ /ml ^c
	Wirus Cocksackie A9, gatunek B Zeptomatrix 0810017CF	
	Wirus Cocksackie A17, gatunek C, szczep G-12 ATCC VR-1023	
	EV 70, gatunek D, szczep J670/71 ATCC VR-836	
HSV-1	HSV-1, szczep MacIntyre Zeptomatrix 0810005CF ^d	2,5E+02 TCID ₅₀ /ml (1,51E+03 kopii/ml ^d)
HSV-2	HSV-2, szczep MS Zeptomatrix 0810006CF	5,0E+01 TCID ₅₀ /ml (1,29E+03 kopii/ml)

ME Panel Analit	Badane gatunki/izolat	Stężenie LoD ^a
HHV-6	HHV-6A, szczep U1102 NCPV 0003121v	1,0E+04 kopii/ml lub j.m./ml ^b
	HHV-6B, szczep HST NCPV 0006111v	
	HHV-6B, szczep Z-29 Międzynarodowy standard WHO (NIBSC 15/266) ^b	
HPeV	HPeV, typ 3 Zeptomatrix 0810147CF	5,0E+02 TCID ₅₀ /ml
VZV	VZV, szczep Ellen Zeptomatrix 0810171CF	1,0E-01 TCID ₅₀ /ml (1,66E+03 kopii/ml)
DROŹDZAKI		
<i>C. neoformans/gattii</i>	<i>C. neoformans</i> odm. <i>grubii</i> , szczep typowy, H99 [H99JP, NYSD 1649]	1,0E+02 CFU/ml
	ATCC 208821	
	<i>C. gattii</i> , szczep A6MR38, AFLP6C, VGIIc ATCC MYA-4877	

^a Dokładność i odtwarzalność stężeń LoD są uzależnione od dokładności i precyzji metody wykorzystanej do oceny ilościowej materiału badanego.

^b Standardy międzynarodowe zostały wykryte w ≥ 95% powtórzeń testowanych przy wskazanych stężeniach w j.m./ml. Należy pamiętać, że wartość w j.m./ml może nie być równa liczbie kopii genomu na ml.

^c Każdy szczep/serotyp badanych enterowirusów został wykryty w ≥ 95% powtórzeń testowanych przy stężeniu 50 TCID₅₀/ml lub niższym (np. odsetek przypadków wykrycia posiewów izolatów wirusów Coxsackie A9 i Coxsackie A17 wyniósł ≥ 95% przy 5 TCID₅₀/ml). Analiza sekwencji *in silico* pozwala na przewidzenie równoważnej detekcji kwasów nukleinowych pochodzących ze wszystkich szczepów i serotypów enterowirusów (patrz część „Reaktywność analityczna”).

^d Należy pamiętać, że panel molekularny dla wirusa HSV-1 firmy Qnostics (HSV1MQP01) obejmuje szczep wirusa (95) z wariantem sekwencji w obrębie miejsca wiązania starterów wykorzystywanych w oznaczeniu, który nie będzie wiarygodnie wykrywany przy wskazanej wartości LoD w postaci liczby kopii na ml (patrz część „Reaktywność analityczna”).

Reaktywność analityczna (zakres testu)

Reaktywność analityczną (zakres testu) testu BioFire ME Panel oceniono z wykorzystaniem kolekcji izolatów reprezentujących różnorodność analitów oznaczanych za pomocą testu BioFire ME Panel. Wybrano izolaty z różnych obszarów geograficznych w celu odzwierciedlenia istotnych i/lub powszechnie występujących szczepów, serotypów lub innych znanych wariantów. W przypadku każdego izolatu przeprowadzono test i detekcję przy stężeniach zbliżonych (1–3×) do granicy wykrywalności (LoD) lub mieszczących się w zakresie 10× LoD (patrz przypisy). Wykorzystano dane z analizy sekwencji *in silico* w celu przewidzenia reaktywności oznaczenia w odniesieniu do mniej powszechnych szczepów, serotypów, genotypów lub innych wariantów, które nie były testowane.

Podsumowanie reaktywności testu BioFire ME Panel na podstawie połączenia testów i predykcji reaktywności w oparciu o sekwencję zawiera Tabela 18, natomiast w tabelach od Tabela 19 do Tabela 20 wymieniono wszystkie przebadane izolaty. Wskazano ograniczenia w odniesieniu do reaktywności testu BioFire ME Panel, jeśli detekcja była zaburzona przy stężeniu przekraczającym 10× LoD i/lub jeśli zidentyfikowano warianty sekwencji lub delecje, w przypadku których przewiduje się wpływ na detekcję przy stężeniu bliskim LoD.

Tabela 18. Podsumowanie reaktywności analitycznej (zakresu testu) testu BioFire ME Panel oraz predykcji *in silico*

Analit testu BioFire ME Panel	Liczba przebadanych izolatów	Stężenie badane/wykryte ^a	Opis badanych/wykrytych izolatów (patrz Tabela 19 i Tabela 20)	Ograniczenia reaktywności
Bakterie				
<i>E. coli</i> K1	5	od 1,0E+03 do 3,0E+03 CFU/ml	Wiele izolatów <i>E. coli</i> , serotyp K1	Brak

Analit testu BioFire ME Panel	Liczba przebadanych izolatów	Stężenie badane/wykryte ^a	Opis badanych/wykrytych izolatów (patrz Tabela 19 i Tabela 20)	Ograniczenia reaktywności
<i>H. influenzae</i>	9	od 1,0E+03 do 3,0E+03 CFU/ml	Wiele izolatów o nieokreślonym i określonym typie (typy a–f) <i>H. influenzae</i> , w tym genoszczepy <i>quentini</i>	Nie zidentyfikowano ograniczeń detekcji swoistych dla serotypów lub genoszczepów. Jednak w ramach nadzoru po wprowadzeniu produktu do obrotu zidentyfikowano niezbyt częste warianty sekwencji, które w przypadku obecności w szczepie o nieokreślonym typie nie były wykrywane przy stężeniu bliskim LoD (ok. 100-krotne ograniczenie).
<i>L. monocytogenes</i>	6	od 1,0E+03 do 3,0E+03 CFU/ml	Wiele izolatów najpowszechniejszych serotypów (1/2a, 1/2b i 4b) <i>L. monocytogenes</i>	Brak; w analizie <i>in silico</i> określono, że oznaczenie będzie wykazywało reaktywność w odniesieniu do wszystkich ocenianych sekwencji (nie zidentyfikowano ograniczeń w związku z serotypami).
<i>N. meningitidis</i>	7	od 1,0E+02 do 3,0E+02 CFU/ml	Wiele izolatów i serotypów otoczkowych bakterii <i>N. meningitidis</i> (i DNA ze szczepu z wariantem genu <i>ctrA</i>)	Brak; w analizie <i>in silico</i> określono, że oznaczenie będzie wykazywać reaktywność w odniesieniu do wszystkich ocenianych lub przebadanych sekwencji/serotypów (29E, A, B, C, D, H, W, W135, X, Y oraz Z).
<i>S. agalactiae</i>	5	od 1,0E+03 do 3,0E+03 CFU/ml	Wiele izolatów <i>S. agalactiae</i> (<i>Streptococcus</i> , grupa B)	Brak; w analizie <i>in silico</i> określono, że oznaczenie będzie wykazywać reaktywność w odniesieniu do wszystkich ocenianych lub przebadanych sekwencji/serotypów (Ia, Ib, II, III, V, VIII i nieznane).
<i>S. pneumoniae</i>	7	od 1,0E+02 do 3,0E+02 komórek/ml	Wiele izolatów i serotypów bakterii <i>S. pneumoniae</i>	Brak; w analizie <i>in silico</i> określono, że oznaczenie będzie wykazywać reaktywność w odniesieniu do wszystkich ocenianych lub przebadanych sekwencji/serotypów (1–7F, 10, 11A, 12, 14, 19, 19A, 19F, 23, 23F, 29, 35, o nieokreślonym typie i nieznane).
Wirusy				
CMV	5	od 4,3E+03 do 1,3E+04 kopii/ml	Wiele izolatów CMV	Brak
EV	25	od 5,0E+00 do 1,5E+02 TCID ₅₀ /ml	Reprezentatywne izolaty ze wszystkich szczepów (A–D) i kilka serotypów ludzkiego enterowirusa, wirusa Coxsackie i echowirusa	Nie zidentyfikowano ograniczeń detekcji swoistych dla szczepów lub serotypów. W analizie <i>in silico</i> określono, że oznaczenie będzie wykazywało reaktywność w odniesieniu do > 98% ocenianych sekwencji ^b , co odzwierciedla > 100 serotypów ze szczepów A–D (enterowirusy, wirus Coxsackie, echowirusy i poliovirusy).
HSV-1	6	od 1,5E+03 do 4,5E+03 kopii/ml	Wiele izolatów HSV-1	W ramach nadzoru po wprowadzeniu produktu do obrotu zidentyfikowano dwa warianty sekwencji, w przypadku których przewiduje się co najmniej ok. 10-krotny wpływ na detekcję ^c .

Analit testu BioFire ME Panel	Liczba przebadanych izolatów	Stężenie badane/wykryte ^a	Opis badanych/wykrytych izolatów (patrz Tabela 19 i Tabela 20)	Ograniczenia reaktywności
HSV-2	5	od 1,3E+03 do 3,9E+03 kopii/ml	Wiele izolatów HSV-2	Brak
HHV-6	4	od 1,0E+04 do 3,0E+04 kopii/ml	Warianty A i B wirusa HHV-6	Brak
HPeV	6	od 5,0E+02 do 1,5E+03 TCID ₅₀ /ml ^d	Serotypy 1–6 wirusa HPeV	Brak; w analizie <i>in silico</i> określono, że oznaczenie będzie wykazywało reaktywność w odniesieniu do sekwencji odzwierciedlających serotypy 1–8 wirusa HPeV.
VZV	5	od 1,7E+03 do 5,0E+03 kopii/ml	Wiele izolatów VZV	Brak ^e
Drożdżaki				
<i>C. neoformans/gattii</i>	10	od 1,0E+02 do 3,0E+02 CFU/ml	Wiele izolatów różnych serotypów, genotypów i wariantów drożdżaków <i>Cryptococcus neoformans</i> i <i>Cryptococcus gattii</i>	Brak

^a O ile nie wskazano inaczej, wszystkie izolaty wykryto przy stężeniu wynoszącym 1–3× LoD lub niższym.

^b W przypadku sekwencji enterowirusów, które mogą nie zostać wykryte, występuje co najmniej jedno niedopasowanie zasad w kluczowej pozycji wiązania co najmniej jednego startera wykorzystywanego w oznaczeniu. Wszystkie sekwencje z niedopasowaniem zasad odpowiadają mniejszości opisanych sekwencji w przypadku danego serotypu i z tego powodu odzwierciedlają ograniczenie reaktywności wynikające z wariantów sekwencji, a nie ograniczenie reaktywności swoiste dla serotypu.

^c Wykrywanie wariantu wirusa HSV-1 (95/1906; odzwierciedlonego w panelu HSV1MQP01 firmy Qnostics) z niedopasowaniem w miejscu wiązania startera oznaczenia HSV-1 jest zaburzone około 10-krotnie (patrz Tabela 20). Inny wariant wirusa HSV-1 z innym niedopasowaniem w miejscu wiązania startera oznaczenia HSV-1 nie został przebadany, jednak oczekuje się, że będzie skutkował co najmniej 100-krotnym zaburzeniem wykrywania.

^d Serotyp 5 wirusa HPeV został wykryty przy stężeniu 5,0E+03 TCID₅₀/ml (10× LoD), jednak na podstawie analizy sekwencji nie przewiduje się ograniczenia detekcji w przypadku serotypu 5.

^e Na podstawie analizy sekwencji przewiduje się również, że oznaczenie VZV pozwoli na wykrycie szczepu Oka wykorzystywanego w wielu szczepionkach przeciw wirusowi półpaśca (monowalentnych szczepionkach przeciwko VZV oraz szczepionce przeciwko VZV połączonej ze szczepionką przeciwko odrze, śwince i różyczce (MMR)).

Tabela 19. Izolaty bakterii przebadane i wykryte za pomocą testu BioFire ME Panel^a

ID izolatu/źródła	Szczep/serotyp	ID izolatu/źródła	Szczep/serotyp
<i>E. coli</i> K1		<i>S. agalactiae</i>	
ATCC 700973	Serotyp O18ac: K1 :H7	ATCC 13813	Serotyp Ia/c
BEI NR-17666	Serotyp O2: K1 :H4	ATCC 12403	Serotyp III
BEI NR-17674	Serotyp O16: K1 :H-	ATCC BAA-611	Serotyp V
NCTC 9007	Serotyp O9: K1 :H-	Izolat kliniczny (2010)	Serotyp nieznan
NCTC 9045	Serotyp O45: K1 :H10	NCTC 8017	Serotyp nieznan
<i>H. influenzae</i>		<i>N. meningitidis</i>	
ATCC 51907	Typ nieokreślony [szczep Rd [KW20]]	ATCC 43744	Serotyp W135
CCUG 36167	Typ nieokreślony, genoszczep <i>quentini</i>	ATCC 13077	Serotyp A
ATCC 9006	Typ a [szczep AMC 36-A-3]	ATCC 13090	Serotyp B
ATCC 31512	Typ b [szczep Rab]	ATCC 13102	Serotyp C
ATCC 10211	Typ b [biotyp 1]	ATCC 13113	Serotyp D
ATCC 49699	Typ c [szczep C 9007]	ATCC 35561	Serotyp Y
ATCC 9008	Typ d [szczep AMC 36-A-6]	Wariant <i>ctrA</i> DNA	Szczep z wariantem genu <i>ctrA</i> ⁸⁰
ATCC 8142	Typ e [szczep AMC 36-A-7]		

ID izolatu/źródła	Szczep/serotyp	ID izolatu/źródła	Szczep/serotyp
ATCC 700223	Typ f [szczep GA-1264]	S. pneumoniae	
L. monocytogenes		ATCC 33400	Serotyp 1
FSL-J2-020	Typ 1/2a	ATCC BAA-334	Serotyp 4
FSL-C1-056	Typ 1/2a	ATCC BAA-341	Serotyp 5
FSL-J2-064	Typ 1/2b	NCTC 11900	Serotyp 11A
Izolat kliniczny (2009)	Typ 1/2b	ATCC 700672	Serotyp 14
FSL-J1-110	Typ 4b	ATCC 700673	Serotyp 19A
ATCC 13932	Typ 4b	ATCC 49619	Serotyp 19F

^a Wszystkie izolaty wykryto przy stężeniu wynoszącym 3× LoD lub niższym.

Tabela 20. Izolaty wirusów przebadane i wykryte za pomocą testu BioFire ME Panel^a

ID izolatu/źródła	Szczep/serotyp	ID izolatu/źródła	Szczep/serotyp
CMV		HSV-1	
Zeptomatrix 0810003CF	Szczep AD-169	Zeptomatrix 0810005CF	Szczep MacIntyre
ATCC VR-977	Szczep Towne	ATCC VR-733	Szczep F
ATCC VR-1590	Szczep Merlin	ATCC VR-260	Szczep HF
ATCC VR-807	Szczep Davis	ATCC VR-1493	Szczep KOS
NCPV 0302162v	Szczep Toledo	ATCC VR-1778	Znany jako ATCC-2011-1
		Qnostics HSV-1 Molecular Q Panel (HSV1MQP01)	Szczep 95 (95/1906) ^b
EV		HSV-2	
ATCC VR-1801	Wirus Coxsackie A6	Zeptomatrix 0810006CF	Szczep MS
ATCC VR-168	Wirus Coxsackie A10	ATCC VR-734	Szczep G
NCPV 0812071v	Wirus Coxsackie A16	ATCC VR-1779	Znany jako ATCC-2011-2
NCPV 0812215v	Enterowirus 71	NCPV 0406272v	Szczep 131596
Zeptomatrix 0810017CF	Wirus Coxsackie A9	NCPV 0104152v	Szczep HG52
NCPV 0812078v	Wirus Coxsackie B1	HHV-6	
NCPV 0812142v	Wirus Coxsackie B2	NCPV 0003121v	6A — szczep U1102
Zeptomatrix 0810074CF	Wirus Coxsackie B3	NCPV 0006111v	6B — szczep HST
Zeptomatrix 0810075CF	Wirus Coxsackie B4	ATCC VR-1480	6B — szczep SF
Zeptomatrix 0810019CF	Wirus Coxsackie B5	Zeptomatrix 0810072CF	6B — szczep Z29
ATCC VR-33	Echowirus 3	HPeV	
ATCC VR-35	Echowirus 5	Zeptomatrix 0810145CF	Serotyp 1
Zeptomatrix 0810076CF	Echowirus 6	Zeptomatrix 0810146CF	Serotyp 2
Zeptomatrix 0810077CF	Echowirus 9	Zeptomatrix 0810147CF	Serotyp 3
Zeptomatrix 0810023CF	Echowirus 11	Zeptomatrix 0810148CF	Serotyp 4
ATCC VR-44	Echowirus 14	Zeptomatrix 0810149CF	Serotyp 5 ^c
ATCC VR-46	Echowirus 16	Zeptomatrix 0810150CF	Serotyp 6
NCPV 0901047v	Echowirus 18	VZV	
ATCC VR-49	Echowirus 19	Zeptomatrix 0810171CF	Ellen
ATCC VR-1660	Echowirus 30	Zeptomatrix 0810172CF	Izolat A
ATCC VR-1023	Wirus Coxsackie A17	Zeptomatrix 0810173CF	Izolat B
ATCC VR-850	Wirus Coxsackie A21	Zeptomatrix 0810168CF	Szczep 275
ATCC VR-583	Wirus Coxsackie A24	ATCC VR-916	Webster
ATCC VR-836	Enterowirus 70		
Zeptomatrix 0810237CF	Enterowirus 68 (znany jako Rinowirus 87)		

^a O ile nie wskazano inaczej, wszystkie izolaty wykryto przy stężeniu wynoszącym 3× LoD lub niższym.

^b Szczep 95 wirusa HSV-1 (inaczej 95/1906) zawiera wariant sekwencji w miejscu wiązania starterów oznaczenia, co powoduje około 10-krotne zaburzenie detekcji. W ramach nadzoru po wprowadzeniu produktu do obrotu zidentyfikowano w jednej lub większej liczbie próbek klinicznych szczepu 95 wariant sekwencji, a także inny wariant, o niedopasowaniu w bardziej kluczowym miejscu wiązania starterów (który powoduje około 100-krotne zaburzenie detekcji).

^c Serotyp 5 wirusa HPeV został wykryty przy stężeniu 5,0E+03 TCID₅₀/ml (10× LoD). Na podstawie dowodów opartych na sekwencji nie zidentyfikowano ograniczenia reaktywności w przypadku serotypu 5. Wyższe w porównaniu z innymi serotypami stężenie wymagane do wykrycia tego izolatu wynika prawdopodobnie z faktu, że ocena ilościowa posiewów była prowadzona w oparciu o zakaźność (TCID₅₀), a nie stężenie kwasu nukleinowego.

Tabela 21. Izolaty drożdżaków przebadane i wykryte za pomocą testu BioFire ME Panel^a

ID izolatu/źródła	Szczep/serotyp	ID izolatu/źródła	Szczep/serotyp
<i>C. neoformans</i>		<i>C. gattii</i>	
ATCC 32045	Serotyp nieznany szczep typowy, CBS 132	ATCC MYA-4560	Serotyp B szczep WM179, typ VGI
ATCC 208821	Serotyp A, szczep H99 szczep typowy odm. <i>grubii</i>	ATCC MYA-4094	Serotyp B szczep R272, typ VGIIb
ATCC MYA-4564	Serotyp A szczep WM148, typ VNI	ATCC MYA-4877	Serotyp nieznany szczep R38, typ VGIIc
ATCC MYA-4566	Serotyp AD szczep WM628, typ VNIII	ATCC MYA-4562	Serotyp B szczep WM161, typ VGIII
ATCC MYA-4567	Serotyp D szczep WM629, typ VNIV	ATCC MYA-4563	Serotyp C szczep WM779, typ VGIV

^a Wszystkie izolaty wykryto przy stężeniu wynoszącym 3× LoD lub niższym.

Specyficzność analityczna (reaktywność krzyżowa i wyłącność)

Możliwość nieswoistej amplifikacji i nieswoistego wykrywania przez oznaczenia BioFire ME Panel (reaktywność krzyżową) oceniono, testując wysokie stężenia drobnoustrojów objętych panelem (identyfikowanych przez oznaczenia ME Panel) oraz nieobjętych panelem (które nie powinny zostać zidentyfikowane przez oznaczenia ME Panel). Wyboru drobnoustrojów nieobjętych panelem na potrzeby testu dokonano na podstawie kombinacji kilku czynników, w tym (1) pokrewieństwa z gatunkami wykrywanymi za pomocą oznaczenia, (2) istotności klinicznej, (3) prawdopodobieństwa występowania w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz (4) podobieństwa genetycznego do starterów oznaczenia, zgodnie z ustaleniami na drodze analizy *in silico*.

Dodatkowo przeprowadzono analizę *in silico* w celu zidentyfikowania potencjalnych sekwencji lub drobnoustrojów reagujących krzyżowo. W analizie wykazano, że oznaczenia BioFire ME Panel *Haemophilus influenzae* mogą reagować krzyżowo z innymi szczepami bakterii *Haemophilus* (*H. aegyptius*, *H. haemolyticus*, *H. parainfluenzae* i *H. sputorum*) oraz że oznaczenie BioFire ME Panel Enterovirus może wykrywać wiele serotypów blisko powiązanych ludzkich rinowirusów. Zarówno szczepy *Haemophilus*, jak i rinowirusy występują głównie w górnych drogach oddechowych, natomiast są rzadko izolowane z płynu mózgowo-rdzeniowego. W końcu, w analizie sekwencji określono, że oznaczenie BioFire ME Panel wykorzystywane do wykrywania drożdżaków *Cryptococcus neoformans* i *C. gattii* będzie reagować krzyżowo z powiązanymi szczepami drożdżaków *Cryptococcus* (*C. amyloletus*), które nie wywołują zakażeń u ludzi.

Tabela 22 zawiera nieobjęte panelem bakterie, wirusy, grzyby i protisty, które zbadano za pomocą testu BioFire ME Panel. Wszystkie drobnoustroje poddano testom w najwyższym możliwym stężeniu określonym na podstawie stężenia w posiewie (zazwyczaj $\geq 1,0 \times 10^6$ CFU/ml w przypadku bakterii, $\geq 1,0 \times 10^4$ jednostek/ml w przypadku wirusów oraz $\geq 1,0 \times 10^5$ komórek/ml w przypadku grzybów i protistów). Reaktywność krzyżowa ze szczepami *Haemophilus*, rinowirusami i drożdżakami *C. amyloletus* określona w analizie *in silico* została potwierdzona w badaniach (reaktywność krzyżową wskazano pogrubioną czcionką w Tabeli 22). Nie przewidziano ani nie zaobserwowano innych reakcji krzyżowych.

UWAGA: Podczas obchodzenia się z próbkami płynu mózgowo-rdzeniowego należy przestrzegać środków ostrożności, aby uniknąć ich zanieczyszczenia mogącymi reagować krzyżowo drobnoustrojami komensalnymi lub chorobotwórczymi z dróg oddechowych, takimi jak szczepy bakterii *Haemophilus* i rinowirusy.

Tabela 22. Drobnoustroje nieobjęte panelem zbadane za pomocą testu BioFire ME Panel (drobnoustroje reagujące krzyżowo zaznaczono pogrubioną czcionką)

Bakterie Gram-dodatnie	Bakterie Gram-ujemne	Wirusy	
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Adenowirus A12	Rotawirus
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Adenowirus B35	Wirus różyczki
<i>Corynebacterium striatum</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	Adenowirus C2	Wirus zapalenia mózgu St. Louis
<i>Corynebacterium urealyticus</i>	<i>Citrobacter koseri</i>	Adenowirus D20	Wirus zachodniego Nilu
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Cronobacter sakazakii</i>	Adenowirus E4	
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	Adenowirus F41	
<i>Listeria ivanovii</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	Poliomawirus BK	
<i>Listeria innocua</i>	<i>Escherichia coli</i> (szczep inny niż K1)	Koronawirus 229E	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	Koronawirus NL63	Grzyby
<i>Cutibacterium (Propionibacterium) acnes</i>	<i>Escherichia hermanii</i>	Koronawirus OC43	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia vulneris</i>	Dengue virus (typ 2)	<i>Candida albicans</i>
<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	Wirus Epsteina-Barr	<i>Candida krusei</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Haemophilus aegyptius</i>^{a,b}	Wirus zapalenia wątroby typu B (HBV)	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Haemophilus haemolyticus</i>^{a,b}	Wirus zapalenia wątroby typu C (HCV)	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	Ludzki herpeswirus 7	<i>Cryptococcus albidus</i>
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>^{a,c}	Ludzki herpeswirus 8	<i>Cryptococcus amyloletus</i>^e
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Haemophilus sputorum</i>^{a,c}	Ludzki wirus nabytego niedoboru odporności	<i>Cryptococcus laurentii</i>
<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>Klebsiella (Enterobacter) aerogenes</i>	Ludzki rinowirus A1^d	<i>Cryptococcus uniguttulatus</i>
<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ludzki rinowirus A16^d	<i>Filobasidium capsuligenum</i>
<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Morganella morganii</i>	Ludzki rinowirus B3^d	
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> (szczep bezotoczkowy)	Ludzki rinowirus B83^d	
<i>Streptococcus intermedius</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Wirus grypy typu A H1N1	
<i>Streptococcus mitis (tigurinus)</i>	<i>Neisseria lactamica</i>	Wirus grypy typu A H1N1-2009	
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	Wirus grypy typu A H3N2	Protisty patogenne
<i>Streptococcus oralis</i>	<i>Neisseria sicca</i>	Wirus grypy typu B	<i>Naegleria fowleri</i>
<i>Streptococcus pseudopneumoniae</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>	Japoński wirus zapalenia mózgu	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	Poliomawirus JC	
<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Wirus zapalenia mózgu La Crosse	
<i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>Salmonella bongori</i>	Wirus odry	
	<i>Salmonella enterica</i>	Wirus świnki	
	<i>Serratia marcescens</i>	Wirus paragrypy 1	
	<i>Shigella boydii</i>	Wirus paragrypy 2	
	<i>Shigella flexneri</i>	Wirus paragrypy 3	
	<i>Shigella sonnei</i>	Wirus paragrypy 4	
	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Parwowirus B19	
	<i>Treponema pallidum</i>	Syncytialny wirus oddechowy	

^a Drobnoustroj wykrywany w teście BioFire ME Panel jako *Haemophilus influenzae*.

^b *H. aegyptius* i *H. haemolyticus* to szczepy blisko spokrewnione w ramach grupy *H. influenzae* i są zasadniczo opisywane jako bakterie komensalne górnych dróg oddechowych, rzadko izolowane z płynu mózgowo-rdzeniowego. Reaktywność krzyżowa z bakteriami *H. aegyptius* będzie obserwowana przy wszystkich stężeniach równych LoD (> 1,0E+03 CFU/ml) lub większych od tej wartości, natomiast reaktywność krzyżową z bakteriami *H. haemolyticus* stwierdzono przy stężeniach > 1,0E+05 CFU/ml.

^c *H. parainfluenzae* i *H. sputorum* to szczepy blisko spokrewnione w ramach grupy *H. parainfluenzae* i są zasadniczo opisywane jako bakterie komensalne górnych dróg oddechowych, rzadko izolowane z płynu mózgowo-rdzeniowego. Reaktywność krzyżową w przypadku tych szczepów zaobserwowano w stężeniach > 5,0E+06 CFU/ml.

^d Drobnoustroj wykrywany w teście BioFire ME Panel jako enterowirus. Ludzkie rinowirusy to wirusy układu oddechowego rzadko izolowane z płynu mózgowo-rdzeniowego.

^e Drobnoustroj wykrywany w teście BioFire ME Panel jako *Cryptococcus neoformans/gattii*. Drożdżaków *C. amyloletus* nie izoluje się z próbek pobranych od ludzi (normalnym siedliskiem są odchody owadów).

Odtwarzalność

Przeprowadzono badanie odtwarzalności z wykorzystaniem wielu zmiennych w systemie BioFire 2.0 w celu oceny odtwarzalności wyników testu BioFire ME Panel. W badaniu uwzględniono zakres potencjalnych zmian wprowadzanych przez różnych operatorów wykonujących testy z użyciem różnych systemów/modułów, w różnych dniach oraz z użyciem różnych partii saszetek (co najmniej trzech). Badane próbki obejmowały reprezentatywny podzbiór dziewięciu różnych drobnoustrojów (bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych, drożdżaków oraz wirusów DNA i RNA) w trzech różnych stężeniach (ujemnym, słabo dodatnim ($1 \times \text{LoD}$) i umiarkowanie dodatnim ($3 \times \text{LoD}$)). Próbkę obejmującą kilka analitów przebadano w ciągu pięciu różnych dni, uzyskując 90 punktów danych na próbkę.

Podsumowanie wyników (procentową (%) zgodność z oczekiwanym wynikiem lub zgodność pomiędzy powtórzeniami) zawiera Tabela 23. Kolumna „System” odzwierciedla odtwarzalność w ramach jednego laboratorium, natomiast kolumna „Wszystkie systemy” — odtwarzalność pomiędzy laboratoriami.

UWAGA: Odtwarzalność wyników testu BioFire ME Panel w systemie BioFire Torch oceniono w podobnym badaniu, w którym uzyskano równoważne rezultaty (zgodność na poziomie $\geq 95,6\%$ z oczekiwanymi wynikami Detected (Wykryto) i Not Detected (Nie wykryto) dla próbek o stężeniu słabo dodatnim i ujemnym). Równoważną odtwarzalność detekcji zaobserwowano również w badaniu przeprowadzonym z wykorzystaniem oryginalnego systemu FilmArray, który nie jest już produkowany.

Tabela 23. Odtwarzalność wyników testu BioFire ME Panel^a

Wynik testu (badany drobnoustrój/izolat)	Badane stężenie	Oczekiwany wynik	System A	System B	System C	Wszystkie systemy (95% przedział ufności)
BAKTERIE						
<i>E. coli</i> K1 (ATCC 700973)	Umiarkowanie dodatnie $3 \times \text{LoD}$ 3,0E+03 CFU/ml	Detected (Wykryto)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0%–100%)
	Słabo dodatnie $1 \times \text{LoD}$ 1,0E+03 CFU/ml	Detected (Wykryto)	29/30 96,7%	29/30 96,7%	29/30 96,7%	87/90 96,70% (90,6%–99,3%)
	Ujemne (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98,0%–100%)
<i>H. influenzae</i> (ATCC 10211)	Umiarkowanie dodatnie $3 \times \text{LoD}$ 3,0E+03 CFU/ml	Detected (Wykryto)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0%–100%)
	Słabo dodatnie $1 \times \text{LoD}$ 1,0E+03 CFU/ml	Detected (Wykryto)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0%–100%)
	Ujemne (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98,0%–100%)
<i>L. monocytogenes</i> (ATCC 13932)	Umiarkowanie dodatnie $3 \times \text{LoD}$ 3,0E+03 CFU/ml	Detected (Wykryto)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0%–100%)
	Słabo dodatnie $1 \times \text{LoD}$ 1,0E+03 CFU/ml	Detected (Wykryto)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0%–100%)
	Ujemne (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98,0%–100%)

Wynik testu (badany drobnoustrój/izolat)	Badane stężenie	Oczekiwany wynik	System A	System B	System C	Wszystkie systemy (95% przedział ufności)
<i>N. meningitidis</i>	Ujemne (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	120/120 100%	120/120 100%	120/120 100%	360/360 100% (99,0%–100%)
<i>S. agalactiae</i> (ATCC 13813)	Umiarkowanie dodatnie 3× LoD 3,0E+03 CFU/ml	Detected (Wykryto)	29/30 96,7%	30/30 100%	29/30 96,7%	88/90 97,80% (92,2%–99,7%)
	Słabo dodatnie 1× LoD 1,0E+03 CFU/ml	Detected (Wykryto)	29/30 96,7%	29/30 96,7%	30/30 100%	88/90 97,80% (92,2%–99,7%)
	Ujemne (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98,0%–100%)
<i>S. pneumoniae</i>	Ujemne (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	120/120 100%	120/120 100%	120/120 100%	360/360 100% (99,0%–100%)
WIRUSY						
CMV	Ujemne (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	120/120 100%	120/120 100%	120/120 100%	360/360 100% (99,0%–100%)
EV Wirus Coxsackie A9 (Zeptomatrix 0810017CF)	Umiarkowanie dodatnie 3× LoD ^b 1,5E+01 TCID ₅₀ /ml	Detected (Wykryto)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0%–100%)
	Słabo dodatnie 1× LoD ^b 5,0E+00 TCID ₅₀ /ml	Detected (Wykryto)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0%–100%)
	Ujemne (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98,0%–100%)
HSV-1	Ujemne (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	120/120 100%	120/120 100%	120/120 100%	360/360 100% (99,0%–100%)
HSV-2 (Zeptomatrix 0810006CF)	Umiarkowanie dodatnie 3× LoD 1,5E+02 TCID ₅₀ /ml	Detected (Wykryto)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0%–100%)
	Słabo dodatnie 1× LoD 5,0E+01 TCID ₅₀ /ml	Detected (Wykryto)	30/30 100%	30/30 100%	29/30 96,7%	89/90 98,90% (94,0%–100%)
	Ujemne (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98,0%–100%)
HHV-6	Ujemne (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	120/120 100%	120/120 100%	120/120 100%	360/360 100% (99,0%–100%)
HPeV (Zeptomatrix 0810147CF)	Umiarkowanie dodatnie 3× LoD 1,5E+03 TCID ₅₀ /ml	Detected (Wykryto)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0%–100%)
	Słabo dodatnie 1× LoD 5,0E+02 TCID ₅₀ /ml	Detected (Wykryto)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0%–100%)
	Ujemne (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98,0%–100%)

Wynik testu (badany drobnoustrój/izolat)	Badane stężenie	Oczekiwany wynik	System A	System B	System C	Wszystkie systemy (95% przedział ufności)
VZV (Zeptomatrix 0810171CF)	Umiarkowanie dodatnie 3× LoD 3,0E-01 TCID ₅₀ /ml	Detected (Wykryto)	30/30 100%	30/30 100%	29/30 96,7%	89/90 98,90% (94,0%–100%)
	Słabo dodatnie 1× LoD 1,0E-01 TCID ₅₀ /ml	Detected (Wykryto)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0%–100%)
	Ujemne (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98,0%–100%)
DROŻDŻAKI						
<i>C. neoformans/gattii</i> <i>C. gattii</i> (ATCC MYA-4877)	Umiarkowanie dodatnie 3× LoD 3,00E+02 CFU/ml	Detected (Wykryto)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0%–100%)
	Słabo dodatnie 1× LoD 1,0E+02 CFU/ml	Detected (Wykryto)	30/30 100%	30/30 100%	28/30 93,3%	88/90 97,80% (92,2%–99,7%)
	Ujemne (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98,0%–100%)

^a Dane dotyczące odtwarzalności zgromadzone w systemach BioFire 2.0. Równoważną odtwarzalność zaobserwowano w przypadku testów przy 1× LoD wykonanych w systemie BioFire Torch (nie przedstawiono).

^b W przypadku tego izolatu wiele wartości LoD jest opartych na najniższym stężeniu (w TCID₅₀/ml) wykrytych dla tego izolatu.

Zakłócenia

Oceniono wpływ na działanie testu BioFire ME Panel (np. na wykrywanie analitów w stężeniach bliskich LoD) substancji potencjalnie zakłócających, które mogą występować w próbkach płynu mózgowo-rdzeniowego lub zostać do nich wprowadzone podczas pobierania lub testowania. Każda substancja została dodana do spreparowanych próbek zawierających reprezentatywne drobnoustroje (bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne, wirusy DNA/RNA oraz drożdżaki) w stężeniach zbliżonych do 3× LoD. Stężenie substancji dodanych do próbek było równe ich najwyższemu przewidywanemu poziomowi w próbkach płynu mózgowo-rdzeniowego lub wyższe od tego poziomu (na podstawie stężeń referencyjnych w płynie mózgowo-rdzeniowym osoby zdrowej lub chorej na zapalenie opon mózgowych / zapalenie mózgu; patrz Tabela 24).

Większość ocenianych substancji nie miała wpływu na oznaczenia kontrolne ani na wyniki oznaczeń w kierunku drobnoustrojów testu BioFire ME Panel. Uzyskano prawidłowe wyniki, a każdy drobnoustrój został wykryty w próbkach zawierających odpowiednie i/lub podwyższone poziomy substancji endogennych, takich jak mleczan, glukoza, białka (≤ 15 mg/ml), krwinki białe, ludzki genomowy DNA oraz krew, w próbkach dodanych do podłoża transportowego oraz w próbkach zawierających etanol (patrz Tabela 24). Zakłócenia lub zniszczenie próbki zaobserwowano przy wysokich stężeniach białka (albumina ≥ 40 mg/ml; stężenie znacznie przekraczające istotne klinicznie stężenia białek wynoszące 5,0 mg/ml) lub w przypadku wybielacza w stężeniu $> 0,1\%$ (v/v).

Tabela 24. Wpływ substancji potencjalnie zakłócających na test BioFire ME Panel

Substancje endogenne	Stężenie referencyjne dla płynu CSF		Badane stężenie	Wyniki dotyczące zakłócenia
	Zdrowa osoba	Zapalenie opon mózgowych / zapalenie mózgu		
Glukoza	40–70 mg/dl ⁸¹ (0,4–0,7 mg/ml)	≤ 70 mg/dl ($\leq 0,7$ mg/ml) ⁸²	990 mg/dl (9,9 mg/ml)	Brak zakłóceń
Mleczan	10–20 mg/dl ⁸¹ (0,1–0,2 mg/ml)	> 30 mg/dl ($> 0,3$ mg/ml) ⁸³	220 mg/dl (2,2 mg/ml)	Brak zakłóceń

Substancje endogenne	Stężenie referencyjne dla płynu CSF		Badane stężenie	Wyniki dotyczące zakłócenia
	Zdrowa osoba	Zapalenie opon mózgowych / zapalenie mózgu		
Białko [Albumina]^{a,b}	45 mg/dl Białko całkowite (0,45 mg/ml) ⁸²	50–500 mg/dl Białko całkowite (0,5–5,0 mg/ml) ⁸²	1500 mg/dl (15 mg/ml)	Brak zakłóceń ^b
			500 mg/dl (5 mg/ml)	Brak zakłóceń
			100 mg/dl (1 mg/ml)	Brak zakłóceń
Immunoglobulina (IgG)	0–8,0 mg/dl (0,0–0,08 mg/ml) ⁸⁴	> 8,0 mg/dl (> 0,08 mg/ml)	1000 mg/dl (10 mg/ml)	Brak zakłóceń
Krwinki białe (WBC)	0–20 komórek/ μ l ⁸⁵	5–5000 komórek/ μ l ⁸¹	10 000 komórek/ μ l	Brak zakłóceń
Ludzki genomowy DNA^c	$\leq 0,068$ ng/ μ l	≤ 17 ng/ μ l	20 ng/ μ l	Brak zakłóceń
Ludzka krew pełna^c	Brak ^d		10% (v/v)	Brak zakłóceń
Hemoglobina	Brak ^d		200 mg/dl (2 mg/ml)	Brak zakłóceń
Podłoże transportowe	Badane stężenie			Wynik
Podłoże transportowe do izolatów (T-I, Trans-Isolate)	50% (v/v)			Brak zakłóceń
Podłoże transportowe do wirusów (VTM, Viral Transport Medium)	50% (v/v)			Brak zakłóceń
Środki odkażające	Badane stężenie			Wynik
Etanol	7% (v/v)			Brak zakłóceń
Wybielacz	1% (v/v) [570 ppm chloru w próbce]			Zakłócenia ^e
	0,1% (v/v) [57 ppm chloru]			Brak zakłóceń
	0,01% (v/v) [5,7 ppm chloru]			Brak zakłóceń

^a Prawidłowe stężenia albuminy w płynie mózgowo-rdzeniowym wynoszą 0,0–0,27 mg/ml⁸³ (w przybliżeniu połowa stężenia białka całkowitego).

^b Zakłócenia (wynik „Not Detected” (Nie wykryto) dla co najmniej jednego analitu w próbce) zaobserwowano w przypadku albumin w stężeniach mieszczących się w zakresie 40–50 mg/ml, czyli znacznie większych niż najwyższe stężenie białka całkowitego przewidywane w próbce płynu mózgowo-rdzeniowego.

^c Dodatkowe wykrycie wirusa HHV-6. Podejrzewano lub potwierdzono, że wykrycie tego wirusowego DNA było spowodowane integracją wirusa⁸⁶, a nie nieswoistą reaktywnością krzyżową lub zakłóceniami spowodowanymi przez podaną substancję.

^d Krew (oraz hemoglobina) mogą występować w próbkach płynu mózgowo-rdzeniowego z powodu wprowadzenia kropli krwi (nakłucie lędźwiowe) lub krwotoku podpajęczynówkowego.

^e Nie wykryto drobnoustrojów pomimo prawidłowego działania oznaczeń kontrolnych saszetki. Dalsze badania wykazały, że drobnoustrojów nie wykryto z powodu zniszczenia kwasów nukleinowych w próbce przed testem, spowodowanego przez wybielacz (utlenienie lub inny sposób zniszczenia).

UWAGA: Ze względu na możliwość zakłóceń spowodowanych przez białko oraz możliwość zniszczenia próbki przez wybielacz należy zachować ostrożność, interpretując ujemne wyniki testu BioFire ME Panel próbek płynu mózgowo-rdzeniowego, które mogą zawierać wyjątkowo wysokie stężenia białka (> 15 mg/ml) lub które mogły być narażone na działanie wybielacza przed testem.

UWAGA: Chociaż nie wykazano, aby podłoże transportowe zakłócało wykrywanie analitów przez test BioFire ME Panel, panelu tego nie zatwierdzono do stosowania z próbkami płynu mózgowo-rdzeniowego na podłożu transportowym.

Oceniono także wpływ wirusów i innych drobnoustrojów potencjalnie konkurujących lub zakłócających skuteczność testu BioFire ME Panel (Tabela 25). Do spreparowanych próbek zawierających reprezentatywne drobnoustroje w stężeniach wynoszących około 3× LoD dodano innego wirusa, bakterię lub drożdżaka w wysokim stężeniu w celu przeprowadzenia oceny występowania konkurującego działania hamującego lub zakłócającego w próbkach zawierających kilka patogenów. Uzyskano prawidłowe wyniki. Każdy drobnoustrój w stężeniu 3× LoD został wykryty w próbkach zawierających wysoki poziom dodatkowego drobnoustroju objętego lub nieobjętego panelem.

Tabela 25. Wpływ potencjalnie konkurujących lub zakłócających wirusów i innych drobnoustrojów na test BioFire ME Panel

Badany drobnoustrój objęty panelem	Badane stężenie	Wyniki
<i>Escherichia coli</i> (K1)	1,02E+08 CFU/ml	Brak inhibicji/zakłóceń
Wirus Coxsackie A9 (enterowirus)	2,19E+05 TCID ₅₀ /ml	Brak inhibicji/zakłóceń
Wirus opryszczki pospolitej typu 1	1,95E+06 TCID ₅₀ /ml	Brak inhibicji/zakłóceń
<i>Cryptococcus neoformans</i>	8,10E+05 CFU/ml	Brak inhibicji/zakłóceń
Badany drobnoustrój nieobjęty panelem	Badane stężenie	Wyniki
Wirus Epsteina-Barr	1,64E+09 TCID ₅₀ /ml	Brak inhibicji/zakłóceń
Wirus grypy typu A H1N1-2009	2,45E+04 TCID ₅₀ /ml	Brak inhibicji/zakłóceń
<i>Cutibacterium (Propionibacterium) acnes</i>	1,12E+07 komórek/ml	Brak inhibicji/zakłóceń
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,95E+07 CFU/ml	Brak inhibicji/zakłóceń
<i>Escherichia coli</i> (szczep inny niż K1)	1,38E+08 CFU/ml	Brak inhibicji/zakłóceń
<i>Staphylococcus aureus</i>	8,55E+06 CFU/ml	Brak inhibicji/zakłóceń
<i>Candida albicans</i>	1,01E+06 CFU/ml	Brak inhibicji/zakłóceń

BIBLIOGRAFIA

1. Thigpen, M. C. *et al.* Bacterial meningitis in the United States, 1998-2007. *N. Engl. J. Med.* **364**, 2016–2025 (2011).
2. Versalovic, J. & American Society for Microbiology. *Manual of clinical microbiology*. (ASM Press, 2011).
3. Kim, B. Y., Kang, J. & Kim, K. S. Invasion processes of pathogenic *Escherichia coli*. *Int. J. Med. Microbiol.* **295**, 463–470 (2005).
4. Gaschignard, J. *et al.* Neonatal Bacterial Meningitis: 444 Cases in 7 Years. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **30**, 212–217 (2011).
5. Lu, C. H., Chang, W. N., Chuang, Y. C. & Chang, H. W. The prognostic factors of adult gram-negative bacillary meningitis. *J. Hosp. Infect.* **40**, 27–34 (1998).
6. Gower, D. J., Barrows, A. A., 3rd, Kelly, D. L., Jr & Pegram, S., Jr. Gram-negative bacillary meningitis in the adult: review of 39 cases. *South. Med. J.* **79**, 1499–1502 (1986).
7. Agrawal, A. & Murphy, T. F. *Haemophilus influenzae* infections in the H. influenzae type b conjugate vaccine era. *J. Clin. Microbiol.* **49**, 3728–3732 (2011).
8. Ladhani, S. *et al.* Invasive *Haemophilus influenzae* Disease, Europe, 1996-2006. *Emerging Infect. Dis.* **16**, 455–463 (2010).
9. Brouwer, M. C., van de Beek, D., Heckenberg, S. G. B., Spanjaard, L. & de Gans, J. Community-acquired *Haemophilus influenzae* meningitis in adults. *Clin. Microbiol. Infect.* **13**, 439–442 (2007).
10. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. (Elsevier).
11. Wing, E. J. & Gregory, S. H. *Listeria monocytogenes*: clinical and experimental update. *J. Infect. Dis.* **185 Suppl 1**, S18–24 (2002).
12. Disson, O. & Lecuit, M. Targeting of the central nervous system by *Listeria monocytogenes*. *Virulence* **3**, 213–221 (2012).
13. Vázquez-Boland, J. A. *et al.* *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clin. Microbiol. Rev.* **14**, 584–640 (2001).
14. World Health Organization. Meningococcal meningitis fact sheet, February, 2015. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs141/en/>
15. Munro, R. Meningococcal disease: treatable but still terrifying. *Intern Med J* **32**, 165–169 (2002).
16. Pollard, A. J., Nadel, S., Ninis, N., Faust, S. N. & Levin, M. Emergency management of meningococcal disease: eight years on. *Arch. Dis. Child.* **92**, 283–286 (2007).
17. Cohn, A. C. *et al.* Prevention and control of meningococcal disease: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* **62**, 1–28 (2013).
18. McIntyre, P. B., O'Brien, K. L., Greenwood, B. & van de Beek, D. Effect of vaccines on bacterial meningitis worldwide. *Lancet* **380**, 1703–1711 (2012).
19. Andersen, J., Christensen, R. & Hertel, J. Clinical features and epidemiology of septicaemia and meningitis in neonates due to *Streptococcus agalactiae* in Copenhagen County, Denmark: a 10 year survey from 1992 to 2001. *Acta Paediatr.* **93**, 1334–1339 (2004).
20. Verani, J. R., McGee, L., Schrag, S. J. & Division of Bacterial Diseases, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of perinatal group B streptococcal disease—revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR Recomm Rep* **59**, 1–36 (2010).
21. Schrag, S. J. *et al.* Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *N. Engl. J. Med.* **342**, 15–20 (2000).
22. Rodriguez-Granger, J. *et al.* Prevention of group B streptococcal neonatal disease revisited. The DEVANI European project. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **31**, 2097–2104 (2012).
23. Heath, P. T. *et al.* Group B streptococcal disease in UK and Irish infants younger than 90 days. *Lancet* **363**, 292–294 (2004).
24. Dunne, D. W. & Quagliarello, V. Group B streptococcal meningitis in adults. *Medicine (Baltimore)* **72**, 1–10 (1993).
25. Domingo, P. *et al.* Group B streptococcal meningitis in adults: report of twelve cases and review. *Clin. Infect. Dis.* **25**, 1180–1187 (1997).
26. Brouwer, M. C., Tunkel, A. R. & van de Beek, D. Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis. *Clin. Microbiol. Rev.* **23**, 467–492 (2010).
27. Scarborough, M. *et al.* Corticosteroids for bacterial meningitis in adults in sub-Saharan Africa. *N. Engl. J. Med.* **357**, 2441–2450 (2007).
28. Baraff, L. J., Lee, S. I. & Schriger, D. L. Outcomes of bacterial meningitis in children: a meta-analysis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **12**, 389–394 (1993).
29. Østergaard, C., Konradsen, H. B. & Samuelsson, S. Clinical presentation and prognostic factors of *Streptococcus pneumoniae* meningitis according to the focus of infection. *BMC Infect. Dis.* **5**, 93 (2005).
30. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine and 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine among children aged 6-18 years with immunocompromising conditions: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **62**, 521–524 (2013).
31. Musher, D. M. How effective is vaccination in preventing pneumococcal disease? *Infect. Dis. Clin. North Am.* **27**, 229–241 (2013).

32. Kothari, A., Ramachandran, V. G., Gupta, P., Singh, B. & Talwar, V. Seroprevalence of cytomegalovirus among voluntary blood donors in Delhi, India. *J Health Popul Nutr* **20**, 348–351 (2002).
33. Staras, S. A. S. *et al.* Seroprevalence of cytomegalovirus infection in the United States, 1988–1994. *Clin. Infect. Dis.* **43**, 1143–1151 (2006).
34. Rafailidis, P. I., Mourtoukou, E. G., Varbobitis, I. C. & Falagas, M. E. Severe cytomegalovirus infection in apparently immunocompetent patients: a systematic review. *Viol. J.* **5**, 47 (2008).
35. Drew, W. L. Cytomegalovirus Disease in the Highly Active Antiretroviral Therapy Era. *Curr Infect Dis Rep* **5**, 257–265 (2003).
36. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Nonpolio enterovirus and human parechovirus surveillance — United States, 2006–2008. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **59**, 1577–1580 (2010).
37. Specter, S. *Clinical virology manual*. (ASM Press, 2009).
38. Cabrerizo, M. *et al.* Molecular characterization of enteroviruses associated with neurological infections in Spain, 2008. *J. Med. Virol.* **85**, 1975–1977 (2013).
39. Slika, S., Abbas, F. & Mahfouz, R. Implementation of the Cepheid Xpert EV assay for rapid detection of enteroviral meningitis: experience of a tertiary care center and a technical review. *Genet Test Mol Biomarkers* **17**, 232–235 (2013).
40. Dupuis, M. *et al.* Molecular detection of viral causes of encephalitis and meningitis in New York State. *J. Med. Virol.* **83**, 2172–2181 (2011).
41. Xu, F. *et al.* Trends in herpes simplex virus type 1 and type 2 seroprevalence in the United States. *JAMA* **296**, 964–973 (2006).
42. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Seroprevalence of herpes simplex virus type 2 among persons aged 14–49 years—United States, 2005–2008. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **59**, 456–459 (2010).
43. Wald, C. in *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis* (eds. Arvin, A., Campadelli-Fiume, G. & Mocarski, E. *al*, et) (Cambridge University Press, 2007).
44. Read, S. J. & Kurtz, J. B. Laboratory diagnosis of common viral infections of the central nervous system by using a single multiplex PCR screening assay. *J. Clin. Microbiol.* **37**, 1352–1355 (1999).
45. Salahuddin, S. Z. *et al.* Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science* **234**, 596–601 (1986).
46. Braun, D. K., Dominguez, G. & Pellett, P. E. Human herpesvirus 6. *Clin. Microbiol. Rev.* **10**, 521–567 (1997).
47. Bates, M. *et al.* Predominant human herpesvirus 6 variant A infant infections in an HIV-1 endemic region of Sub-Saharan Africa. *Journal of Medical Virology* **81**, 779–789 (2009).
48. Álvarez-Lafuente, R., las Heras, V. De, Bartolomé, M., Picazo, J. J. & Arroyo, R. Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis and Human Herpesvirus 6 Active Infection. *Archives of Neurology* **61**, 1523 (2004).
49. Luppi, M., Barozzi, P., Maiorana, A., Marasca, R. & Torelli, G. Human herpesvirus 6 infection in normal human brain tissue. *J. Infect. Dis.* **169**, 943–944 (1994).
50. Hall, C. B. *et al.* Human herpesvirus-6 infection in children. A prospective study of complications and reactivation. *N. Engl. J. Med.* **331**, 432–438 (1994).
51. Chan, P. K., Ng, H. K., Hui, M. & Cheng, A. F. Prevalence and distribution of human herpesvirus 6 variants A and B in adult human brain. *J. Med. Virol.* **64**, 42–46 (2001).
52. Ogata, M. *et al.* Human Herpesvirus 6 (HHV-6) Reactivation and HHV-6 Encephalitis After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: A Multicenter, Prospective Study. *Clinical Infectious Diseases* **57**, 671–681 (2013).
53. Stanway, G., Joki-Korpela, P. & Hyypiä, T. Human parechoviruses—biology and clinical significance. *Rev. Med. Virol.* **10**, 57–69 (2000).
54. Tauriainen, S. *et al.* Human parechovirus 1 infections in young children—no association with type 1 diabetes. *J. Med. Virol.* **79**, 457–462 (2007).
55. Westerhuis, B. *et al.* Human parechovirus seroprevalence in Finland and the Netherlands. *J. Clin. Virol.* **58**, 211–215 (2013).
56. Harvala, H., Wolthers, K. C. & Simmonds, P. Parechoviruses in children: understanding a new infection. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **23**, 224–230 (2010).
57. Sharp, J. *et al.* Characteristics of young infants in whom human parechovirus, enterovirus or neither were detected in cerebrospinal fluid during sepsis evaluations. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **32**, 213–216 (2013).
58. Walters, B. *et al.* Detection of human parechovirus (HPEV)-3 in spinal fluid specimens from pediatric patients in the Chicago area. *J. Clin. Virol.* **52**, 187–191 (2011).
59. Renaud, C. *et al.* Introduction of a novel parechovirus RT-PCR clinical test in a regional medical center. *J. Clin. Virol.* **51**, 50–53 (2011).
60. Verboon-Macielek, M. A. *et al.* Human parechovirus causes encephalitis with white matter injury in neonates. *Ann. Neurol.* **64**, 266–273 (2008).
61. Pierik, J. G., Gumbs, P. D., Fortanier, S. A., Van Steenwijk, P. C. & Postma, M. J. Epidemiological characteristics and societal burden of varicella zoster virus in the Netherlands. *BMC Infectious Diseases* **12**, 110 (2012).
62. Bonanni, P. *et al.* Varicella vaccination in Europe – taking the practical approach. *BMC Medicine* **7**, 26 (2009).
63. Dworkin, R. H. *et al.* Recommendations for the management of herpes zoster. *Clin. Infect. Dis.* **44 Suppl 1**, S1–26 (2007).

64. Thomas, S. L. & Hall, A. J. What does epidemiology tell us about risk factors for herpes zoster? *Lancet Infect Dis* **4**, 26–33 (2004).
65. Yawn, B. P. & Gilden, D. The global epidemiology of herpes zoster. *Neurology* **81**, 928–930 (2013).
66. Mainka, C., Fuss, B., Geiger, H., Höfelmayr, H. & Wolff, M. H. Characterization of viremia at different stages of varicella-zoster virus infection. *J. Med. Virol.* **56**, 91–98 (1998).
67. Schünemann, S., Mainka, C. & Wolff, M. H. Subclinical reactivation of varicella-zoster virus in immunocompromised and immunocompetent individuals. *Intervirology* **41**, 98–102 (1998).
68. Gilden, D., Mahalingam, R., Nagel, M. A., Pugazhenth, S. & Cohrs, R. J. Review: The neurobiology of varicella zoster virus infection. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **37**, 441–463 (2011).
69. Hasimoto e Souza, L. K. *et al.* Clinical and microbiological features of cryptococcal meningitis. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **46**, 343–347 (2013).
70. Marr, K. A. *Cryptococcus gattii* as an important fungal pathogen of western North America. *Expert Rev Anti Infect Ther* **10**, 637–643 (2012).
71. McCulloh, R. J. *et al.* *Cryptococcus gattii* genotype VGI infection in New England. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **30**, 1111–1114 (2011).
72. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Emergence of *Cryptococcus gattii*—Pacific Northwest, 2004–2010. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **59**, 865–868 (2010).
73. Hagen, F. *et al.* Autochthonous and Dormant *Cryptococcus gattii* Infections in Europe. *Emerging Infectious Diseases* **18**, 1618–1624 (2012).
74. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. (2009).
75. Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline M29.
76. Adams, D. A. *et al.* Summary of Notifiable Diseases - United States, 2012. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **61**, 1–122 (2014) at <<http://www.cdc.gov/mmwr/PDF/wk/mm6153.pdf>>
77. CIFOR Analysis of State Legal Authorities. at <<http://www.cifor.us/>>
78. Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions; NCCLS Approved Guideline. (2006).
79. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; NCCLS Approved Guideline. (2008).
80. Jatón, K., Ninet, B., Bille, J. & Greub, G. False-Negative PCR Result Due to Gene Polymorphism: the Example of *Neisseria meningitidis*. *Journal of Clinical Microbiology* **48**, 4590–4591 (2010).
81. Braunwald, E. *Principles of Internal Medicine*. (2001).
82. Solomon, T., Hart, I. J. & Beeching, N. J. Viral encephalitis: a clinician's guide. *Practical Neurology* **7**, 288–305 (2007).
83. R A Komorowski, S G Farmer, G A Hanson, and L L Hause. Cerebrospinal fluid lactic acid in diagnosis of meningitis. *J Clin Microbiol.* **8**, 89–92 (1978).
84. SFIN - Clinical: Cerebrospinal Fluid (CSF) IgG Index. at <<http://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/8009>>
85. Seehusen, D. A., Reeves, M. M. & Fomin, D. A. Cerebrospinal fluid analysis. *Am Fam Physician* **68**, 1103–1108 (2003).
86. Morissette, G. & Flamand, L. Herpesviruses and Chromosomal Integration. *Journal of Virology* **84**, 12100–12109 (2010).

INFORMACJE GWARANCYJNE

Informacje gwarancyjne dotyczące produktu są dostępne na stronie:

<http://www.biofiredx.com/support/>

Aby uzyskać informacje gwarancyjne dla klientów spoza terytorium Stanów Zjednoczonych, należy się skontaktować z lokalnym przedstawicielem lub dystrybutorem firmy bioMérieux.

HISTORIA ZMIAN

Wersja	Data aktualizacji	Opis zmian(y)
01-04	Nie dotyczy	Poprzednie wersje
05	Czerwiec 2021 r.	<p>Dodano:</p> <ul style="list-style-type: none"> Tabela historii wersji Odsyłacz EUDAMED do europejskiego podsumowania dotyczącego bezpieczeństwa i skuteczności wymaganego w celu zachowania zgodności z europejskim rozporządzeniem w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki <i>in Vitro</i> (IVDR 2017/746) Oświadczenie dotyczące rozporządzenia REACH dla klientów w UE Informacja o zgłaszaniu zdarzeń niepożądanych dla klientów z UE w UE Przeznaczenie, użytkownik docelowy i środowisko użytkowania Granica wykrywalności — dodanie danych dla międzynarodowych standardów WHO dotyczących wirusów CMV oraz HHV-6 Reaktywność analityczna i specyficzność analityczna — badania dodatkowych izolatów <p>Aktualizacje:</p> <ul style="list-style-type: none"> Słowniczek symboli Odsyłacze do etykiet elektronicznych Wyeliminowano błędy typograficzne i problemy z formatowaniem Części „Zasada procedury”, „Materiały”, „Ostrzeżenia”, „Środki ostrożności”, „Kontrole zewnętrzne” i „Ograniczenia” w celu uzgodnienia z innymi panelami BioFire i informacjami uzyskanymi po wprowadzeniu produktu na rynek. Część „Ograniczenia” — uporządkowano i poprawiono niektóre ograniczenia w celu zapewnienia przejrzystości, w szczególności w przypadku zagrożeń związanych z wynikami fałszywie dodatnimi i ujemnymi. Oznaczenia marki i logo Adres przedstawiciela na terenie WE (EC REP) Część „Granica wykrywalności” — aktualizacja uwag i przypisów w celu zapewnienia przejrzystości i wskazania wariantu wirusa HSV-1 z inną wartością LoD. Część „Reaktywność analityczna (zakres testu)” — poprawki dotyczące tabel od Tabela 18 do Tabela 20 w celu doprecyzowania ograniczeń, w tym uwzględnienia informacji zgromadzonych po wprowadzeniu produktu do obrotu oraz dodatkowych testów w odniesieniu do określonych typów bakterii <i>S. pneumoniae</i>, enterowirusów oraz genoszczepów <i>quentinii</i> bakterii <i>H. influenzae</i>. Bakterie <i>H. influenzae</i> z biogrupy <i>aegyptius</i> zostały ponownie sklasyfikowane jako bakterie <i>H. aegyptius</i> i przeniesione do części „Specyficzność analityczna” Tabela 22. Część „Specyficzność analityczna (reaktywność krzyżowa)” — poprawiono tekst i Tabela 22 w celu uwzględnienia reaktywności krzyżowej zaobserwowanej w przypadku bakterii <i>H. parainfluenzae</i> i nowych szczepów bakterii <i>H. sputorum</i>. Dodano badania następujących drobnoustrojów: wirus japońskiego zapalenia mózgu, <i>E. faecalis</i>, <i>E. faecium</i>, <i>S. warneri</i>, <i>A. baumannii</i>, <i>A. lwoffii</i>, <i>E. meningoseptica</i>, <i>H. aegyptius</i>, <i>Sphingomonas paucimobilis</i>. Wskazano ponowną klasyfikację bakterii <i>Propionibacterium acnes</i> jako <i>Cutibacterium acnes</i> oraz bakterii <i>Enterobacter aerogenes</i> jako <i>Klebsiella aerogenes</i>. Część „Zakłócenia” — poprawiono Tabela 24 w celu przeniesienia nieistotnych badanych stężeń albumin z tabeli do przypisów. <p>Usunięto:</p> <ul style="list-style-type: none"> Piśmiennictwo oraz sposób obsługi systemu BioFire FilmArray (1. generacja systemu). Informacje na temat obsługi testu BioFire ME Panel z systemem BioFire FilmArray zawiera wersja 04. Odtwarzalność danych zgromadzonych za pomocą systemu BioFire FilmArray z Tabela 23 oraz usunięcie Tabela 24 (Tabela z danymi odtwarzalności Tm — badania z użyciem BioFire FilmArray i BioFire 2.0).



Dodatkowe informacje dotyczące naszych produktów i ich zastosowań można uzyskać, kontaktując się z działem obsługi klienta firmy BioFire Diagnostics, lokalnym przedstawicielem handlowym firmy bioMérieux lub autoryzowanym dystrybutorem.