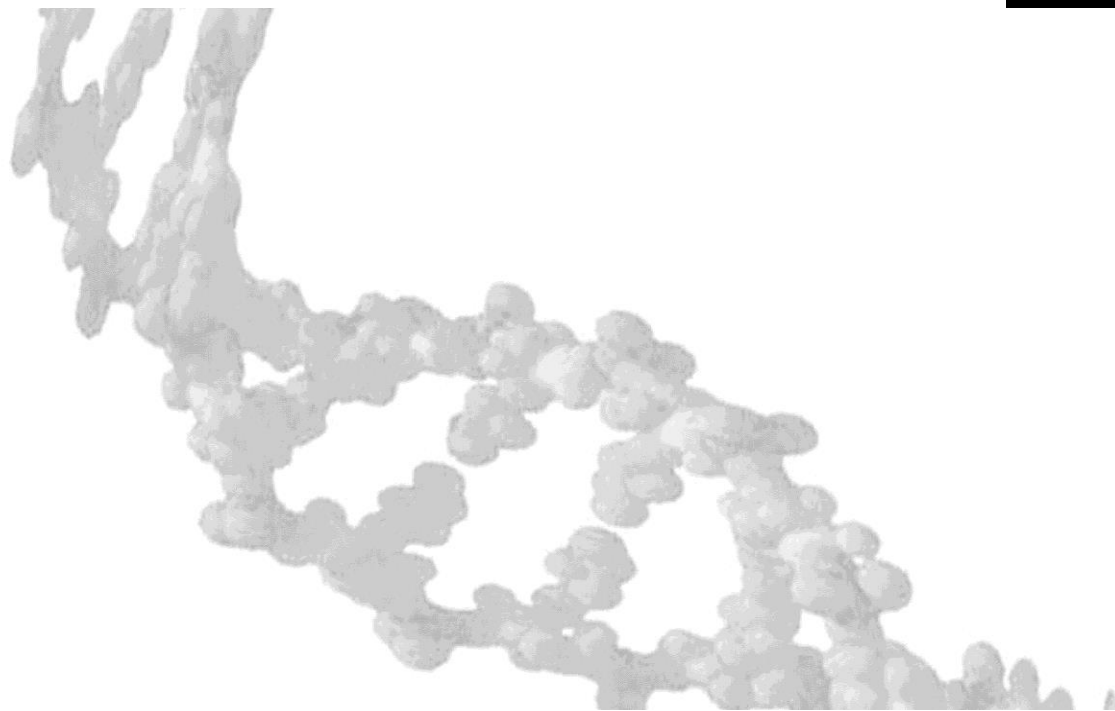


REF

RFIT-ASY-0104
RFIT-ASY-0116



FilmArray[®] Gastrointestinal (GI) Panel

Instrukcja obsługi

IVD

CE

BIO  FIRE[®]
A BIOMÉRIEUX COMPANY

Dział obsługi klienta i pomocy technicznej dla klientów w USA

Internet

<http://www.BioFireDX.com>

e-mail

support@BioFireDX.com

Adres pocztowy

515 Colorow Drive
Salt Lake City, UT USA
84108

Zadzwoń do nas

1-800-735-6544 — numer bezpłatny
(801) 736-6354 — Utah

Prześlij faks

(801) 588-0507

Dział obsługi klienta i pomocy technicznej dla klientów spoza USA

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



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



Qarad b.v.b.a
Cipalstraat 3
B-2440 Geel, Belgium

© Copyright 2007–2017, BioFire Diagnostics, LLC. Wszystkie prawa zastrzeżone. RFIT-PRT-0258-04 Czerwiec 2017

Informacje zawarte w niniejszym dokumencie mogą zostać zmienione bez powiadomienia. Producent nie wyraża zgody na powielanie lub przekazywanie go w całości lub części, w jakiegokolwiek formie czy za pomocą jakichkolwiek środków elektronicznych lub mechanicznych i w żadnym celu, bez uprzedniego uzyskania wyraźnej pisemnej zgody firmy BioFire Diagnostics, LLC.

Oprogramowanie FilmArray, Detector oraz moduły oprogramowania Metacall © 2002–2017 BioFire Diagnostics, LLC.



















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

Wszystkie pozostałe, pojawiające się w tej instrukcji nazwy marek i produktów, są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi ich właścicieli.

Wraz z zakupem produktu przyznawana jest ograniczona, niezbywalna licencja, zgodnie z postanowieniami patentów USA wymienionych na stronie internetowej BioFire Diagnostics (<http://www.biofiredx.com/LegalNotices/>) i będących własnością BioFire oraz University of Utah Research Foundation.

TABELA SYMBOLI

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

ISO 15223-1:2012								
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 partii (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 temperatury
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						
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				
Dyrektywa 98/79/WE Parlamentu Europejskiego i Rady w sprawie wyrobów medycznych używanych do diagnostyki in vitro								
	Znak CE							
Symbole producenta (BioFire Diagnostics, LLC)								
	Zapoznać się z instrukcją obsługi — online			Zapoznać się z instrukcją obsługi — kontakt telefoniczny				

DOKUMENTACJA ELEKTRONICZNA

Do podręcznika dotyczącego niniejszego produktu można uzyskać dostęp online na stronie internetowej www.online-ifu.com/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 dostępny jest egzemplarz papierowy. Instrukcję obsługi można zamówić, kontaktując się z działem obsługi klienta telefonicznie, faksem, za pomocą poczty elektronicznej lub tradycyjnej.

FilmArray Gastrointestinal (GI) Panel (CE IVD), zestaw 6 i 30 — Instrukcja obsługi	https://www.online-ifu.com/ITI0030
FilmArray Gastrointestinal (GI) Panel (CE IVD), zestaw 6 i 30 — Przewodnik	https://www.online-ifu.com/ITI0011
FilmArray Gastrointestinal (GI) Panel (CE IVD), zestaw 6 i 30 — Karta charakterystyki	https://www.online-ifu.com/ITI0009

SPIS TREŚCI

TABELA SYMBOLI	II
DOKUMENTACJA ELEKTRONICZNA	III
NAZWA I PRZEZNACZENIE	1
FILMARRAY GASTROINTESTINAL (GI) PANEL	1
TEST - NAJWAŻNIEJSZE INFORMACJE I WYJAŚNIENIA	2
SKRÓCONA CHARAKTERYSTYKA WYKRYTYCH PATOGENÓW	2
ZASADY PRZEPROWADZANIA PROCEDUR	8
MATERIAŁY ZNAJDUJĄCE SIĘ W ZESTAWIE	10
MATERIAŁY POTRZEBNE, ALE NIE ZNAJDUJĄCE SIĘ W ZESTAWIE	10
OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI	10
OGÓLNE ŚRODKI OSTROŻNOŚCI	10
WYTYCZNE DOTYCZĄCE BEZPIECZEŃSTWA	11
ŚRODKI OSTROŻNOŚCI STOSOWANE W LABORATORIUM	11
PRZESTROGA ZWIĄZANA ZE ZGŁASZANIEM DO ORGANÓW DS. ZDROWIA PUBLICZNEGO W USA	12
PRZECHOWYWANIE, UŻYWANIE I ZACHOWYWANIE PRZYDATNOŚCI ODCZYNNIKÓW	12
WYMOGI POBIERANIA PRÓBEK	12
PROCEDURA	13
PRZYGOTOWANIE SASZETKI	13
UWODNIENIE SASZETKI	14
PRZYGOTOWANIE MIESZANINY Z PRÓBKĄ	14
ŁADOWANIE MIESZANINY Z PRÓBKĄ	14
URUCHOMIENIE BADANIA SASZETKI	15
KONTROLA JAKOŚCI	17
KONTROLE PROCESU	17
MONITOROWANIE JAKOŚCI DZIAŁANIA SYSTEMU	17
INTERPRETACJA WYNIKÓW	18
INTERPRETACJA BADANIA	18
INTERPRETACJA WYNIKÓW	18
RAPORT Z BADANIA FILMARRAY GI	24
POLE CONTROLS (KONTROLE)	24
RESULTS SUMMARY (PODSUMOWANIE WYNIKÓW) - INTERPRETACJE	26
OGRANICZENIA PROCEDURY	27
OCZEKIWANE WARTOŚCI	30
CHARAKTERYSTYKA DZIAŁANIA	32
SKUTECZNOŚĆ KLINICZNA	32
GRANICA WYKRYWALNOŚCI	39
REAKTYWNOŚĆ ANALITYCZNA (INKLUZYWNOŚĆ)	41
SWOISTOŚĆ ANALITYCZNA (REAKTYWNOŚĆ KRZYŻOWA I DOKŁADNOŚĆ WYNIKÓW)	53
ZAKAŻENIE KRZYŻOWE I PRZENOSZENIE ZAKAŻEŃ	57
BADANIE NA ODTWARZALNOŚĆ WYNIKÓW	57
CZYNNIKI ZAKŁÓCAJĄCE	62
SKUTECZNOŚĆ OZNACZEŃ FILMARRAY 2.0 I FILMARRAY TORCH	63
KLINICZNE BADANIA PORÓWNAWCZE	63
ODTWARZALNOŚĆ	65

REFERENCJE.....67

INFORMACJE GWARANCYJNE.....69

NAZWA I PRZEZNACZENIE

FilmArray Gastrointestinal (GI) Panel

FilmArray Gastrointestinal (GI) Panel to jakościowy multipleksowy test kwasu nukleinowego do diagnostyki *in vitro* przeznaczony do stosowania z systemami FilmArray. FilmArray GI Panel umożliwia jednoczesne wykrywanie i rozpoznawanie kwasów nukleinowych różnorodnych bakterii, wirusów i pasożytów bezpośredniego z umieszczonych w wymazówce z podłożem Cary Blair próbek kału, pobranych od pacjentów, u których występują objawy infekcji żołądkowo-jelitowych. Przez FilmArray GI Panel wykrywane są następujące bakterie (w tym kilka wywołujących biegunkę szczepów *E. coli/Shigella*), pasożyty i wirusy:

- *Campylobacter* (*C. jejuni/C. coli/C. upsaliensis*)
- *Clostridium difficile* (*C. difficile*) toksyna A/B
- *Plesiomonas shigelloides*
- *Salmonella*
- *Vibrio* (*V. parahaemolyticus/V. vulnificus/ V. cholerae*), łącznie z dokładnym identyfikowaniem *Vibrio cholerae*
- *Yersinia enterocolitica*
- Szczepy adherentne *Escherichia coli* (EAEC)
- Szczepy enteropatogenne *Escherichia coli* (EPEC)
- Szczepy enterotoksyczne *Escherichia coli* (ETEC) *lt/st*
- Szczepy werotoksyczne *Escherichia coli* (STEC) *stx1/stx2* (łącznie z dokładnym identyfikowaniem serogrupy *E. coli* O157 w ramach STEC)
- *Shigella*/ szczepy enteroinwazyjne *Escherichia coli* (EIEC)
- *Cryptosporidium*
- *Cyclospora cayetanensis*
- *Entamoeba histolytica*
- *Giardia lamblia* (zwana także *G. intestinalis* oraz *G. duodenalis*)
- Adenowirus F 40/41
- Astrowirus
- Norowirus GI/GII
- Rotawirus A
- Sapowirus (genogrupa I, II, IV i V)

FilmArray GI Panel stanowi pomoc w diagnostyce określonych czynników powodujących choroby żołądkowo-jelitowe, a uzyskane z niego wyniki należy zestawić z wynikami innych badań klinicznych, laboratoryjnych i epidemiologicznych. Wyniki dodatnie nie wykluczają istnienia koinfekcji innymi organizmami, nie wykrywanymi przez FilmArray GI Panel. Wykryty czynnik chorobowy może nie być główną przyczyną choroby.

W leczeniu pacjenta i dookreśleniu występujących szczepów bakterii niezbędny jest posiew.

Urządzenie nie jest przeznaczone do monitorowania lub prowadzenia leczenia infekcji *C. difficile*.

Ponieważ podczas prospektywnych badań klinicznych dysponowano niewielką liczbą próbek dodatnich niektórych organizmów, skuteczność wykrywania *E. coli* O157, *Plesiomonas shigelloides*, *Yersinia enterocolitica*, astrowirusów i rotawirusów A opiera się głównie na wcześniejszych próbkach klinicznych.

Skuteczność wykrywania *Entamoeba histolytica* oraz *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* i *Vibrio cholerae*) ustalono głównie na podstawie spreparowanych próbek klinicznych.

Ujemne wyniki uzyskane w badaniu FilmArray GI Panel w przypadku choroby pokrewnej z nieżytem żołądkowo-jelitowym mogą wynikać z infekcji patogenami nie wykrywanymi przez to badanie bądź z przyczyn nieinfekcyjnych, takich jak wrzodziejące zapalenie jelita grubego, zespół jelita drażliwego czy choroby Leśniowskiego i Crohna.

Multipleksowe badanie kwasu nukleinowego mikroorganizmów układu pokarmowego pomaga również w wykrywaniu i rozpoznawaniu ostrego nieżytu żołądkowo-jelitowego w przypadkach epidemii.

TEST - NAJWAŻNIEJSZE INFORMACJE I WYJAŚNIENIA

Pomimo postępów w dziedzinach bezpieczeństwa żywności, higieny i opieki medycznej, zakaźny nieżyt żołądkowo-jelitowy pozostaje poważnym problemem obywateli krajów uprzemysłowionych, bez względu na wiek. Tylko w Stanach Zjednoczonych odnotowuje się rocznie 76 milionów przypadków chorób pokarmowych, skutkujących 325 000 hospitalizacji i 5000 zgonów.¹⁻³ Oprócz tego diagnozuje się w tym kraju ponad 300 000 przypadków infekcji *C. difficile* rocznie,⁴ powodujących koszty wysokości przynajmniej jednego miliarda USD.⁵ Globalnie natomiast zakaźne choroby wywołujące biegunkę są jedną z głównych przyczyn śmiertelności najmłodszych dzieci, odpowiadając za ok. 800 000 zgonów rocznie u dzieci w wieku poniżej 5 roku życia.⁶ Biegunka jest nie tylko przyczyną chorób i śmierci u dzieci, lecz także przyczynia się do niedożywienia, zwiększa podatność na inne infekcje i może prowadzić do opóźnienia w rozwoju fizycznym i intelektualnym.^{7,8} FilmArray GI Panel wykrywa 22 patogeny w jednym badaniu (tabela 1) próbki kału umieszczonej w wymazówce z podłożem Cary Blair. Wyniki badania próbki dostępne są już po ok. godzinie.

Tabela 1. Bakterie, wirusy, wywołujące biegunkę szczepy *E. coli*/*Shigella* oraz pasożyty wykrywane przez FilmArray GI Panel

Bakterie	Wirusy
<i>Campylobacter</i> (<i>C. jejuni</i> / <i>C. coli</i> / <i>C. upsaliensis</i>) <i>Clostridium difficile</i> (toksyna A/B) <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Salmonella</i> <i>Vibrio</i> (<i>V. parahaemolyticus</i> / <i>V. vulnificus</i> / <i>V. cholerae</i>) <i>V. cholerae</i> <i>Yersinia enterocolitica</i>	Adenowirus F 40/41 Astrowirus Norowirus GI/GII Rotawirus A Sapowirus (genogrupa I, II, IV i V)
Wywołujące biegunkę szczepy <i>E. coli</i> / <i>Shigella</i>	Pasożyty
Szczepy adherentne <i>E. coli</i> (EAEC) Szczepy enteropatogenne <i>E. coli</i> (EPEC) Szczepy enterotoksyczne <i>E. coli</i> (ETEC) <i>lt/st</i> Szczepy werotoksyczne <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i> <i>E. coli</i> O157 <i>Shigella</i> / szczepy enteroinwazyjne <i>E. coli</i> (EIEC)	<i>Cryptosporidium</i> <i>Cyclospora cayetanensis</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Giardia lamblia</i>

Skrócona charakterystyka wykrytych patogenów

Bakterie

***Campylobacter* (*C. jejuni*/*C. coli*/*C. upsaliensis*).** *Campylobacter* to gram-ujemna, nie tworząca form przetrwalnikowych bakteria spiralna, zwykle ruchliwa. Większość sporadycznych infekcji wynika ze spożycia niedogotowanego mięsa drobiowego lub z zakażenia krzyżowego z innych pokarmów. Przyczyną epidemii są często niepasteryzowane produkty mleczne, skażona woda, drób i produkty rolne. Znane są także przypadki zakażenia pochodzącego od odchodów zwierząt domowych.⁹ Gatunkami najczęściej wywołującymi biegunkę są *C. jejuni* i *C. coli*, a w trzeciej kolejności *C. upsaliensis*. Mniej popularnymi są natomiast *C. lari* oraz *C. fetus*.¹⁰ Infekcje gatunkami bakterii *Campylobacter* występują powszechnie na całym świecie i przypuszczalnie często pozostają niezdiagnozowane.¹¹ *Campylobacter* jest główną przyczyną bakteryjnego zapalenia jelit na terenie USA (szacunkowe 845 000 zakażeń rocznie i niemal 8500 hospitalizacji¹²), a także najczęstszym powodem chorób pokarmowych w UE (ponad 220 000 potwierdzonych przypadków w krajach członkowskich w roku 2011¹³). Zakażenia jelitowe bakterią *Campylobacter* mają postać od bezobjawowych po silne, z towarzyszącymi im biegunkami krwotocznymi (lub niekrwotocznymi), gorączką i kurczami w jamie brzusznej. Mogą także prowadzić do długofalowych problemów zdrowotnych, takich jak zespół Guillaina-Barrego

(GBS) czy reaktywne zapalenie stawów.¹¹ Przypadki zakażeń bakterią *Campylobacter* podlegają obowiązkowi zgłaszania w USA i są rejestrowane przez European Surveillance System (TESSy).

Clostridium difficile to gatunek gram dodatnich beztlenowych przetrwalnikujących laseczek, powszechnie występujących w naturze. Zakażenie nimi następuje bezpośrednio ze środowiska lub drogą fekalno-oralną. Niektóre szczepy *C. difficile* wytwarzają dwie enterotoksyny: toksynę A i toksynę B, niszczących jelito grube w zakażonym organizmie. Infekcja *C. difficile* (CDI) jest główną przyczyną biegunk wymagających hospitalizacji i odpowiada rocznie za ponad 300 000 przypadków chorób z biegunką, a także 14 000 zgonów w Stanach Zjednoczonych, generując koszty na poziomie ponad miliarda dolarów na opiekę medyczną.¹⁴ Na terenie UE CDI jest problemem na podobnym poziomie.¹⁵ Terapia antybiotykowa, silnie wywołująca układ pokarmowy z flory bakteryjnej, to główny czynnik ryzyka rozwoju CDI. W ciągu ostatnich kilku lat odnotowuje się wzrost przypadków pozaszpitalnej CDI, mniej powiązanej z działaniem antybiotyków.¹⁶ Spektrum objawów klinicznych infekcji *C. difficile* sięga od przypadków bezobjawowych (szacunkowo u 3-5% zdrowej populacji osób dorosłych i do 30% zdrowych noworodków¹⁷) po rzekomobłoniaste zapalenie jelit, z towarzyszącą im biegunką krwotoczną, silnym bólem jamy brzusznej i podwyższoną gorączką. Ze względu na częsty brak objawów wśród nosicieli - a zwłaszcza małych dzieci - przeprowadzanie badań klinicznych w kierunku wykrywania toksygenicznych *C. difficile* z próbki stolca powinno być rozważane w świetle innych informacji medycznych o pacjencie, jego wieku oraz takich czynników ryzyka, jak na przykład hospitalizacja czy terapia antybiotykowa.^{18,19}

Plesiomonas shigelloides. *Plesiomonas shigelloides*, gram-ujemna pałeczka należąca do rodziny *Enterobacteriaceae*, izolowana z różnorodnych środowisk, w tym ze świeżej wody i od licznych zwierząt - zarówno domowych, jak i dziko żyjących. Wywołane przez *P. shigelloides* zapalenie żołądka i jelit jest często następstwem spożywania owoców morza, a także picia skażonej wody lub używania jej do przygotowywania surowej żywności.¹⁰ Objawy to przede wszystkim wodnista biegunka z możliwością występowania biegunki dyzenterycznej, a infekcje mogą przedłużać się na okres ponad dwóch tygodni, chociaż najczęściej samoistnie ograniczają się.²⁰ Większość przypadków zgłaszanych w USA to osoby, które wcześniej miały problemy zdrowotne prowadzące do poważniejszych chorób.²¹ Powszechność infekcji *Plesiomonas* na terenie USA, UE i innych regionów jest nieznana.

Salmonella *Salmonella enterica* i *S. bongori* są jedynymi przedstawicielami rodzaju *Salmonella*. Rozpoznano ponad 2500 różnych serotypów *Salmonella*, przy czym większość tych patogenicznych należy do gatunku *S. enterica*.²² Te ruchliwe, gram-ujemne, fakultatywne pałeczki znane są powszechnie jako powodujące skażenie żywności, głównie mięsa czerwonego i drobiowego, produktów rolnych i żywności przetworzonej. Salmoneloza, czyli choroba wywołana przez *Salmonellę*, może być sklasyfikowana jako durowa lub jelitowa, ze względu na to, jaką wywołuje chorobę: Salmoneloza jelitowa, która jest powszechną chorobą pokarmową na terenie USA i UE, objawia się z ostrymi, wodnistymi biegunkami, którym często towarzyszy gorączka. Salmoneloza durowa natomiast objawia się jako ostra, ogólnoustrojowa choroba (gorączka durowa). Jej przypadki w krajach rozwiniętych stanowią rzadkość, inaczej jednak jest w krajach rozwijających się (ponad 70% przypadków odnotowywanych w USA to następstwo podróży zagranicznych).² Odwrotna sytuacja ma miejsce w przypadku salmonelozy jelitowej, która jest najczęstszą chorobą pokarmową w USA i UE, z ponad milionem przypadków rocznie.^{12,13} Choć zdarzają się spore ogniska infekcji, w większości są to sporadyczne przypadki, zdarzające się najczęściej pod koniec lata i na początku jesieni, a dotyczą przede wszystkim dzieci w wieku poniżej 5 lat.²³ Zapalenie żołądka i jelit spowodowane przez bakterię *Salmonella* jest samoograniczające się, z wyjątkiem przypadków ostrych lub salmonelozy durowej. Salmoneloza jest chorobą podlegającą zgłoszeniu w USA, a na terenie UE rejestrowaną przez TESSy.

Vibrio (V. parahaemolyticus/V. vulnificus/V. cholerae). *Vibrio* to ruchliwe, gram-ujemne przecinkowce, zwykle występujące w środowisku morskim. Kilka gatunków może wywoływać choroby u ludzi: pozajelitowe (takie jak infekcje tkanek miękkich, posocznica, zakażenia oczu i uszu) i jelitowe. Choroby żołądkowo-jelitowe w większości wynikają z zakażenia *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis*, *V. mimicus* lub *V. alginolyticus*, często będącego wynikiem spożycia skażonej żywności, głównie w regionach nadmorskich.²⁴

V. cholerae to jedyny gatunek *Vibrio* wywołujący endemiczną, silnie zakaźną i pandemiczną cholerę. Wyróżniamy trzy główne serotypy *V. cholerae*: *V. cholerae* O1, *V. cholerae* O139 oraz *V. cholerae* non-O1/non-O139. Klasyczne przypadki cholery charakteryzują się takimi objawami, jak intensywne wodniste biegunki, prowadzące do silnego odwodnienia i w następstwie do zgonu. Ostre przypadki są wywoływane przez obecność uwalnianej przez bakterie enterotoksyny (CTX). Cholera jest chorobą endemiczną w licznych częściach świata, a jej wybuchy następują po katastrofach naturalnych bądź rozruchach społecznych, w związku z czym pozostaje tam istotną przyczyną zachorowalności i śmiertelności. Nieliczne

przypadki zachorowania na cholerę na terenie USA i UE odnotowywane są u osób powracających z podróży zagranicznych.

Wibrioza i cholera są chorobami podlegającymi obowiązkowi zgłaszania w USA i rejestrowanymi przez Cholera and Other *Vibrio* Illness Surveillance Network (COVIS). Podczas gdy infekcje *V. cholerae* są w USA niezmiernie rzadkie, szacuje się, iż inne gatunki *Vibrio* wywołują ok. 50 000 infekcji pokarmowych rocznie,^{12,13} chociaż tylko ok. 400 izolatów uzyskanych ze stolca zgłoszonych zostało do COVIS w roku 2009 (w większości *V. parahaemolyticus*).²⁴ Rozbieżność pomiędzy szacowaną liczbą zachorowań i faktycznymi przypadkami wykrycia zakażenia wynika z tego, że do stwierdzenia obecności *Vibrio* w próbce stolca wymagane jest przeprowadzanie specjalistycznych badań, co sprawia, iż większość przypadków pozostaje niezdiagnozowana. W Europie ryzyko zakażenia *Vibrio* jest uważane za bardzo niskie, tym samym nie jest rejestrowane przez TESSy.²⁵

Yersinia enterocolitica to małe, gram-ujemne ziarniakowo-przecinkowce, zwykle mające postać pojedynczych komórek lub krótkich łańcuchów. *Y. enterocolitica* przenosi się poprzez spożycie skażonej żywności lub wody, często surowego lub nie do końca ściętego mięsa (zwłaszcza wieprzowego). Szacuje się, że wywołuje rocznie prawie 100 000 chorób pokarmowych w USA (lecz tylko ok. 1000 przypadków zostaje potwierdzonych laboratoryjnie, prawdopodobnie ponieważ nie jest objęta rutynowymi badaniami kontrolnymi).¹² Więcej przypadków jersiniozy odnotowuje się w Europie, zwłaszcza kontynentalnej;²⁶ w roku 2011 potwierdzono blisko 7000 przypadków.¹³ Zaostrzenie choroby wynika z rodzaju serotypu szczepu i waha się od samoograniczającego się zapalenia żołądkowo-jelitowego po nieuleczalne zapalenie krętnicy czy zapalenie węzłów chłonnych krezkowych. Ponieważ objawy przypominają zapalenie wyrostka robaczkowego, mogą prowadzić do zbędnej interwencji chirurgicznej, co uwydatnia znaczenie prawidłowego rozpoznawania tego organizmu w badaniu stolca. Jersinioza jest chorobą podlegającą obowiązkowi zgłaszania w USA i rejestrowaną przez TESSy w UE.

Wywołujące biegunkę szczepy *Escherichia coli/Shigella*

Patogeniczne szczepy *E. coli/Shigella* są poważną przyczyną chorób z towarzyszącymi im biegunkami na całym świecie. Istnieje wiele patotypów *E. coli/Shigella* wywołujących biegunkę, a różnią się one mechanizmami działania, umiejscowieniem kolonii oraz objawami klinicznymi, przebiegiem i nasileniem chorób przez nie wywoływanych. Niektóre z tych różnic wynikają z określonych czynników zjadliwości, takich jak zdolność wnikania, inwazyjność i toksyczność. Geny kodujące owe czynniki lub regulator ich ekspresji są oznaczane jako markery genetyczne w badaniu molekularnym, wykrywającym bądź wyróżniającym te patogeny.²⁷ Pięć głównych patotypów wywołujących biegunkę *E. coli/Shigella* to szczepy adherentne *E. coli* (EAEC), szczepy enteropatogenne *E. coli* (EPEC), enterotoksyczne *E. coli* (ETEC), werotoksyczne *E. coli* (STEC) oraz *Shigella*/enteroinwazyjne *E. coli* (EIEC). Każdy patotyp i jego charakterystyczne markery genetyczne omówione zostaną poniżej. Należy odnotować, iż pokazano owe markery jako poziomo przenoszone pomiędzy szczepami w procesie ewolucji tych patotypów; są one także obecne w niedawno powstałych nowych patotypach, np. *E. coli* O104:H4 (który wywołał epidemię w roku 2011), zawierającym markery genetyczne zarówno STEC jak i EAEC).

Szczepy adherentne *E. coli* (EAEC) określane są na podstawie ich zdolności do przyklejania się i tworzenia charakterystycznych stosów komórek, obserwowanych na posiewie. Taki fenotypowy opis patotypu powoduje, że grupa bakterii *E. coli* jest uznawana za bardzo heterogeniczną i mocno zróżnicowaną. Chociaż cechują się dużą różnorodnością czynników zjadliwości, nie utrzymywanych we wszystkich szczepach, większość EAEC ma plazmid agregacyjnej adherencji (pAA) (przy czym sama budowa genetyczna plazmidu może być różna).²⁸ Szczepy *aggR* w plazmidzie pAA (kodującym regulator wielu czynników zjadliwości) sklasyfikowano jako typowy EAEC, natomiast szczepy nie zawierające tego markera uważane są za atypowy EAEC. Marker *aatA* (zewnętrzne białko błonowe) jest charakterystyczne dla plazmidu pAA wielu szczepów EAEC, zarówno typowych, jak i atypowych. Przenoszenie EAEC zwykle odbywa się drogą fekalno-oralną poprzez skażoną żywność i wodę. EAEC jest przyczyną zapalnej choroby z towarzyszącymi im biegunkami, charakteryzującej się występowaniem biegunek wodnistych lub czasem krwotocznych, którym towarzyszyć może niska gorączka, wymioty i ból w obrębie jamy brzusznej. Infekcje EAEC mogą mieć także przebieg bezobjawowy. Niewiele mamy danych na temat liczby przypadków zakażenia EAEC ze względu na brak szeroko zakrojonych badań, jednak na podstawie licznych badań naukowych sugeruje się, iż EAEC jest jedną z najczęstszych przyczyn chorób z towarzyszącymi im biegunkami w USA i UE we wszystkich grupach wiekowych, utrzymujących się biegunek u dzieci i

osób będących nosicielami wirusa HIV, drugą najczęstszą przyczyną biegunek u osób podróżujących, a także powodem dużych ognisk epidemicznych na całym świecie.²⁹⁻³³

Szczepy enteropatogenne *E. coli* (EPEC) nie wytwarzają enterotoksyny ani toksyny Shiga. EPEC zawierają natomiast inne czynniki zjadliwości, takie jak kodowane przez chromosomową wyspę patogenności LEE (Locus of Enterocyte Effacement). Białko adhezyjne, intimina, jest kodowane przez gen *eae* należący do wyspy patogenności LEE i jest uznawany za decydujący marker EPEC. Szczepy mogą być dodatkowo kategoryzowane jako typowe i atypowe na podstawie tego, czy posiadają tworzące wiązki pile do kodowania plazmidów (*bfpA*; występujące w typowych szczepach EPEC). W skali globalnej powszechność infekcji EPEC szacuje się na 9,1% wśród osób leczonych ambulatoryjnie, 15,6% wśród hospitalizowanych i 8,8% u pozostałych.³⁴ Podczas gdy typowe EPEC pozostaje znaczącym patogenem u dzieci w krajach rozwijających się, to atypowe EPEC jest powszechnie obecne zarówno w krajach rozwiniętych, jak i rozwijających się.²⁷ Trzeba tu zaznaczyć, iż w przeszłości w tych pierwszych typowe EPEC były związane z wieloma śmiertelnymi epidemiami na oddziałach dla najmłodszych.¹⁰ Ogólnie ogniska EPEC mają tendencję do częstszego występowania w ciepłych miesiącach letnich oraz na początku jesieni. Choroby wywołane typowym EPEC charakteryzują się ostrą biegunką, natomiast te wywołane atypowym EPEC - uporczywą biegunką niekrwotoczną oraz wymiotami z gorączką.²⁷ Nielezione choroby wywołane przez EPEC prowadzą u dzieci do niedożywienia oraz związanych z tym wad rozwojowych. Wyniki pewnych badań wskazują, iż liczba osób będących nosicielami EPEC, u których nie występują żadne objawy, jest taka sama, jak u nosicieli EPEC z objawami.²⁷

Szczepy enterotoksyczne *E. coli* (ETEC). Obecność termostabilnych (*st*) lub termolabilnych (*lt*) enterotoksyn określa enterotoksyczność *E. coli* (ETEC). Toksyny te (mogące występować razem lub osobno w szczepach ETEC) łączą się z komórkami nabłonkowymi jelit, prowadząc do utraty elektrolitów, czego wynikiem jest wodnista biegunka. ETEC to poważna przyczyna biegunki w krajach rozwijających się - zwłaszcza u dzieci - oraz najczęstsza bakteryjna przyczyna biegunek wodnistych u podróżujących obywateli USA i UE, powracających z zagranicy (często zwanych biegunką podróżnych).^{10,29} W latach 1975-1999 odnotowano 33 wybuchy ETEC na terenie USA.³⁵ Szczepy te są przenoszone drogą fekalno-oralną i stają się coraz bardziej powszechnym patogenem pokarmowym.²⁹ Należy tu zaznaczyć, iż infekcje ETEC pozostają w większości niezdiagnozowane i często nie zgłaszane z powodu trudności z ich stwierdzeniem, a także ponieważ zainfekowane osoby dorosłe często nie zgłaszają się do leczenia, gdyż zakażenie mija w ciągu kilku dni przy odpowiednim postępowaniu (uzupełnianie płynów). Infekcja ETEC może także przebiegać bezobjawowo.²⁷

Szczepy werotoksyczne *E. coli* (STEC), w tym *E. coli* O157. Istnieją dwa główne rodzaje toksyny Shiga: Shiga 1 i Shiga 2 (Stx1, Stx2), zwane także werotoksynami. *E. coli* produkujące toksynę Shiga (STEC) może zawierać jeden lub obydwa geny *stx*. ETEC jest główną przyczyną biegunek krwotocznych^{10,36} i może prowadzić do potencjalnie śmiertelnej choroby, jaką jest zespół hemolityczno-mocznicowy (HUS - haemolytic uremic syndrome, wywoływany przez niszczące czerwone ciała krwi toksyny Shiga, doprowadzające również do niewydolności nerek), zwłaszcza u osób bardzo młodych i w wieku podeszłym. STEC są istotnym patogenem pokarmowym, a infekcje nimi mogą wynikać z kontaktu z wodą, a także z osobami lub zwierzętami (zwłaszcza bydłem, często będącym nosicielem). Terapia antybakteryjna przeciwko STEC może zwiększać ryzyko zachorowania na HUS, zwłaszcza w przypadku infekcji szczepami odpornymi na antybiotyki w wyniku zwiększenia produkcji, a tym samym dostępnych ilości werotoksyn. Z tego powodu rozpoznanie ich obecności u pacjenta z nieżytem żołądkowo-jelitowym może pomóc w decyzji, czy należy zastosować w jego przypadku terapię antybiotykową.

Istnieją szczepy serotypów STEC, które mają antygen O157 (oraz antygen rzęskowy H7). *E. coli* O157:H7 jest obecnie najczęściej rozpoznawaną przyczyną biegunkowej infekcji *E. coli* w Ameryce Północnej. Liczba przypadków infekcji STEC wynosi w USA ponad 170 000 rocznie STEC, z czego ponad 73 000 zachorowań i 60 zgonów rocznie spowodowanych jest bezpośrednio przez *E. coli* O157.^{2,12} Podobne dane uzyskano na terenie UE.¹³ Oznaki infekcji mogą mieć zakres od łagodnych biegunek niekrwotocznych po krwotoczne zapalenie jelita grubego i HUS. Szacuje się, że 4% zakażeń O157:H7 prowadzi do HUS, a jednocześnie ten serotyp *E. coli* jest odpowiedzialny za 80% zachorowań na HUS.³⁷ Wystarczy nawet niewielka dawka infekcyjna przy bezpośrednim kontakcie z osobą zakażoną, jednak najczęściej choroby spowodowane są spożyciem skażonego mielonego mięsa wołowego, gdyż nabiał i bydło są często rezerwuarami tej bakterii. Mimo iż STEC O157:H7 pozostaje najczęściej rozpoznawanym serotypem STEC, odpowiedzialnym za zachorowania u ludzi na całym świecie, to choroby spowodowane przez STEC non-O157 są coraz powszechniejszą przyczyną biegunek występujących zarówno sporadycznie, jak i w postaci ognisk zapalnych.²⁷ Przypadki zakażeń STEC

non-O157 pozostają w większości niedoszacowane, jako że badania głównie koncentrują się na wykrywaniu *E. coli* O157. Zakażenia STEC (w tym *E. coli* O157) podlegają obowiązkowi zgłoszenia w USA i są rejestrowane przez TESSy w UE.

Shigella / szczepy enteroinwazyjne *E. coli* (EIEC). Gatunek *Shigella* ma cztery podgrupy: A (*S. dysenteriae*), B (*S. flexneri*), C (*S. boydii*) i D (*S. sonnei*). Wszystkie *Shigella* są nieruchliwymi, gram-ujemnymi pałeczkami, zwykle przenoszonymi przez kontakt z osobą zakażoną lub przez spożycie skażonej żywności lub wody (jedyne znane rezerwuaria tej bakterii są ludzie i małpy człekokształtne). Infekcje najczęściej występują tam, gdzie warunki higieniczne są pogorszone (na przykład w warunkach instytucjonalnych, takich jak miejsca opieki dziennej czy żłobki) i mogą przybrać postać endemiczną w społeczeństwach rozwijających się, pozbawionych bieżącej wody i kanalizacji.¹⁰ *Shigella* odpowiada za wiele chorób, takich jak szigelozę (czerwonka bakteryjna), powodującą biegunki krwotoczne lub niekrwotoczne.

Szczepy enteroinwazyjne *E. coli* (EIEC), w odróżnieniu od większości *E. coli*, nie powodują dekarboksylacji lizyny ani fermentacji laktozy. Szczepy EIEC zawierają plazmid kodujący zjadliwe czynniki (takie jak plazmid inwazyjności *ipaH*) umożliwiające bakteriom zaatakowanie okrężnicy, czego skutkiem są wodniste biegunki identyczne jak te wywołane przez *Shigellę*. EIEC rzadko występują na terenie USA i UE, są też mniej powszechne globalnie niż ETEC czy EPEC.¹⁰ Leczenie infekcji *Shigellą* i EIEC jest prowadzone w ten sam sposób.

We wszystkich czterech gatunkach *Shigelli* (*S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* oraz *S. sonnei*), a także w plazmidzie wirulencji szczepów enteroinwazyjnych *E. coli* (EIEC) występują wielokrotnie kopie genu *ipaH*.^{38,39} *IpaH*, wraz z innymi czynnikami kodowanymi przez plazmid inwazyjności, ułatwia wniknięcie *Shigelli* i EIEC do komórek nosiciela. Jest on wspólnym celem badań molekularnych prowadzonych w laboratoriach.^{38,39}

Szacuje się, że w USA rokrocznie występuje ok. 130 000 zakażeń bakterią *Shigella* powiązanych z chorobami pokarmowymi,¹² brak natomiast danych dla EIEC. Szigelozę jest chorobą podlegającą zgłoszeniu w USA, a na terenie UE rejestrowaną przez TESSy.

Pasożyty

Cryptosporidium to rodzaj pierwotniaków powodujących zakażenia żołądkowe i jelitowe oraz przewodów żółciowych u ludzi na skutek spożycia odpornych na działanie chloru oocyst, znajdujących się w kale i mogących skażyć wodę pitną, zbiorniki wodne oraz żywność. *Cryptosporidium* są jednymi z najczęściej spotykanych pasożytów wywołujących biegunkę w krajach rozwiniętych:⁴⁰ szacuje się, że każdego roku w USA dochodzi do 60 000 przypadków zachorowań w wyniku infekcji tym pierwotniakiem,¹² najczęściej w miesiącach letnich.²³ Spośród 10 gatunków wywołujących zakażenia u ludzi najpowszechniejszymi są *C. hominis* i *C. parvum*.¹⁰ Choroby zwykle objawiają się krótkotrwałym zapaleniem żołądka i jelit, przemijającym bez leczenia, ale u osób z obniżoną odpornością - zwłaszcza u chorych na AIDS - choroba może mieć przebieg ostry, długotrwały lub nieprzerwany, a nawet prowadzić do śmierci. Infekcja *Cryptosporidium* jest chorobą podlegającą zgłoszeniu w USA, a na terenie UE rejestrowaną przez TESSy.

Cyclospora cayatanensis to pierwotniaki pasożytnicze, powodujące zapalenie żołądka i jelit u ludzi, będących jedynymi znanymi nosicielami. Nieprzetrwalnikowe oocysty znajdują się w kale i dopiero po okresie dojrzewania (trwającym od kilku dni do kilku tygodni) stają się zakaźne i w przypadku spożycia zakażonej żywności lub wody mogą wywoływać chorobę.¹⁰ Najwięcej przypadków odnotowywanych jest w regionach tropikalnych i subtropikalnych, tam, gdzie panuje klimat ciepły i gorący. W USA i UE zakażenie najczęściej występuje jako biegunka podróżnych u osób powracających z obszarów endemicznych. Ogniska zakaźne mogą być także spowodowane spożywaniem skażonej żywności pochodzącej z innych krajów.^{10,41} Szacuje się, że rocznie w Stanach Zjednoczonych dochodzi do ok. 11 000 przypadków chorób wywołanych drogą pokarmową przez *C. cayatanensis*,¹² jednak z powodu trudności w diagnozowaniu faktyczna zachorowalność może być wyższa.⁴² Choroba objawia się biegunkami niekrwotocznymi, które mogą trwać do kilku miesięcy. Cyclosporoza jest chorobą podlegającą zgłoszeniu w USA, ale nie rejestrowaną na terenie UE przez TESSy.

Entamoeba histolytica to patogeniczne pierwotniaki występujące na całym świecie, najpowszechniej jednak w regionach tropikalnych i subtropikalnych. Cysty *E. histolytica* dostają się do organizmu poprzez spożycie żywności i wody skażonych fekaliami, ale mogą być również przenoszone drogą płciową.¹⁰ Ludzie są głównym rezerwuarem tego pasożyta. Większość infekcji *E. histolytica* przebiega bezobjawowo, część jednak może prowadzić do pelzakowicy (amebozy) inwazyjnej, wywołującej zapalenie jelita grubego lub czerwonkę pelzakową, o przebiegu ostrym, z pelzakowym ropieniem wątroby. Ze względu na to, że zakażenie *E. histolytica* trudno odróżnić od zakażenia niepatologicznym *E. dispar* przy użyciu bieżących standardów badań klinicznych (mikroskopu), wielkość zjawiska jest nieznana.⁴³ W regionach endemicznych u nawet 50% ludności *Entamoeba* może być obecna w stolcu, ocenia się również, że na całym świecie ok. 500 milionów ludzi zaraża się nią każdego roku. Przypuszczalnie *E. dispar* jest 10-krotnie powszechniejsza, co oznacza ok. 50 milionów infekcji *E. histolytica* skutkujących ponad 100 000 zgonów.⁴⁴ Badanie FilmArray GI Panel na obecność *E. histolytica* wykazuje reaktywność krzyżową przy wysokich poziomach *E. dispar*.

Giardia lamblia (nazywane również *G. duodenalis* i *G. intestinalis*) to występujące na całym świecie pasożytnicze wiciowce kolonizujące jelita. *Giardia* jest najczęściej ilozowanym na terenie USA i UE pasożytem jelitowym i globalnie główną przyczyną parazytozy.^{12,13,40} Najbardziej narażone na infekcje są dzieci w żłobkach i przedszkolach, podróżujący i osoby o obniżonej odporności. Zachorowalność na skutek zakażenia *G. lamblia* wynosi ok. 1-7% populacji w krajach rozwiniętych i aż 50% w krajach rozwijających się.¹⁰ Pasożyt ten przenoszony jest poprzez skażoną żywność i wodę, prowadząc rocznie do ok. 77 000 chorób pokarmowych w USA.¹² Do największej liczby infekcji dochodzi w miesiącach letnich.²³ Większość zakażeń jest bezobjawowa, niekiedy jednak powoduje nudności, gorączkę i wodniste biegunki,⁴⁵ zwykle też są one samoograniczające się; symptomy mogą jednak przyjąć postać długotrwałą, a u części osób przechodzić w chorobę przewlekłą, prowadzącą do komplikacji. Lambioza jest chorobą podlegającą zgłoszeniu w USA, a na terenie UE rejestrowaną przez TESSy.

Wirusy

Adenowirus F 40/41. Adenowirusy to wirusy o dwuniciowym DNA, należące do rodziny *Adenoviridae*, powodujące wiele chorób, w tym dróg oddechowych i żołądkowo-jelitowe. Ich powszechna obecność w środowisku i łatwość przenoszenia wynika z odporności fizycznej i chemicznej. Wyróżnia się siedem gatunków adenowirusów (A-G), podzielonych dalej na ok. 57 serotypów, przy czym choroby żołądkowo-jelitowe głównie wywoływane są przez gatunki F (serotypy 40 i 41). Adenowirus F 40/41 odpowiada za 5 do 15% wszystkich ostrych chorób z towarzyszącymi im biegunkami u dzieci (zwłaszcza tych, które nie ukończyły drugiego roku życia).¹⁰ Do zakażenia dochodzi najczęściej drogą oralno-fekalną, a rejestrowanymi ich ogniskami są szpitale oraz żłobki i przedszkola. Najbardziej podatne na infekcje są dzieci, ale narażeni na nie są także dorośli.¹⁰ Choroba ma zwykle przebieg łagodny, choć relatywnie długotrwały (5-12 dni). W przypadku osób o obniżonej odporności ma przebieg długotrwały, z przewlekłymi biegunkami i innymi powikłaniami. Po przebytej chorobie obecność wirusów w stolcu może się jeszcze utrzymywać tygodniami i miesiącami, dlatego tak ważne jest zdiagnozowanie i odizolowanie osób zakażonych, aby nie dopuścić do rozprzestrzeniania się zakażenia.

Astrowirus. Astrowirusy (wirusy RNA należące do rodziny *Astroviridae*) nazwę swą zawdzięczają charakterystycznej, gwiazdastej strukturze, a ich nosicielami są zwierzęta, w tym ptaki i ssaki. Istnieje osiem serotypów ludzkiego astrowirusa (HAstV 1-8) wywołującego zapalenie żołądka i jelit zarówno u dzieci, jak i osób dorosłych.¹⁰ Do infekcji dochodzi drogą fekalno-oralną, a do grup ryzyka należą dzieci, dorośli o obniżonej odporności, opiekunowie dzieci chorych, żołnierze skoszarowani i osoby przebywające w domach opieki. Szacuje się, że każdego roku na terenie USA dochodzi do ponad 15 000 przypadków chorób pokarmowych wywołanych astrowirusem,¹² dokładna liczba nie jest jednak znana z powodu ograniczonego zasięgu badań diagnostycznych. Objawy są łagodniejsze niż w przypadku infekcji innymi enterowirusami, a należą do nich: biegunka, wymioty, ból w obrębie jamy brzusznej i gorączka trwająca 72 godziny.⁴⁶ Istnieje 70-90% seroprewalencja przeciwciał przeciw astrowirusom u dzieci w wieku szkolnym,¹⁰ co wskazuje ogromną powszechność ekspozycji w tej grupie wiekowej, przy czym sama obecność przeciwciał i ich znaczenie dla odporności nie jest dokładnie znane.⁴⁷

Norowirus GI/GII. Norowirusy to wysoce zakaźne wirusy z rodziny wirusów RNA *Caliciviridae* i można je podzielić na pięć genogrup (GI – GV). GI, GII oraz GIV występują głównie u ludzi (przy czym GIV jest bardzo rzadki) powodując zapalenie żołądka i jelit o przebiegu od umiarkowanego po ostry i objawiające się przede wszystkim nudnościami, wymiotami oraz biegunką z towarzyszącą gorączką. Do zakażenia dochodzi drogą fekalno-oralną lub drogą kropelkową z wymiocin, a dawka zakaźna może wynosić już 18 cząsteczek.⁴⁸ Objawy zakażenia zwykle utrzymują się 24 do 48 godzin⁴⁹, a choroba jest samoograniczająca się, przy czym osoby o obniżonej odporności mogą cierpieć na przewlekłe biegunki, a u niektórych dzieci stwierdzono rozwój martwiczego zapalenia jelit. Ogniska chorobowe powszechnie rozwijają się w zamkniętych społecznościach, na przykład na statkach rejsowych, w szpitalach, żłobkach i przedszkolach, szkołach oraz koszarach. Zakażenia norowirusami są główną przyczyną pokarmowego zapalenia żołądka i jelit w USA, odpowiadając za niemal 5,4 miliona zachorowań rocznie (w tym ponad 14 000 hospitalizacji)¹², a na terenie UE stanowią znaczącą przyczynę chorób.¹³ Do zachorowań dochodzi głównie w miesiącach zimowych.⁵⁰ Odporność nabyta po przebytych zakażeniach norowirusem jest krótkotrwała, gdyż może się ono ponownie pojawić już 6 miesięcy, nawet przy wysokim mianie przeciwciał w surowicy.⁵¹

Rotawirus A. Rotawirusy to dwuniciowe wirusy RNA z rodziny *Reoviridae*, będące najważniejszym czynnikiem etiologicznym ostrych chorób z towarzyszącymi im biegunkami u niemowląt i najmłodszych dzieci na całym świecie.^{52,53} Istnieje siedem grup rotawirusów (od A do G), przy czym tylko rotawirusy A, B i C powodują zakażenia u ludzi, z czego najczęściej - rotawirus A.¹⁰ Objawy infekcji mogą być łagodne i utrzymywać się przez kilka dni, jednakże choroby o długotrwałym przebiegu czasami prowadzą do odwodnienia u dzieci w wieku poniżej 2 lat, a w krajach rozwijających się zakażenia rotawirusem A są znaczącą przyczyną śmiertelności niemowląt.¹⁰ Rotawirusy są rozprzestrzeniane przed i po akumulacji choroby i są odporne na czynniki środowiskowe, co pozwala im przetrwać na powierzchniach, opierając się unieczynnieniu. Do największej liczby zachorowań dochodzi na przełomie zimy i wiosny w klimacie umiarkowanym. Wirus ten może odpowiadać wówczas nawet za jedną trzecią chorób z towarzyszącymi im biegunkami, na izbach przyjęć i w przychodniach USA i UE.^{54,55} Ocenia się, iż rocznie zakażenia rotawirusem jest przyczyną 2,7 miliona chorób z towarzyszącymi im biegunkami w USA.⁵⁶ Odporność nabyta po infekcji uważana jest za długotrwałą. Istnieją dwie, stosowane na całym świecie szczepionki przeciwko rotawirusowi A: Rotarix (RV1) i RotaTeq (RV5). RotaTeq wprowadzono w USA do programu szczepień w roku 2006⁵², co obniżyło liczbę przypadków infekcji tym wirusem.⁵⁷

Sapowirus (genogrupa I, II, IV i V). Sapowirus należy do rodziny *Caliciviridae* i zarówno pod względem genetycznym, jak i chorobotwórczym przypomina norowirusa. Istnieje pięć genogrup (GI–GV); grupy GI, GII, GIV i GV powodują zakażenia u ludzi, natomiast GIII wywołuje choroby z towarzyszącymi im biegunkami u świń. Sapowirusy wywołują choroby głównie u dzieci, ale podatne na nie są również osoby dorosłe. W USA i UE stwierdzono, że ogniskami chorób są instytucje długotrwałej opieki, więzienia, statki rejsowe i szpitale.^{58,59} Podobnie jak norowirus, sapowirusy rozprzestrzeniają się drogą fekalno-oralną, a do większości infekcji dochodzi w miesiącach zimowych. Ich objawami są głównie wymioty i biegunka z towarzyszącymi nudnościami i gorączką, utrzymująca się 5 do 10 dni.^{60,61} Choroba w większości przypadków jest samoograniczająca się, a leczenie polega na łagodzeniu objawów. Ocenia się, że rocznie infekcje skutkują 15 000 chorób pokarmowych w USA,¹² jednak faktyczna liczba przypadków może być większa ze względu na bardzo ograniczone możliwości przeprowadzania badań.

Zasady przeprowadzania procedur

Saszetka FilmArray RP to kompletny zestaw zawierający wszystkie odczynniki chemiczne niezbędne do izolacji, amplifikacji i detekcji kwasów nukleinowych z wielu patogenów żołądkowo-jelitowych, zawartych w stolcu. Zasobniki w sztywnej, plastikowej części (mocowaniu) saszetki FilmArray GI wypełnione są liofilizowanymi odczynnikami, natomiast część elastyczna saszetki podzielona jest na oddzielne segmenty (pęcherzyki), w których przebiegają właściwe, wymagane procesy chemiczne. Użytkownik oznaczenia FilmArray GI Panel umieszcza próbkę w saszetce FilmArray GI, wprowadza saszetkę do urządzenia/Module FilmArray i uruchamia cykl. Pozostałe procesy przebiegają automatycznie.

Procedura badania odbywa się w następujący sposób:

1. Wyjąć saszetkę FilmArray z hermetycznego opakowania. Należy to zrobić przed samym badaniem, ponieważ płyny są wciągane do saszetki FilmArray GI przez podciśnienie.

- Umieścić saszetkę FilmArray GI w FilmArray Pouch Loading Station (stacji ładowania saszetek FilmArray). Znajdujące się na niej informacje obrazkowe w postaci kolorowych strzałek pomagają w prawidłowym osadzeniu saszetki.
- Wprowadzić Hydration Solution (roztwór uwadniający) do saszetki FilmArray GI używając do tego celu Hydration Injection Vial (strzykawka z roztworem uwadniającym). Strzykawka wyposażona jest w tępą, wykonaną ze stali nierdzewnej kaniulę, przez którą roztwór trafia do saszetki, nawodniając znajdujące się w jej mocowaniu liofilizowane odczynniki.
- Przygotować Sample Injection Vial (strzykawka z próbką) wyciskając do niej zawartość ampułki z Sample Buffer (buforem próbki). Dokładnie wymieszać próbkę kału (znajdącą się w wymazówce z podłożem Cary Blair) i przenieść Transfer Pipette (pipetę transferową) do Sample Injection Vial (strzykawki z próbką). Zamknąć ją szczelnie i obrócić przynajmniej trzykrotnie, aby wymieszać jej zawartość. Sample Buffer (bufor próbki) zawiera czynniki ułatwiające powiązywanie kwasów nukleinowych z kulkami paramagnetycznymi do wyodrębniania.
- Za pomocą znajdującej się w zestawie Sample Injection Vial (strzykawki z próbką) załadować mieszaninę próbki i buforu do saszetki FilmArray GI. Po załadowaniu tej mieszaniny w części będącej mocowaniem saszetki rozpocznie się proces kontroli na próbce, który monitoruje wszystkie krytyczne procesy zachodzące w saszetce.
- Przenieść saszetkę do urządzenia/Module i uruchomić cykl. Oprogramowanie FilmArray wyświetla na ekranie animacje przedstawiające czynności, których wykonanie jest niezbędne w celu uruchomienia cyklu.
- Po zakończeniu cyklu można zobaczyć wyniki testu w postaci raportu.

Operacje i procesy zachodzące w trakcie cyklu w urządzeniu FilmArray:

- Oczyszczanie kwasów nukleinowych** - oczyszczanie kwasów nukleinowych zachodzi w pierwszych trzech pęcherzykach saszetki. Próbkę poddana zostaje lizie zarówno chemicznej, jak i mechanicznej (przez bead beater) a uwolniony kwas nukleinowy jest przechwytywany, przemywany i eluowany z wykorzystaniem technologii mikrocząstek magnetycznych. Wykonanie powyższych czynności trwa ok. 10 minut, a w pierwszych kilku minutach działania bead beater wydaje wysoki dźwięk.
- Odwrotna transkrypcja i pierwszy stopień multipleksowej PCR** - ponieważ GI Panel zawiera wirusy RNA, przed amplifikacją przeprowadzana jest odwrotna transkrypcja (RT) w celu przekształcenia RNA wirusa w cDNA. Oczyszczony roztwór z kwasem nukleinowym zostaje połączony ze wstępnie podgrzaną mieszaniną główną, aby rozpocząć etap RT i następujący po nim termocykl multipleksowej PCR. Zadaniem pierwszego stopnia multipleksowej PCR jest wzbogacenie docelowych kwasów nukleinowych obecnych w próbce.
- Drugi stopień PCR** - produkty pierwszego stopnia PCR zostają rozcieńczone i mieszane ze świeżymi odczynnikami PCR zawierającymi fluorescencyjny barwnik wtrącany w DNA (LCGreen® Plus, BioFire Diagnostics, LLC). Roztwór ten rozprowadzany jest na matrycy w trakcie drugiego stopnia PCR. W każdym dołku matrycy znajdują się primery do różnych badań (każdy potrójnie), które oznaczają określone, specyficzne sekwencje kwasów nukleinowych w każdym z wykrytych patogenów, jak również służą do przeprowadzania kontroli na materiale próbnym. Primery te są „zagnieżdżone” - czy wbudowane - w specyficzne produkty reakcji multipleksowej pierwszego stopnia, przez co zwiększa się czułość i swoistość reakcji.
- Analiza topnienia DNA** - po drugim stopniu PCR temperatura powoli wzrasta, a zmiany we fluorescencji w każdym dołku matrycy są kontrolowane i analizowane celem wykreślenia krzywej topnienia. Temperatura, przy której specyficzny produkt PCR topnieje (określana jako temperaturą topnienia - T_m) jest stała i przewidywalna, zatem oprogramowanie FilmArray automatycznie oszacowuje dane uzyskane w każdym z jednakowych dołków i z każdego badania, po czym sporządza raport z wynikiem. W rozdziale „Interpretacja wyników” znajduje się wyjaśnienie, jak odczytywać dane i raporty.

Oprogramowanie FilmArray kontroluje pracę urządzenia/Module, gromadzi i analizuje dane oraz automatycznie generuje raport z oznaczenia po zakończeniu cyklu. Cały proces trwa około godziny. Dalsze informacje można znaleźć w odpowiednim podręczniku operatora urządzenia FilmArray.

MATERIAŁY ZNAJDUJĄCE SIĘ W ZESTAWIE

Każdy zestaw zawiera wystarczającą ilość odczynników do przeprowadzenia badań 30 lub 6 próbek (zestaw 30-saszetkowy lub 6-saszetkowy):

- osobno pakowane saszetki FilmArray GI Panel;
- jednorazowe ampułki Sample Buffer (z buforem próbki) o pojemności 1,0 ml;
- jednorazowe napełnione Hydration Injection Vial (strzykawki z roztworem uwadniającym) o pojemności 1,5 ml (niebieska zatyczka);
- jednorazowe Sample Injection Vial (strzykawki z próbką) (czerwona zatyczka)
- osobno pakowane Transfer Pipette (pipety)

MATERIAŁY POTRZEBNE, ALE NIE ZNAJDUJĄCE SIĘ W ZESTAWIE

System FilmArray, w tym:

- FilmArray, FilmArray 2.0 lub FilmArray Torch i oprogramowanie
- Stacja FilmArray Pouch Loading Station (Stacja ładowania saszetek FilmArray)

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Ogólne środki ostrożności

1. Wyłącznie do stosowania w diagnostyce *in vitro*
2. Sprzedaż niniejszego urządzenia może odbyć się tylko na zlecenie lekarza lub do laboratoriów klinicznych, a jego obsługą może zajmować się wyłącznie lekarz lub osoba przez niego upoważniona.
3. Interpretacji wyników badania przeprowadzonego przez urządzenie FilmArray GI Panel może dokonywać wyłącznie przeszkolony pracownik służby zdrowia, uwzględniając również objawy występujące u pacjenta oraz wyniki z innych testów diagnostycznych.
4. Saszetki FilmArray GI są przeznaczone do stosowania wyłącznie z systemami FilmArray.
5. Należy zawsze sprawdzać termin przydatności do użycia saszetki i nie używać saszetek przeterminowanych.
6. Saszetki FilmArray są pakowane próżniowo, w osobnych pojemnikach. Aby zachować próżnię saszetki i zapewnić jej prawidłowe działanie, przed rozpakowaniem saszetek należy się upewnić, że urządzenie/Module FilmArray jest dostępne i sprawne.

Wytyczne dotyczące bezpieczeństwa

1. Stosować odpowiednie środki ochrony osobistej (ŚOO), takie jak m.in. jednorazowe rękawice bezpudrowe oraz fartuchy laboratoryjne. Chronić skórę, oczy i błony śluzowe. Podczas pracy z odczynnikami lub próbkami zmieniać często rękawice.
2. Traktować wszystkie próbki i zużyte materiały jako potencjalne nośniki substancji zakaźnych. Przestrzegać zasad bezpieczeństwa, takich jak zawarte w CDC/NIH *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*,⁶² CLSI Document M29 *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*,⁶³ lub innych odpowiednich wytycznych.
3. Stosować się do procedur bezpieczeństwa pracy z próbkami biologicznymi, obowiązujących na terenie Państwa placówki.
4. Utylizować materiały wykorzystane w trakcie badań - w tym odczynniki, próbki i zużyte próbówki po buforach - zgodnie z przepisami obowiązującymi na terenie kraju lub placówki.
5. Sample Buffer (bufor próbki) ma następującą klasyfikację w karcie charakterystyki substancji: ostra toksyczność (kat. 4), poważne uszkodzenie oczu (kat. 1) oraz działanie drażniące na skórę (2 kategoria). Prosimy zapoznać się z kartą charakterystyki substancji (KChS/KChSN) FilmArray Reagent Kit, która zawiera więcej informacji na ten temat.
6. Po zmieszaniu z podchlorynem lub innym środkiem dezynfekującym Sample Buffer (bufor próbki) wytwarza substancje niebezpieczne oraz opary.

OSTRZEŻENIE: nigdy nie należy dodawać podchlorynu do buforu próbki oraz odpadów zawierających resztki próbki.

Środki ostrożności stosowane w laboratorium

1. Zapobieganie skażeniu biologicznemu

Ze względu na specyfikę systemu FilmArray GI Panel należy chronić miejsce pracy przed kontaminacją, starannie przestrzegając procedur badawczych podanych w niniejszej instrukcji, w tym następujących zasad:

- Próbki kału mogą zawierać wiele mikroorganizmów chorobotwórczych. Aby nie doprowadzić do zakażenia, należy pracować z nimi w kabinie bezpieczeństwa mikrobiologicznego. Przy braku możliwości korzystania z kabiny bezpieczeństwa mikrobiologicznego należy podczas przygotowywania próbek używać komorę nastołową (np. stację roboczą PCR AirClean), ekran ochronny przeciwbryzgowy (np. Bel-Art Scienceware Splash Shields) lub osłonę twarzy.
- W kabinie bezpieczeństwa mikrobiologicznego lub na stanowisku pracy używanych do badań stolca w kierunku obecności patogenów (np. wykonywania posiewu lub EIA) nie należy przygotowywać próbek ani ładować saszetek.
- Przed pracą z próbkami należy dokładnie wyczyścić miejsce pracy oraz FilmArray Pouch Loading Station (stację ładowania saszetek FilmArray) stosując odpowiedni preparat, taki jak świeżo przygotowany 10% roztwór podchlorynu lub podobny środek dezynfekujący. Przemywanie wydezynfekowanych powierzchni wodą zapobiega tworzeniu się osadów i zakłóceniu przebiegu PCR.
- Należy jednorazowo pracować tylko z jedną próbką lub saszetką.
- Na czas wyjmowania materiałów z większych opakowań należy zakładać czyste rękawice. Gdy opakowania te nie są używane, powinny pozostawać szczelnie zamknięte.
- Po każdym przygotowaniu próbki należy rutynowo zmieniać rękawice i oczyszczać miejsce pracy.

2. Zapobieganie kontaminacji amplikonem

Częstym problemem w badaniach z wykorzystaniem PCR jest uzyskiwanie wyników fałszywie dodatnich z powodu kontaminacji obszaru roboczego amplikonami uzyskanymi w wyniku tej reakcji. Ponieważ saszetka FilmArray GI jest systemem zamkniętym, to o ile po badaniu nie zostanie uszkodzona, ryzyko takiej kontaminacji jest niewielkie. Aby nie doszło do kontaminacji amplikonem, należy przestrzegać następujących zasad:

- natychmiast po zakończeniu cyklu usunąć zużytą saszetkę do odpowiedniego pojemnika na odpady skażone;
- jak najmniej dotykać saszetki po zakończeniu cyklu;
- chronić saszetki przed ostrymi przedmiotami i ogólnie wszystkim, co mogłoby je przebić.

OSTRZEŻENIE: W razie zaobserwowania obecności płynu na zewnątrz saszetki płyn i saszetkę należy niezwłocznie odizolować i wyrzucić do pojemnika na odpady stanowiące zagrożenie biologiczne. Urządzenie i obszar roboczy należy odkazić w sposób opisany w odpowiednim podręczniku operatora urządzenia/Module FilmArray.

NIE PRZEPROWADZAĆ DALSZYCH OZNACZEŃ DO MOMENTU ODKAŻENIA OBSZARU.

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

Lokalne, stanowe i federalne przepisy dotyczące powiadamiania o przypadkach chorób podlegających obowiązkowi zgłoszenia są stale aktualizowane i obejmują szereg drobnoustrojów, w przypadku których konieczny jest nadzór i badania epidemiologiczne⁶⁴⁶⁵. 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 stanowych i/lub lokalnych, w związku z czym powinny skontaktować się z lokalnymi i/lub stanowymi laboratoriami ds. zdrowia publicznego celem uzyskania izolatu i/lub wytycznych dotyczących przedłożenia próbki klinicznej.

PRZECHOWYWANIE, UŻYWANIE I ZACHOWYWANIE PRZYDATNOŚCI ODCZYNNIKÓW

1. Wszystkie elementy zestawu, w tym saszetki z odczynnikami i bufory, należy przechowywać i stosować łącznie w temperaturze pokojowej (15–25°C). Nie używać elementów jednego zestawu ze składnikami innego zestawu. **NIE SCHŁADZAĆ.**
2. Nie przechowywać żadnych materiałów w pobliżu źródeł ciepła i zimna oraz nie wystawiać na bezpośrednie działanie promieni słonecznych.
3. Zawsze sprawdzać datę ważności umieszczoną na saszetce lub opakowaniu zestawu i nie używać przeterminowanych odczynników.
4. Nie wyjmować saszetki z opakowania przed przygotowaniem próbki do badania. Wypakowaną saszetkę należy jak najszybciej załadować (tzn. w ciągu ok. 30 minut).
5. Po załadowaniu saszetki rozpocząć test w ciągu 60 minut.

WYMOGI POBIERANIA PRÓBEK

Poniżej przedstawiono wymogi dotyczące pobierania, przygotowania i obchodzenia się z próbkami, pozwalające uzyskać dokładne wyniki badań.

Pobieranie próbki kału – próbki kału należy pobierać do wymazówki z podłożem Cary Blair, zgodnie z instrukcjami producenta.

Minimalna objętość próbki — do badania potrzeba 0,2 ml (200 µl) próbki.

Transport i przechowywanie - przygotowanie i badanie próbki powinno się odbyć jak najszybciej po jej pobraniu, można je niemniej przechowywać w temperaturze pokojowej lub chłodniarki do czterech dni.

PROCEDURA

Należy się zapoznać z przewodnikiem dotyczącym oznaczenia FilmArray Gastrointestinal Panel, filmem instruktażowym dotyczącym urządzenia FilmArray lub odpowiednim podręcznikiem operatora urządzenia FilmArray, aby uzyskać bardziej szczegółowe instrukcje, w tym rysunkowe.

Podczas pracy z użyciem saszetek i próbek należy używać rękawic oraz środków ochrony osobistej (ŚOO). Jednorazowo można przygotować tylko jedną saszetkę FilmArray GI. Po umieszczeniu próbki w saszetce należy niezwłocznie przenieść ją do urządzenia/Module w celu rozpoczęcia cyklu. Gdy cykl dobiegnie końca, saszetkę należy wyrzucić do pojemnika na odpady skażone.

Przygotowanie saszetki

1. Dokładnie oczyścić obszar roboczy i FilmArray Pouch Loading Station (stację ładowania saszetek FilmArray) świeżo przygotowanym 10% roztworem podchlorynu (lub innym, odpowiednim środkiem dezynfekującym), a następnie przemyć wodą. Zebrać poniżej wymienione elementy i umieścić je pod wyciągiem laboratoryjnym:
 - saszetka FilmArray GI Panel
 - ampułka Sample Buffer (z buforem próbki)
 - Hydration Injection Vial (strzykawka z roztworem uwadniającym) (niebieska zatyczka)
 - Sample Injection Vial (strzykawka z próbką) (czerwona zatyczka)
 - Transfer Pipette (Pipeta transferowa)
2. Umieścić zamkniętą niebieską zatyczką Hydration Injection Vial (strzykawkę z roztworem uwadniającym) w niebieskim otworze Pouch Loading Station (stacji ładowania saszetek).
3. Umieścić zamkniętą czerwoną zatyczką Sample Injection Vial (strzykawka z próbką) w czerwonym otworze Pouch Loading Station (stacji ładowania saszetek).
4. Wziąć próbkę i umieścić ją pod wyciągiem laboratoryjnym.
5. Wyciągnąć saszetkę FilmArray GI z hermetycznego opakowania odrywając lub odcinając w zaznaczonym miejscu, po czym otworzyć aluminiowy pojemnik ochronny.

UWAGA: Jeśli próżniowe zamknięcie opakowania jest naruszone, można mimo to użyć saszetki. Należy podjąć próbę uwodnienia saszetki, wykonując czynności opisane w części Uwodnienie saszetki. Jeśli uwodnienie saszetki się powiedzie, kontynuować cykl. Jeśli uwodnienie saszetki się nie powiedzie, należy wyrzucić saszetkę i użyć nowej w celu zbadania próbki.

6. Wsunąć saszetkę do stacji Pouch Loading Station (Stacja ładowania saszetek) w taki sposób, aby etykiety czerwona i niebieska na saszetce były wyrównane względem czerwonej i niebieskiej strzałki na tej stacji.

Uwodnienie saszetki

1. Wykręcić Hydration Injection Vial (strzykawkę z roztworem uwadniającym), pozostawiając zatyczkę w Pouch Loading Station (stacji ładowania saszetek), a następnie włożyć strzykawkę do portu uwadniania saszetek, mieszczącego się bezpośrednio pod niebieską strzałką na Pouch Loading Station (stacji ładowania saszetek). Zdecydowanym, szybkim ruchem wbić ją mocno, czemu towarzyszyć może cichy dźwięk i przerwanie oporu stawianego przez zabezpieczenie. Odpowiednia ilość płynu zostanie samoczynnie wciągnięta do saszetki przez próżnię.
2. Sprawdzić, czy saszetka została uwodniona. Aby sprawdzić, czy płyn dotarł do pojemniczków z odczynnikami (znajdujących się w podstawie sztywnej, górnej części saszetki), odgiąć etykietę z kodem kreskowym. Zauważalne mogą być niewielkie bąbelki powietrza. Jeżeli uwodnienie saszetki nie powiedzie się (suche odczynniki będą miały postać białych płatków), sprawdzić, czy uszczelnienie portu zostało przebite, potwierdzić przebicie portu sprawdzając, czy kaniula strzykawki została do niego całkowicie wprowadzona. W przypadku nieudanego uwodnienia saszetki, wziąć nową i powtórzyć czynności jej przygotowywania, poczynwszy od p. 2.

Przygotowanie mieszaniny z próbką

1. Trzymać ampułkę Sample Buffer (z buforem próbki) szyjką do góry.

UWAGA: Zachować ostrożność, aby nie dotknąć końcówki w trakcie pracy, ponieważ może to doprowadzić do zanieczyszczenia.

2. Ścisnąć lekko chropowate ścianki ampułki, aby ją otworzyć.
3. Odwrócić czerwoną Sample Injection Vial (strzykawkę z próbką) i wcisnąć do niej dwoma mocnymi, zdecydowanymi ruchami Sample Buffer (bufor próbki) z ampułki, uprzednio zmieniając na niej ułożenie kciuka i palca wskazującego. Uważać, by nie powstały pęcherzyki powietrza.
4. Dokładnie wymieszać próbkę kału
5. Za pomocą narzędzia Transfer Pipette (Pipeta transferowa), dołączonego do zestawu testowego, pobrać próbkę do drugiej kreski (około 0,2 ml). Dodać próbkę do czerwonego naczynia Sample Injection Vial (Strzykawka z próbką).

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

6. Dokładnie zamknąć Sample Injection Vial (strzykawkę z próbką) i delikatnie wymieszać obracając przynajmniej trzykrotnie.
7. Ponownie włożyć Sample Injection Vial (strzykawkę z próbką) do Pouch Loading Station (stacji ładowania saszetek).

Ładowanie mieszaniny z próbką

1. Powoli obrócić naczynie Sample Injection Vial (Strzykawka z próbką), aby poluzować korek i odczekać 3–5 sekund.

UWAGA: Należy odczekać po poluzowaniu korka naczynia Sample Injection Vial (Strzykawka z próbką), aby nie doszło do wycieku próbki i zanieczyszczenia obszaru pracy.

2. Wyciągnąć Sample Injection Vial (strzykawkę z próbką) pozostawiając zatyczkę w Pouch Loading Station (stacji ładowania saszetek), a następnie włożyć końcówkę kaniuli do portu saszetki tuż pod czerwoną strzałką na Pouch Loading Station (stacji ładowania saszetek). Zdecydowanym, szybkim ruchem wbić ją mocno, czemu towarzyszyć może cichy dźwięk i przerwanie oporu stawianego przez zabezpieczenie. Odpowiednia ilość płynu zostanie samoczynnie wciągnięta do saszetki przez próżnię.

3. Sprawdzić, czy próbka została załadowana. Aby sprawdzić, czy płyn dotarł do pojemniczka z odczynnikami znajdującym się obok portu ładowania próbki, odgiąć etykietę z kodem kreskowym. Jeżeli próbka nie zostanie zaciągnięta z Sample Injection Vial (strzykawki z próbką) do saszetki, saszetkę należy wyrzucić, po czym wziąć nową i powtórzyć czynności jej przygotowywania, począwszy od p. 2.
4. Wyrzucić naczynie Hydration Injection Vial (Strzykawka z roztworem uwadniającym) i Sample Injection Vial (Strzykawka z próbką) do odpowiedniego pojemnika na odpady ostre stanowiące zagrożenie biologiczne.
5. Wpisać Sample ID (ID próbki) w zaznaczonym na etykiecie saszetki miejscu (lub przykleić kod kreskowy zawierający owo ID) i wyjąć saszetkę z Pouch Loading Station (stacji ładowania saszetek).

Uruchomienie badania saszetki

Oprogramowanie FilmArray wyświetla szczegółowe instrukcje prowadzące operatora przez cały cykl. Krótkie instrukcje dotyczące systemów FilmArray, FilmArray 2.0 oraz FilmArray Torch podano poniżej. Bardziej szczegółowe instrukcje zawierają odpowiednie podręczniki operatora urządzeń FilmArray.

System FilmArray i FilmArray 2.0

1. Upewnić się, że komputer i urządzenia FilmArray są włączone, a oprogramowanie FilmArray uruchomione.
2. Zdjąć pokrywkę dostępnego urządzenia (jeśli nie została jeszcze zdjęta).

UWAGA: Jeśli zielona kontrolka z przodu urządzenia świeci światłem ciągłym, urządzenie jest dostępne.

3. Wsunąć saszetkę FilmArray do urządzenia.

Ułożyć saszetkę w taki sposób, aby matryca znajdowała się po prawej stronie, a film był skierowany do dołu w kierunku urządzenia FilmArray. Etykiety czerwona i niebieska na saszetce FilmArray powinny być ułożone na równi z czerwoną i niebieską strzałką na urządzeniu FilmArray. Saszetka zablokuje się na miejscu. Jeśli saszetka jest włożona prawidłowo, jej kod kreskowy oraz etykieta znajdujące się na górze saszetki są widoczne. Przed przejściem do kolejnego etapu narzędzie i oprogramowanie muszą wykryć, że saszetka jest włożona prawidłowo.

UWAGA: W przypadku problemów z łatwym włożeniem saszetki do urządzenia należy ostrożnie odsunąć pokrywkę urządzenia, aż będzie całkowicie otwarte.

4. Zeskanować znajdujący się na saszetce FilmArray kod kreskowy posługując się czytnikiem kodów kreskowych. Dane identyfikacyjne saszetki (numer partii i numer seryjny), typ saszetki i protokół zaprogramowane są w znajdującym się na saszetce kodzie kreskowym, który zostanie automatycznie zapisany po jego zeskanowaniu. Jeżeli skanowanie nie będzie możliwe, informacje te (numer partii saszetki, numer seryjny, typ saszetki i protokół) można wprowadzić ręcznie. Jednak aby nie doszło do pomyłek w informacjach, stanowczo zaleca się rejestrowania danych saszetki poprzez skanowanie kodu kreskowego.
5. Wprowadzić Sample ID (ID próbki). Można wpisać własne ID próbki lub wkleić ID próbki w postaci skanowalnego kodu kreskowego.
6. W razie potrzeby zaznaczyć i/lub potwierdzić protokół z poziomu listy rozwijanej Protocol (Protokół).
7. Wypełnić pola Name (nazwa użytkownika) i Password (hasło).
8. Zamknąć pokrywkę urządzenia FilmArray.
9. Kliknąć przycisk Start Run (Uruchom cykl) na ekranie.

Po rozpoczęciu cyklu na ekranie laptopa na bieżąco ukazują się czynności wykonywane przez urządzenie oraz liczba minut pozostałych do zakończenia cyklu.

UWAGA: W ciągu kilku pierwszych minut pracy homogenizator emituje dźwięk o wysokiej częstotliwości.

10. Wyniki zakończonego cyklu zostaną przedstawione na ekranie, w części z raportem, który będzie automatycznie zapisany w bazie danych.
Wybrać **Print** (drukuj) aby wydrukować raport, albo **Save** (zapisz), aby go zapisać w postaci pliku PDF.
11. Postępować zgodnie z wyświetlanymi na ekranie poleceniami instruującymi, aby otworzyć urządzenie i wyjąć saszetkę,
12. po czym natychmiast wyrzucić ją do pojemnika na odpady skażone.

FilmArray Torch

1. Upewnić się, że system FilmArray Torch jest włączony.
2. Na ekranie dotykowym wskazać dostępne urządzenie Module.
3. Za pomocą czytnika kodów kreskowych zeskanować kod kreskowy na saszetce FilmArray.
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.
4. 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.
5. Włożyć saszetkę do urządzenia Module.
Upewnić się, że etykieta mocowania saszetki leży płasko na górze saszetki i nie uległa zagięciu. Po włożeniu saszetki urządzenie Module chwyci ją i wciągnie do komory.
6. W razie potrzeby zaznaczyć i/lub potwierdzić protokół z poziomu listy rozwijanej Protocol (Protokół).
7. 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.

8. Sprawdzić na ekranie wprowadzone dane cyklu. Jeśli są prawidłowe, wybrać pozycję Start Run (Uruchom cykl).
Po rozpoczęciu cyklu na ekranie wyświetli się lista czynności wykonywanych przez urządzenie oraz liczba minut pozostałych do zakończenia cyklu.

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

9. Po zakończeniu cyklu status urządzenia Module zmienia się na Finished (Zakończono) i nastąpi częściowe wysunięcie saszetki.
10. Z poziomu ekranu Dashboard (Pulpit nawigacyjny) wybrać pozycję Finished (Zakończono) dla urządzenia Module, aby wyświetlić raport.
Wybrać pozycję Print (Drukuj), aby wydrukować raport, lub Save (Zapisz), aby go zapisać w postaci pliku.
11. Wyjąć saszetkę z urządzenia Module i natychmiast wyrzucić ją do pojemnika na odpady stanowiące zagrożenie biologiczne.

UWAGA: po wyjęciu saszetki raport można wyświetlić wyłącznie za pomocą funkcji Browse Runs (Przeglądaj cykle).

KONTROLA JAKOŚCI

Kontrole procesu

Każda saszetka ma przypisane dwie kontrole:

1. **RNA Process Control (proces kontrolny RNA)**

RNA Process Control (proces kontrolny RNA) obejmuje transkrypcję RNA drożdży *Schizosaccharomyces pombe*. Drożdże te zawarte są w saszetce w postaci liofilizowanej, a ich uwodnienie następuje w trakcie ładowania saszetki. Materiał kontrolny przechodzi wszystkie etapy procesu badania, łącznie z lizą, oczyszczaniem kwasów nukleinowych, odwróconą transkrypcją, pierwszym stopniem PCR, rozcieńczaniem, drugim stopniem PCR oraz topnieniem DNA. Dodatni wynik końcowy oznacza, że wszystkie czynności przeprowadzane w saszetce FilmArray GI przebiegły prawidłowo.

2. **PCR2 Control (kontrola PCR2)**

Kontrola ta wykrywa docelowe DNA wprowadzone do dołków matrycy wraz z odpowiadającymi im primerami. Dodatni wynik oznacza, że drugi stopień PCR przebiegł prawidłowo.

Cykl testowy kończy się powodzeniem, gdy obie kontrole dają wynik dodatni. Gdyby choć jedna z nich dała wynik ujemny, na ekranie laptopa, w polu dotyczącym kontroli w raporcie z testu (w prawym górnym rogu) wyświetli się komunikat Failed (zakończony niepowodzeniem), a wszystkie wyniki wymienione zostaną jako Invalid (nieprawidłowe). W przypadku ujemnego wyniku kontroli należy ponownie przebadать próbkę korzystając z nowej saszetki.

Monitorowanie jakości działania systemu

Oprogramowanie FilmArray 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: 80,2–84,2 w przypadku kontroli RNA Process Control (Kontrola procesowa RNA) lub 74,1–78,1 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.^{66,67} Oznaczenie PCR2 Control (Kontrola PCR2) jest używane we wszystkich typach saszetek (np. RP, GI, ME i BCID), dlatego może być stosowane do monitorowania systemu, gdy w tym samym urządzeniu/Module FilmArray używa się wielu typów saszetek.

Dobra praktyka laboratoryjna zaleca regularne przeprowadzanie zewnętrznych kontroli z oczekiwanymi wynikami dodatnimi i ujemnymi. Do zewnętrznej kontroli ujemnej można stosować podłoże zawierające próbkę jelitową. Natomiast do zewnętrznej kontroli dodatniej użyte mogą być wcześniej stwierdzone dodatnie próbki stolca lub próbki ujemne

załadowane dobrze scharakteryzowanymi patogenami. Kontrole zewnętrzne powinny być przeprowadzane zgodnie z zaleceniami właściwych agencji normalizacyjnych (jeśli dotyczy).

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Oprogramowanie FilmArray automatycznie analizuje i interpretuje wyniki oznaczenia i wyświetla wyniki końcowe w raporcie z testu (przykładowy raport z testu można znaleźć w przewodniku dotyczącym testu FilmArray Gastrointestinal Panel). Analizy przeprowadzone przez oprogramowanie FilmArray i szczegółowe informacje na temat raportu z testu opisano poniżej.

Interpretacja badania

Po zakończeniu reakcji PCR fazy drugiej urządzenie/Module FilmArray wykonuje analizę topnienia DNA produktów reakcji PCR w wysokiej rozdzielczości i mierzy sygnał fluorescencji wygenerowany w poszczególnych studzienkach (dalsze informacje można znaleźć w podręczniku operatora urządzenia FilmArray). Oprogramowanie FilmArray wykonuje wówczas kilka analiz i wyświetla ostateczny wynik oznaczenia. Poniżej opisano etapy tych analiz.

Analiza krzywych topnienia. Oprogramowanie FilmArray ocenia krzywą topnienia DNA dla każdej studzienki matrycy reakcji PCR fazy drugiej w celu ustalenia, czy produkt reakcji PCR był obecny w tej studzience. Jeżeli produkt jest obecny, wówczas oprogramowanie wyznacza z przebiegu krzywej temperaturę topnienia (T_m). Uzyskana wartość T_m jest porównywana z zakresem oczekiwanych T_m dla danego badania. Jeśli oprogramowanie stwierdzi, że topnienie przebiegło właściwie, a punkt szczytowy krzywej topnienia znajduje się w zakresie przewidzianym dla badania, wówczas krzywa topnienia uważana jest za prawidłową. Jeżeli natomiast oprogramowanie uzna, że topnienie nie przebiegło w prawidłowy sposób albo T_m nie mieści się w właściwym zakresie, krzywa uważana będzie za nieprawidłową.

Analiza przeprowadzana dla dołków z jednakową zawartością Aby określić wynik badania, oprogramowanie - po identyfikacji krzywych topnienia - analizuje zawartość trzech jednakowych dołków. Badanie zostanie zakończone powodzeniem, jeżeli przynajmniej dwie lub trzy powiązanie z nim krzywe topnienia będą określone jako prawidłowe, a T_m dla przynajmniej dwóch z trzech prawidłowych krzywych topnienia będzie zgodna w zakresie 1°C . Badania nie spełniające tych kryteriów uważane są zakończone niepowodzeniem.

Interpretacja wyników.

W przypadku wielu patogenów wykrywanych przez urządzenie FilmArray GI Panel, ich obecność jest potwierdzana (Detected) w raporcie wówczas, gdy jedno badanie na jego obecność daje wynik dodatni. I tak w przypadku *Plesiomonas shigelloides* w raporcie z badania pojawi się wynik „*Plesiomonas shigelloides* Detected” jeśli badanie w przynajmniej dwóch z trzech jednakowych dołków do wykrywania tej bakterii będzie mieć identyczne dodatnie szczytowe punkty krzywej topnienia z wartościami T_m znajdującymi się w zakresie przewidzianym dla badania.

W jednym badaniu wykryte mogą być następujące organizmy: toksygeniczne *C. difficile*, *P. shigelloides*, *Salmonella*, *Y. enterocolitica*, EAEC, *Shigella*/EIEC, adenowirus F 40/41, astrowirus, sapowirus (genogrupy I, II, IV i V), *C. cayetanensis*, *E. histolytica* oraz *G. lamblia*.

Dla kontrastu wyniki badań dla licznych organizmów polegają na kombinacji kilku badań. Dotyczy to: *Campylobacter* (*C. jejuni*/*C. coli*/*C. upsaliensis*), *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*/*V. vulnificus*/*V. cholerae*) i *Vibrio cholerae*, *Cryptosporidium*, norowirusa GI/GII i rotawirusa A. Wyniki testów dla wielu wywołujących biegunkę szczepów *E. coli*(s) obejmują wiele badań na obecność markerów genetycznych, pozwalających rozpoznać różnorodne klasyczne patotypy *E. coli*, w tym EPEC, ETEC i STEC (łącznie z O157), jak również wymienione powyżej EAEC oraz *Shigella*/EIEC. Zasady interpretacji wyników tych badań znaleźć można poniżej, wraz ze skróconymi opisami badań na oczekiwaną reaktywność; ich pełne opisy zawarto w części o inkluzywności.

UWAGA: w przypadku wykrycia w jednej próbce czterech lub więcej różnych organizmów zaleca się powtórzenie badania w celu potwierdzenia takiego wyniku.

Bakterie

Campylobacter (C. jejuni/C. coli/C. upsaliensis)

FilmArray GI Panel przeprowadza dwa różne badania (Campy 1 i Campy 2) polegające na wykryciu, ale nie rozróżnieniu, gatunków *Campylobacter* najczęściej powodujących choroby żołądkowo-jelitowe u ludzi. Są to: *C. jejuni*, *C. coli* i *C. upsaliensis*. Te same gatunki oznaczane są w ramach standardowych badań laboratoryjnych. Inne gatunki bakterii *Campylobacter* nie są wykrywane przez FilmArray GI Panel. Badania empiryczne i analiza sekwencji *in silico* wykazują zredukowaną czułość na rzadziej spotykane podgatunki *C. jejuni* (*Campylobacter jejuni* podgat. *doylei*). Wynik dodatni z jednego lub obu badań pokazany zostanie jako *Campylobacter Detected* (wykryto).

***Clostridium difficile* toksyna A/B**

FilmArray GI Panel przeprowadza pojedyncze badanie multipleksowe (Cdiff) na oznaczanie toksygenicznego *C. difficile*, stwierdzające zarówno gen toksyny A (*tcdA*) i gen toksyny B (*tcdB*). Typowe szczepy toksygenicznego wytwarzają obie toksyny. Aby stwierdzić ich obecność, wystarczy jednak obecność jednej z nich. Badania empiryczne i analiza sekwencji *in silico* potwierdzają, że badanie wykryje wszystkie toksynotypy i epidemiczne szczepy hiperwirulentne BI/NAP1/027, choć nie zostaną one rozróżnione w wyniku badania. Wykrycie jednego lub obu genów toksyny w badaniu da wynik *Clostridium difficile* toksyna A/B Detected (wykryto). Jako że prawdopodobieństwo bezobjawowego przebiegu infekcji *C. difficile* jest bardzo wysokie u najmłodszych dzieci i pacjentów hospitalizowanych, wykrycie toksygenicznego *C. difficile* należy interpretować w oparciu o wytyczne stworzone przez placówkę badawczą lub innych ekspertów (na przykład procedury opublikowane przez The American Academy of Pediatrics¹⁸ lub Society for Healthcare Epidemiology of America i Infectious Disease Society of America).¹⁹

Plesiomonas shigelloides

FilmArray GI Panel przeprowadza pojedyncze badanie (Pshig) na oznaczenie *P. shigelloides*, jedyne go znanego gatunku rodzaju *Plesiomonas*.

Salmonella

FilmArray GI Panel przeprowadza pojedyncze badanie (Salm) na oznaczenie obydwu gatunków *Salmonelli*: *S. enterica* i *S. bongori*. Badania empiryczne i analiza sekwencji *in silico* potwierdzają, że badanie wykryje wszystkie podgatunki i serowary *Salmonella*. W przypadku pewnych szczepów *E. coli*, zawierających warianty systemu sekrecji typu III ETT2 (więcej informacji znaleźć można w części poświęconą inkluzji).

Vibrio (V. parahaemolyticus/V. vulnificus/V. cholerae) oraz Vibrio cholerae

FilmArray GI Panel przeprowadza pojedyncze badanie (Vibrio) na oznaczenie gatunków *Vibrio* najczęściej wywołujących zapalenie żołądka i jelit (*V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* oraz *V. cholerae*). Badania empiryczne i analiza sekwencji *in silico* potwierdzają, że badanie może również reagować na obecność rzadziej spotykanych gatunków *Vibrio*, takich jak *V. alginolyticus*, *V. fluvialis* i *V. mimicus*. Wynik badania nie rozróżnia, który gatunek *Vibrio* został wykryty; badanie raczej też nie wykaze obecności rzadszych *V. cincinnatiensis*, *V. furnissii* i *V. metschnikovii*. Do wykrywania *Vibrio cholerae* służy drugie badanie (Vchol). Wynik *Vibrio cholerae* Detected (wykryto) wyświetli się tylko wtedy, gdy owo badanie da wynik dodatni, natomiast wynik dodatni z któregośkolwiek z tych dwóch badań zostanie oznajmiony komunikatem *Vibrio Detected* (wykryto) (patrz: tabela 2 poniżej).

Tabela 2. Możliwe wyniki badań na obecność *Vibrio* i wyświetlane rezultaty

Interpretacja urządzenia FilmArray GI	Badanie na obecność <i>Vibrio</i> (<i>Vibrio</i>)	Badanie na obecność <i>V. cholerae</i> (<i>Vchol</i>)	Opis
<i>Vibrio</i> : Not Detected (nie wykryto) <i>Vibrio cholerae</i> : Not Detected (nie wykryto)	Ujemny	Ujemny	Nie wykryto obecności <i>Vibrio</i>
<i>Vibrio</i> : Detected (wykryto) <i>Vibrio cholerae</i> : Not Detected (nie wykryto)	Dodatni	Ujemny	Wykryto obecność <i>Vibrio</i> (nie <i>V. cholerae</i>)
<i>Vibrio</i> : Detected (wykryto) <i>Vibrio cholerae</i> : Detected (wykryto)	Dowolny	Dodatni	Wykryto obecność <i>Vibrio cholerae</i> LUB Wykryto obecność <i>Vibrio cholerae</i> i przynajmniej jednego innego gatunku <i>Vibrio</i>

Yersinia enterocolitica

FilmArray GI Panel przeprowadza pojedyncze badanie (Yent) na oznaczenie wszystkich znanych serotypów i biotypów *Y. enterocolitica*. Badania empiryczne i analiza sekwencji *in silico* wskazują na możliwość zachodzenia reakcji krzyżowej z *Y. kristensenii* i *Y. frederiksenii*, gdy te występują w stężeniach $>10^8$ CFU/ml. Należą one do grupy *Y. enterocolitica* i są trudne w rozróżnieniu od *Y. enterocolitica* metodą posiewu; przypuszcza się też, że są patogeniczne dla ludzi.

Wywołujące biegunkę szczepy *E. coli*

FilmArray GI Panel przeprowadza kilka badań na oznaczenie determinantów genetycznych powiązanych z klasycznymi patotypami wywołujących biegunkę szczepów *E. coli/Shigella*. Udokumentowano już wcześniej horyzontalny transfer tych genów pomiędzy różnymi organizmami; uzyskanie wyniku Detected (wykryto) dla kilku badań na obecność *E. coli/Shigella* może wynikać z obecności wielu patotypów lub pojedynczego szczepu zawierającego charakterystyczne determinanty wielu patotypów. Przykładem tego jest epidemia z roku 2011 wywołana przez szczep *E. coli* O104:H4, który zawierał determinanty zarówno bakterii *E. coli* produkującej toksynę Shiga (STEC) i szczepy adherentne *E. coli* (EAEC).

Szczepy adherentne *E. coli* (EAEC)

FilmArray GI Panel przeprowadza pojedyncze badanie multipleksowe (EAEC) na oznaczenie dwóch genów docelowych typowo związanych ze szczepem adherentnym *E. coli*; gen regulujący *aggR* oraz gen kodujący domniemane białko błony zewnętrznej, *aatA*. Obydwa geny zlokalizowane są na częściowo utrzymanym plazmidzie pAA.

Uwaga: pAA nie jest obecny we wszystkich szczepach określanych fenotypowo jako EAEC i nie wszystkie plazmidy pAA przenoszą geny *aggR* i *aatA*, w związku z czym FilmArray GI Panel nie wykryje wszystkich członków tego zróżnicowanego patotypu, ale z dużym prawdopodobieństwem stwierdzi obecność większości szczepów patogenicznych, w tym *E. coli* O104:H4, odpowiedzialnego za ostatnie epidemie w Europie.

Szczepy enterotoksyczne (ETEC): enterotoksyny termolabilne (*lt*) i termostabilne (*st*)

System FilmArray GI Panel zawiera trzy oznaczenia (ETEC 1, ETEC 2, i ETEC 3) służące do wykrywania genów kodujących enterotoksyny występujących w enterotoksogennych szczepach *E. coli* (ETEC). Oznaczenia zostały opracowane w celu wykrywania genów kodujących enterotoksynę (*ltA*) ciepłochwiejną (LT) oraz dwa warianty enterotoksyny ciepłostajnej (ST) (*st1a*, zwanej STp; oraz *st1b*, zwanej STth). Zgłaszane wyniki nie określają, które z tych genów toksyn zostały wykryte. Dodatni wynik dla dowolnej kombinacji tych trzech oznaczeń spowoduje zgłoszenie wyniku Detected (Wykryto) dla genów *lt/s* enterotoksogennych szczepów *E. coli* (ETEC). Geny

kodujące toksyny w wariantach LT-II (strukturalnie podobne do LT) i toksyna STB/ST2 (strukturalnie niepodobne do ST1) nie są wykrywane przez oznaczenia ETEC i nie są uznawane za ważne czynniki chorób ludzi. Badania empiryczne i analizy sekwencji *in silico* wskazują potencjalną reaktywność krzyżową z niektórymi szczepami *Hafnia alvei*, *C. koseri*, *C. sedlakii* oraz *Cedecea davisae*.

Szczepy enteropatogenne *E. coli* (EPEC)

FilmArray GI Panel przeprowadza pojedyncze badanie (Ec eae) na obecność genu *eae*, kodującego adhezyjnę intiminę. Wykryte, lecz nie rozróżnione, zostaną i typowe, i atypowe EPEC. Wyspa patogenności LEE, która zawiera gen *eae*, znajduje się także w bakteriach *E. coli* wytwarzających toksynę Shiga (STEC) (szczepy STEC; O157 i non-O157), dlatego wyniki badania *eae* (dodatnie bądź ujemne) są podawane tylko wtedy, gdy nie zostanie wykryty STEC. Gdy natomiast zostanie wykryty, szczepy enteropatogenne *E. coli* (EPEC) zostaną podane w wyniku jako N/A (Not Applicable - nie dotyczy), bez względu na wynik badania na obecność EPEC (patrz: tabela 3 poniżej). W związku z powyższym badanie wykonywane przez FilmArray GI Panel nie rozróżnia STEC zawierającego *eae* i koinfekcji EPEC i STEC.

Szczepy werotoksyczne *E. coli* (STEC); geny 1 i 2 kodujące toksynę Shiga (*stx1/stx2*)

FilmArray GI Panel przeprowadza dwa badania (STEC 1 i STEC 2) na obecność sekwencji toksyny Shiga 1 (*stx1*) i Shiga 2 (*stx2*). Wyświetlane wyniki nie wskazują na to, którą z tych toksyn wykryto w badaniu. Wynik dodatni z dowolnego badania lub ich obu zostaną wyświetlone jako Shiga-like toxin-producing *E. coli* (STEC) *stx1/stx2* Detected (wykryto) (patrz: tabela 3 poniżej).

Uwaga: toksyna Shiga (*stx*; identyczna z *stx1* STEC) znajduje się w *Shigella dysenteriae*; z tego powodu jeśli FilmArray GI Panel pokaże wyniki dodatnie na obecność *E. coli* wytwarzającej toksynę Shiga (STEC) *stx1/stx2* oraz *Shigella* / enteroinwazyjne *E. coli* (EIEC) z jednej próbki, może to wskazywać na obecność *S. dysenteriae*.

E. coli O157

Aby ułatwić rozpoznanie STEC serotypu O157, FilmArray GI Panel obejmuje odrębne badanie (Ec O157) na oznaczenie genu specyficznego dla tego serotypu. Szczepy *E. coli* O157 które nie zawierają genów kodujących toksynę Shiga także zostaną rozpoznane, ponieważ jednak patogeniczność szczepów non-STEC pozostaje niezdefiniowana, wyniki badania *E. coli* O157 nie zostaną podane, o ile nie zostanie stwierdzona obecność genu kodującego toksynę Shiga (STEC detected - wykryto).

Wykrycie STEC *stx1/stx2* oraz *E. coli* O157 skutkuje tym, że obecność *E. coli* O157 decyduje o wyniku dodatnim badania STEC. Jeżeli STEC *stx1/stx2* daje wynik Not Detected (nie wykryto), wówczas wynik na obecność *E. coli* O157 jest określany jako N/A (Not Applicable - nie dotyczy). FilmArray GI Panel nie rozróżnia infekcji wywołanych tylko toksygenicznym STEC O157 a rzadkim przypadkiem koinfekcji STEC (non-O157) z *stx1/stx2*-ujemnym *E. coli* O157 (patrz: tabela 3 poniżej).

Tabela 3. Możliwe wyniki badań na obecność szczepów enteropatogennych *E. coli* (EPEC) oraz *E. coli* wytwarzającej toksynę Shiga (STEC) *stx1/stx2* i wyświetlane rezultaty

Wyniki uzyskane przez FilmArray GI	Badanie EPEC (Ec eae)	Badania STEC <i>stx1/2</i> (STEC 1/ STEC 2)	<i>E. coli</i> O157 Badanie (Ec O157)	Opis
Enteropathogenic <i>E. coli</i> (EPEC): Not Detected (Szczepy enteropatogenne <i>E. coli</i> (EPEC): nie wykryto) Shiga-like toxin-producing <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i>: Not Detected (Szczepy werotoksyczne <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i>: nie wykryto) <i>E. coli</i> O157: N/A (nie dotyczy)	Ujemny	Ujemny	Dowolny	Szczepy enteropatogenne <i>E. coli</i> (EPEC) oraz <i>E. coli</i> wytwarzająca toksynę Shiga (STEC) <i>stx1/stx2</i> nie zostały wykryte Wynik na obecność <i>E. coli</i> O157 jest podany jako N/A, gdy STEC nie zostanie wykryty

Wyniki uzyskane przez FilmArray GI	Badanie EPEC (Ec eae)	Badania STEC <i>stx1/2</i> (STEC 1/ STEC 2)	<i>E. coli</i> O157 Badanie (Ec O157)	Opis
Enteropathogenic <i>E. coli</i> (EPEC): Detected (Szczepy enteropatogenne <i>E. coli</i> (EPEC): wykryto) Shiga-like toxin-producing <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i>: Not Detected (Szczepy werotoksyczne <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i> : nie wykryto) <i>E. coli</i> O157: N/A (nie dotyczy)	Dodatni	Ujemny	Dowolny	Szczepy enteropatogenne <i>E. coli</i> (EPEC) zostały wykryte Szczepy werotoksyczne <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i> nie zostały wykryte Wynik na obecność <i>E. coli</i> O157 jest podany jako N/A, gdy STEC nie zostanie wykryty
Enteropathogenic <i>E. coli</i> (EPEC): N/A (Szczepy enteropatogenne <i>E. coli</i> (EPEC): nie dotyczy) Shiga-like toxin-producing <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i>: Detected (Szczepy werotoksyczne <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i> : wykryto) <i>E. coli</i> O157: Not Detected (nie wykryto)	Dowolny	Dodatni ^a	Ujemny	Wynik EPEC jest podany jako N/A, czyli nie dotyczy (nie można rozróżnić EPEC od STEC zawierającego gen <i>eae</i>) Szczepy werotoksyczne <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i> zostały wykryte, natomiast serotyp O157 nie został wykryty
Enteropathogenic <i>E. coli</i> (EPEC): N/A (Szczepy enteropatogenne <i>E. coli</i> (EPEC): nie dotyczy) Shiga-like toxin-producing <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i>: Detected (Szczepy werotoksyczne <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i> : wykryto) <i>E. coli</i> O157: Detected (wykryto)	Dowolny	Dodatni ^a	Dodatni	Wynik EPEC jest podany jako N/A, czyli nie dotyczy (nie można rozróżnić EPEC od STEC zawierającego gen <i>eae</i>) Szczepy werotoksyczne <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i> zostały wykryte, serotyp O157 został wykryty ^b

^a Dodatnie wyniki uzyskane w badaniu (badaniach) STEC oraz w badaniu *Shigella*/Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) mogą wskazywać na obecność *Shigella dysenteriae*.

^b Determinant O157 może pochodzić od STEC albo z rzadkiego przypadku *E. coli* O157 wytwarzającej toksynę Shiga będącej tego samego gatunku co non-O157 STEC.

***Shigella* / szczepy enteroinwazyjne *E. coli* (EIEC).**

FilmArray GI Panel przeprowadza pojedyncze badanie (Shig) na obecność *ipaH*, czyli genu specyficznego wyłącznie dla wszystkich gatunków *Shigella* oraz enteroinwazyjnych *E. coli* (EIEC). Nie istnieje możliwość rozróżnienia *Shigelli* od EIEC za pomocą tej metody, a w przypadku wykrycia *ipaH* pokazany zostanie wynik *Shigella*/Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) Detected (wykryto).

Uwaga: toksyna Shiga (*stx*; identyczna z *stx1* STEC) znajduje się w *Shigella dysenteriae*; z tego powodu jeśli FilmArray GI Panel pokaże wyniki dodatnie na obecność *E. coli* wytwarzającej toksynę Shiga (STEC) *stx1/stx2* z *Shigella* / enteroinwazyjne *E. coli* (EIEC) z jednej próbki, może to wskazywać na obecność *S. dysenteriae*.

Pasożyty

Cryptosporidium

FilmArray GI Panel przeprowadza dwa badania (Crypt 1 i Crypt 2) na obecność gatunków *Cryptosporidium*. Badania empiryczne i analiza sekwencji *in silico* potwierdzają, że badanie wykrywa ok. 23 różne gatunki *Cryptosporidium*, w tym te o najbardziej ważkim znaczeniu klinicznym dla ludzi (np. *C. hominis* i *C. parvum*), a także kilka mniej powszechnych gatunków, jak np. *C. meleagridis*, *C. felis*, *C. canis*, *C. cuniculus*, *C. muris* czy *C. suis*. Badanie nie rozróżnia gatunków tego pasożyta, a takie bardzo rzadkie gatunki, jak *C. bovis*, *C. ryanae*

czy *C. xiaoi* mogą nie zostać wykryte. Wynik dodatni z jednego lub obu badań pokazany zostanie jako *Cryptosporidium* Detected (wykryto).

Cyclospora cayetanensis

FilmArray GI Panel przeprowadza pojedyncze badanie (Ccayet) na oznaczenie *C. cayetanensis*, jedynego gatunku rodzaju *Cyclospora* wywołującego choroby u ludzi.

Entamoeba histolytica

FilmArray GI Panel przeprowadza pojedyncze badanie (Ehist) na oznaczenie *E. histolytica*, jedynego gatunku rodzaju *Entamoeba* wywołującego zapalenie żołądka i jelit. Badanie to może wykazywać reaktywność krzyżową z blisko spokrewnionym gatunkiem *E. dispar*, jeżeli osobniki obecne są w dużych ilościach (ok. 10^5 oocyst/ml lub więcej).

Giardia lamblia

FilmArray GI Panel przeprowadza pojedyncze badanie (Glam) na obecność *G. lamblia* (zwanej również *G. intestinalis*, *G. duodenalis*), jedynego przedstawiciela gatunku *Giardia* zakaźnego dla człowieka. Podczas ewaluacyjnych badań klinicznych rzadko obserwowano reaktywność krzyżową z mikroorganizmami symbiotycznymi, takimi jak np. *Bifidobacterium* i *Ruminococcus*.

Wirusy

Adenowirus F40/41

FilmArray GI Panel przeprowadza pojedyncze badanie multipleksowe (AdenoF) na obecność konkretnie obu adenowirusów, F40 i F41 (tzn. że nie wchodzi w reakcję krzyżową ze znajdującymi się w drogach oddechowych adenowirusami non-40/41, jeżeli te znajdują się w próbce stolca). Wyświetlane wyniki nie wskazują na to, który z tych serotypów - 40 czy 41 - wykryto w badaniu. Badanie nie wykrywa innych gatunków adenowirusów, takich jak gatunki B, C czy E, które są związane z zakażeniami dróg oddechowych.

Astrowirus

FilmArray GI Panel przeprowadza pojedyncze badanie (Astro) na oznaczenie ośmiu podtypów (HAstV1-8) ludzkiego astrowirusa. Badanie nie jest przewidziane do wykrywania niedawno zidentyfikowanych astrowirusów osłonkowych MLB i VA.

Norowirus GI/GII

FilmArray GI Panel przeprowadza dwa badania (Noro 1 i Noro 2) wspólnie oznaczających genogrupy tych norowirusów, które są najpowszechniej powiązane z infekcjami u ludzi (GI i GII). Żadne z nich nie wykrywa genogrupy GIV, genogrup nie występujących u ludzi, ani też blisko z nimi spokrewnionych kalciwirusami, takimi jak sapowirus. Wyświetlane wyniki nie wskazują na to, którą z tych genogrup (GI i/lub GII) wykryto w badaniu. Dodatni wynik z dowolnego lub obu badań zostanie pokazany jako Norovirus GI/GII Detected (wykryto).

Rotawirus A

FilmArray GI Panel przeprowadza dwa oddzielne badania na wykrywanie rotawirusa A (RotaA 1 i RotaA 2) inkluzyjne dla wszystkich szczepów rotawirusów A. Analiza sekwencji *in silico* wskazała, że w tych badaniach nie zachodzi reaktywność krzyżowa z rotawirusami B i C (rzadziej związanymi z chorobami u ludzi) ani z rotawirusami D, E i F (których nie wykryto u ludzi). Badania empiryczne natomiast wykazały, że badania te wykrywają szczepy rekombinacyjne wirusów zawartych w szczepionkach przeciwko rotawirusom. Wynik dodatni z dowolnego lub obu badań przeprowadzanych przez FilmArray GI Panel pokazany zostanie jako Rotavirus A Detected (wykryto).

Sapowirus (genogrupa I, II, IV i V)

FilmArray GI Panel przeprowadza pojedyncze badanie (Sapo) na oznaczenie genogrup sapowirusów, które są obecne przy infekcjach u ludzi (I, II, IV i V), ale bez ich rozróżniania. Patogen świński z genogrupy III nie jest wykrywany.

Raport z badania FilmArray GI

Raport podsumowujący FilmArray GI wyświetlany jest automatycznie po zakończeniu cyklu i zawiera trzy części: Run Summary (podsumowanie cyklu), Result Summary (podsumowanie wyników) oraz Run Details (informacje o cyklu) (patrz: przykład raportu końcowego w skróconym instruktażu rozpoczęcia pracy z urządzeniem FilmArray Gastrointestinal Panel). Raport ten można zapisać jako plik PDF lub wydrukować go.

Część **Run Summary** (podsumowanie cyklu) zawiera następujące informacje: Sample ID (ID próbki), data i czas przeprowadzania cyklu, wyniki kontroli oraz ogólne podsumowanie wyników badania. Każdy wykryty organizm zostanie wymieniony w polu Detected (wykryty) zostanie wymieniony w odpowiednim polu podsumowania. Komunikat None (brak) w polu Detected oznacza, że wszystkie badania mają wynik ujemny. Controls (kontrole) określane są jako Passed (zaliczone), Failed (niezaliczone) lub Invalid (nieprawidłowe). W polu Controls (kontrole) znajdują się szczegółowe informacje dotyczące interpretacji kontroli oraz czynności, które należy przeprowadzić w przypadku kontroli zakończonej niepowodzeniem.

Część **Result Summary** (podsumowanie wyników) zawiera listę wyników dla każdego wykrywanego w badaniu organizmu. Możliwe wyniki to: Detected (wykryty), Not Detected (nie wykryty), Not Applicable (N/A) (nie dotyczy) lub Invalid (nieprawidłowe). W części poświęconej podsumowaniu wyników znajdują się szczegółowe informacje dotyczące interpretacji wyników badania oraz czynności, które należy przeprowadzić w przypadku uzyskania wyników nieprawidłowych.

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 urządzenie/Module używane do przeprowadzenia testu.

Istnieje możliwość wprowadzenia zmian w Sample ID (ID próbki) po zakończeniu cyklu. W takim przypadku w raporcie pojawi się nowa sekcja zatytułowana **Change History** (historia zmian). Zawiera ona takie informacje o zmianach, jak: które pole zostało zmienione, jak brzmiał oryginalny wpis i jakiej zmiany w nim dokonano, kto zmianę tę wprowadził oraz kiedy to zrobił. Pole Sample ID (ID próbki) jest jedynym, które można edytować.

Pole Controls (kontrole)

Pole to zawierać będzie jedną z trzech informacji: Passed (zaliczone), Failed (niezaliczone) lub Invalid (nieprawidłowe). Passed oznacza, że cykl przebiegł prawidłowo (bez błędów ze strony urządzenia bądź oprogramowania), a obie kontrole saszetki (RNA Process Control - proces kontrolny RNA i PCR2 Control - kontrola PCR2) zakończyły się powodzeniem. Failed oznacza, że cykl został zakończony prawidłowo (bez błędów ze strony urządzenia bądź oprogramowania), ale jedna lub obie kontrole saszetki zostały niezaliczone. W przypadku takiego wyniku kontroli, wyniki wszystkich badań uważane są za Invalid (nieprawidłowe), zatem próbkę należy przebadać ponownie w nowej saszetce.

Tabela 4 zawiera skrócone wyjaśnienie możliwych wyników kontroli i podaje, jakie czynności należy podjąć.

Tabela 4. Interpretacja wyników w polu Controls (kontrole) raportu FilmArray GI

Wynik kontroli	Wyjaśnienie	Wymagane postępowanie	Działanie
Passed (zaliczone)	Cykl przebiegł prawidłowo ORAZ obie kontrole saszetki zostały zaliczone.	Brak	Zgłosić wyniki podane w raporcie z badania.
Failed (niezaliczone)	Cykl przebiegł prawidłowo ALE przynajmniej jedna z kontroli saszetki (proces kontrolny RNA i/lub kontrola PCR2) zostały niezaliczone.	Wykonać test ponownie, używając nowej saszetki.	Uznać wyniki ponownego badania, a jeśli błąd będzie się powtarzał, skontaktować się z działem wsparcia technicznego.
Invalid (nieprawidłowe)	Wynik nieprawidłowy kontroli oznacza, że cykl nie jest zakończony powodzeniem (zwykle oznacza to błąd oprogramowania bądź pracy urządzenia).	Należy zanotować wyświetlane podczas cyklu kody błędów i sprawdzić Run Status (stan cyklu) w części raportu Run Details (szczegóły cyklu). Dalsze instrukcje można znaleźć w 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/Module.	Ważne wyniki z powtórnego badania należy uznać za poprawne, a jeśli błąd będzie się powtarzał, skontaktować się z działem wsparcia technicznego.

Results Summary (podsumowanie wyników) - interpretacje

W Results Summary (podsumowanie wyników) znajduje się spis wszystkich możliwych wyników badań. Możliwe wyniki dla każdego organizmu to: Detected (wykryto), Not Detected (nie wykryto), Not Applicable (N/A) (nie dotyczy) lub Invalid (nieprawidłowe). Table 5 zawiera wyjaśnienia każdej interpretacji oraz wymienia czynności wynikające z uzyskanego wyniku.

Tabela 5. Wyjaśnienie wyników i wymagane działania

Wynik	Wyjaśnienie	Wymagane działanie
Detected (wykryto)	<p>Cykl przebiegł prawidłowo</p> <p>ORAZ</p> <p>kontrole saszetki zostały zaliczone (Passed)</p> <p>ORAZ</p> <p>badanie (badania), które doprowadziło do interpretacji, miało wynik dodatni na podstawie następujących wymogów dotyczących przynajmniej 2 z 3 oznaczeń replikacji:</p> <ul style="list-style-type: none"> - właściwa krzywa topnienia, i - Tm dla danych z procesu topnienia mieściła się w zakresie przewidzianym dla badania, i - Tm dla danych z procesu topnienia mieściła się w zakresie 1°C względem siebie. 	Brak. Zgłosić wyniki.
Not Detected (nie wykryto)	<p>Cykl przebiegł prawidłowo</p> <p>ORAZ</p> <p>kontrole saszetki zostały zaliczone (Passed)</p> <p>ORAZ</p> <p>badanie (badania), które doprowadziło do interpretacji, miało wynik ujemny (nie spełniło wymogów wyniku dodatniego badania, opisanych powyżej w części Detected - wykryto).</p>	Brak. Zgłosić wyniki.
N/A (nie dotyczy) (dotyczy tylko <i>E. coli</i> O157 i EPEC)	<p>Cykl przebiegł prawidłowo</p> <p>ORAZ</p> <p>kontrole saszetki zostały zaliczone (Passed)</p> <p>ORAZ</p> <p>dla <i>E. coli</i> O157: szczepy werotoksyczne <i>E. coli</i> - Not Detected (nie wykryto).</p> <p>Dla EPEC: szczepy werotoksyczne <i>E. coli</i> - Detected (wykryto).</p>	Brak. Zgłosić wyniki.
Invalid (nieprawidłowe)	<p>Cykl nie został zakończony powodzeniem (Aborted (przerwany), Incomplete (niekompletny) Instrument Communication Error (błąd komunikacji urządzenia), Instrument Error (błąd urządzenia) oraz Software Error (błąd oprogramowania))</p> <p>LUB</p> <p>kontrole saszetki nie zostały zaliczone (Failed)</p>	Patrz: Table 4, <i>Interpretacja wyniku w polu Controls (kontrole) raportu FilmArray.</i>

OGRANICZENIA PROCEDURY

- Do stosowania wyłącznie zgodnie ze skierowaniem.
- Skuteczność oznaczenia FilmArray Gastrointestinal (GI) Panel określono wyłącznie dla systemów FilmArray, FilmArray 2.0 oraz FilmArray Torch.
- Badanie jest testem jakościowym i nie podaje wartości ilościowych dla organizmów wykrytych w próbce.
- Skuteczność badania została potwierdzona wyłącznie dla próbek kału ludzkiego, znajdujących się w wymazówce z podłożem Cary Blair, zgodnie z instrukcjami producenta. Nie sprawdzano skuteczności badania przy zastosowaniu innych wymazówek, samego stolca, wymazu z odbytu, pozostałości stolca na endoskopie ani wymiocin.
- Produkt nie został przewidziany do badania próbek stolca znajdujących się w substancjach konserwujących (takich jak formalina czy alkohol poliwinylowy - PVA).
- Przebieg badania nie przewiduje pracy z próbkami od osób bez objawów infekcji żołądkowo-jelitowych.
- Kwasy nukleinowe wirusów, bakterii i pasożytów mogą być obecne *in vivo* niezależnie od aktywności tych organizmów. Co więcej, w przypadku niektórych organizmów można być nosicielem bezobjawowym. Wykrycie patogenów nie implikuje, że dany patogen jest aktywny lub że stanowi przyczynę objawów klinicznych.
- Wyniki uzyskane z badania należy zestawić z wywiadem medycznym pacjenta, danymi epidemiologicznymi i innymi danymi, dostępnymi dla pracownika służby zdrowia, który ocenia stan zdrowia pacjenta. Jako że prawdopodobieństwo bezobjawowego przebiegu infekcji *Clostridium difficile* jest szczególnie wysokie u najmłodszych dzieci i pacjentów hospitalizowanych, wykrycie toksygenicznego *C. difficile* należy interpretować w oparciu o wytyczne stworzone przez placówkę badawczą lub innych ekspertów (na przykład procedury opublikowane przez The American Academy of Pediatrics lub Society for Healthcare Epidemiology of America i Infectious Disease Society of America).^{18,19}
- Badanie nie zostało przewidziane do monitorowania leczenia infekcji żadnego z wykrywanych przez panel organizmów.
- Rozbieżności pomiędzy wynikami uzyskiwanymi za pomocą FilmArray GI Panel i innych metod określania drobnoustrojów wynikać mogą z niemożności wiarygodnego rozróżnienia gatunków w oparciu o standardowe metody wyodrębnienia fenotypów drobnoustrojów. Przykładem na to jest odróżnienie *Yersinii enterocolitica* od innych członków grupy *Y. enterocolitica*, takich jak: *Y. kristensenii* czy *Y. fredericksonii*, *Entamoeba histolytica* od *E. dispar*, bądź *Helicobacter pullorum* od *Campylobacter*. Więcej takich przypadków znaleźć można w części poświęconej interpretacji wyników.
- Istnieje ryzyko uzyskania fałszywego wyniku ujemnego ze względu na obecność wariantów sekwencji w genach docelowych badania, błędów proceduralnych, inhibitorów amplifikacji w próbce albo niedostateczną ilość organizmów do amplifikacji.
- W przeszłości stwierdzanie obecności wielu patotypów wywołujących biegunkę szczepów *E. coli* odbywało się na podstawie charakterystyki fenotypu, na przykład czynniki adhezyjne lub toksygeniczne w posiewach z określonych tkanek. FilmArray GI Panel wyodrębnia charakterystyczne deteminanty genetyczne większości szczepów patogenicznych tych organizmów, może jednak nie wykryć wszystkich szczepów posiadających fenotyp specyficzny dla patotypu. FilmArray GI Panel w szczególności wykryje tylko szczepy adherentne *E. coli* (EAEC) posiadające geny *aggR* i/lub *aatA* w plazmidzie pAA (agregacyjnej adherencji), nie wykryje natomiast żadnych szczepów posiadających wzór owej adherencji.
- Wykrywane geny, powiązane z wywołującymi biegunkę patotypami *E. coli/Shigella* mają zdolność do poziomego transferu pomiędzy szczepami, co oznacza, że wyniki Detected (wykryto) dla wielu takich patotypów może wynikać z koinfekcji pomiędzy wieloma patotypami, lub, rzadziej, obecności pojedynczego organizmu zawierającego geny charakterystyczne dla kilku patotypów, na co przykładem może być epidemia z roku 2011 *E. coli* O104:H4, której szczepy zawierały determinanty zarówno STEC jak i EAEC.

- FilmArray GI Panel wykrywa termolabilną toksynę (LT) oraz warianty toksyn termolabilnych (ST1a i ST1b) zawartych w enterotoksycznych szczepach *E. coli* (ETEC), powiązanych z chorobami u ludzi. Wariant toksyny LT-II (podobny pod względem strukturalnym do LT) oraz toksyny STB/ST2 (strukturalnie nie podobnej do ST1) nie są wykrywane przez badania ETEC i nie uważa się ich za istotny czynnik chorobotwórczy u ludzi.
- FilmArray GI Panel wykrywa szczepy enteropatogenne *E. coli* (EPEC) poprzez stwierdzanie obecności genu *eae*, kodującego adhezyjną intiminę. Ponieważ niektóre *E. coli* produkujące toksynę Shiga (STEC) również zawierają gen *eae* (dotyczy to zwłaszcza szczepów znanych jako enterokrwotoczny szczep *E. coli*; EHEC), FilmArray GI Panel nie rozróżnia STEC zawierającego *eae* od koinfekcji pomiędzy EPEC i STEC. Z powyższego powodu wynik badania na obecność EPEC będzie N/A (nie dotyczy) i nie będzie podany dla próbek, w których został również wykryty STEC. W rzadkich przypadkach szczepy STEC mogą być zgłaszane jako EPEC, gdy szczep STEC zawierający gen *eae* (EHEC) jest obecny w próbce w ilości mieszczącej się poniżej granicy wykrywalności oznaczeń STEC lub gdy szczep zawiera wariant genu *stx*, który nie jest skutecznie wykrywany za pomocą oznaczenia STEC (np. wariant f genu *stx2*). Udokumentowano rzadkie przypadki innych organizmów posiadających gen *eae*, na przykład *Aeromonas* spp., *Citrobacter* spp., *Escherichia albertii* i *Shigella boydii*.
- Shigella dysenteriae* posiada gen *stx*, który jest identyczny z genem *stx1* STEC. Wykrycie zarówno analitów *Shigelli*/szczepów enteroinwazyjnych *E. coli* (EIEC) oraz STEC *stx1/stx2* w tej samej próbce może wskazywać na obecność *S. dysenteriae*. Zgłoszono nieliczne przypadki wykrycia genów toksyny Shiga w innych rodzinach i gatunkach, np. w *Aeromonas caviae*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Shigella sonnei*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* oraz *Klebsiella pneumoniae*.
- Wynik dla *E. coli* O157 jest podawany jedynie w powiązaniu ze STEC *stx1/stx2*. Chociaż stwierdzano obecność szczepów non-STEC O157 w kale ludzkim, ich rola chorobotwórcza nie została ustalona. Rozpoznano serotyp O157 EPEC i jest on wykrywany przez FilmArray GI Panel (w badaniu EPEC) dzięki obecności genu *eae*.
- FilmArray GI Panel nie rozróżnia infekcji wywołanych tylko toksygenicznym STEC O157 a rzadkim przypadkiem koinfekcji STEC (non-O157) z *stx1/stx2*-ujemnym *E. coli* O157.
- Badanie to wykrywa jedynie *Campylobacter jejuni*, *C. coli* oraz *C. upsaliensis*, nie rozróżniając tych trzech gatunków *Campylobacter*. Do tego niezbędne jest dodatkowych testów, jak również do wykrycia innych gatunków *Campylobacter*, mogących występować w próbce stolca.
- Wykrywanie kwasów nukleinowych organizmów uzależnione jest od odpowiedniej pracy z próbką, to jest prawidłowego jej pobrania, obchodzenia się z nią, transportu, przechowywania i przygotowania do badania. Niezastosowanie odpowiednich procedur w którymkolwiek z tych etapów może prowadzić do uzyskania błędnych wyników, takich jak fałszywe wyniki dodatnie czy fałszywe wyniki ujemne spowodowane przez niewłaściwe pobranie, transport i pracę z próbką. Proces kontrolny RNA i kontrola PCR 2 nie wskażą, która z powyższych czynności odpowiada za brak kwasu nukleinowego.
- Ze względu na wiele aspektów charakterystyki próbki kału, mrożenie jej może wpłynąć na analizę, a co za tym idzie wyniki uzyskiwane z niektórych próbek.
- Wynik ujemny otrzymywany przez FilmArray GI nie wyklucza możliwości infekcji jelitowo-żołądkowej. Przyczyną wyniku ujemnego może być obecność wariantów sekwencji w obszarze przeprowadzanego badania, obecność inhibitorów, błąd techniczny, pomylenie próbek czy infekcja wywołana przez patogeny nie wykrywane w saszetce. Na wyniki może mieć również wpływ towarzysząca terapia ukierunkowana przeciwko drobnoustrojom bądź poziom organizmów w próbce poniżej granicy wykrywalności dla badania. Nie należy traktować wyników ujemnych jako jedynej podstawy do diagnozy, leczenia czy innych decyzji medycznych.
- Błędne wyniki badania mogą być generowane z powodu kontaminacji patogenem lub amplikonem. Należy zwracać szczególną uwagę na przestrzeganie zaleceń zawartych w rozdziale „Ostrzeżenia i środki ostrożności”, w części „Środki ostrożności stosowane w laboratorium”.
- w przypadku wykrycia w jednej próbce czterech lub więcej różnych organizmów zaleca się powtórzenie badania w celu potwierdzenia takiego wyniku.

- Badanie FilmArray GI nie przewiduje pracy z próbkami od osób zaszczepionych przeciwko rotawirusowi A. Niedawne doustne podanie takiej szczepionki może spowodować uzyskanie wyniku dodatniego na obecność rotawirusa A, jeśli zostanie on wydany ze stolcem.
- Lista uwzględnionych interferentów znajduje się w tabelach. Natomiast interferencja ze strony substancji nie wymienionych skutkować może uzyskaniem nieprawidłowych wyników.
- Stwierdzono, że kilka organizmów może wchodzić w reakcję krzyżową w badaniu FilmArray GI Panel, a należą do nich: *Entamoeba dispar* - jeśli jest obecny w dużych ilościach (badanie *E. histolytica*); podgatunki *Bifidobacterium* i *Ruminococcus*. (badanie *G. lamblia*); niektóre szczepy *Citrobacter koseri*, *Citrobacter sedlakii*, *Hafnia alvei* i *Cedeceae davisiae* zawierające warianty białka strukturalnego witki rzęski (badanie 2 ETEC), *E. coli* zawierające wariant białka sekrecji typu III (badanie *Salmonella*), *Grimontia hollisae* wcześniej klasyfikowany jako *Vibrio* sp. (badanie *Vibrio*) czy *Yersinia frederiksenii* i *Yersinia kristensenii* należące do grupy *Y. enterocolitica* (badanie *Y. enterocolitica*). Dodatkowe informacje znaleźć można w części „Interpretacja wyników” i „Swoistość analityczna” niniejszego dokumentu.
- Wymienione w nich oraz powyżej organizmy mogą nie być wszystkimi, które mogą prowadzić do uzyskania błędnych wyników na skutek wywołanej przez nie reaktywności krzyżowej.
- Badanie inkluzyjności *Campylobacter* oraz analiza *in silico* wykazały, że FilmArray GI Panel może dawać rozbieżne wyniki albo wyjażać obniżoną czułość na niektóre organizmy wykrywane w badaniach *Campylobacter* (u badania *Campylobacter* wykrywają tylko *C. jejuni*, *C. coli* oraz *C. upsaliensis*). Szczep *Campylobacter upsaliensis* ATCC 43954 i *Campylobacter jejuni* podgatunek *doylei* mogą nie zostać wykryte, a analiza *in silico* wykazała niedopasowanie primerów mogące prowadzić do zmniejszonej czułości badania bądź braku reaktywności z sekwencjami 11/138 *C. coli* obecnymi w bazie danych NCBI.
- Badania empiryczne i analiza sekwencji *in silico* wskazały, że badanie *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*/*V. vulnificus* /*V. cholerae*) może reagować z rzadziej występującymi gatunkami *Vibrio* (np.: *V. alginolyticus*, *V. fluvialis* i *V. mimicus*), nie jest natomiast przewidziane do wykrywania sporadycznie występujących *Vibrio cincinnatiensis*, *Vibrio furnissii* czy *Vibrio metschnikovii* (Uwaga: nie zbadano skuteczności wykrywania podgatunków *Vibrio* nie powiązanych z chorobami u ludzi).
- Izolaty *V. cholerae* o mocno zróżnicowanych genach *toxR* pozostaną niereaktywne w badaniu FilmArray GI Panel *V. cholerae*. Badanie Vchol nie będzie też wykrywać bardzo rzadkich szczepów patogenicznych *V. cholerae* posiadających genu *toxR*.
- Stwierdzona była natomiast obecność sporadycznych izolatów *V. harveyi*, *V. mimicus* i *V. vulnificus*, które nabyły homolog genu *toxR*, przez co mogą wykazywać reaktywność krzyżową w badaniu Vchol.
- Na podstawie dostępnych sekwencji, kilka gatunków *Cryptosporidium* lub pewnych ich wariantów, w tym *C. bovis*, *C. ryanae* oraz *C. xiaoi* może nie być skutecznie wykrywane przez badanie *Cryptosporidium*, przy czym gatunki te rzadko stwierdza się w próbkach pochodzących od ludzi.
- Istnieje ryzyko uzyskania fałszywych wyników ujemnych z powodu obecności szczepów z różnymi wariantami sekwencji lub rearanżacji genetycznej w obszarze przeprowadzanego badania. Więcej informacji na ten temat można znaleźć w części poświęconej inkluzyjności badań.
- Niespodziewane wyniki uzyskane z badania izolatów z posiewów (np. podczas kontroli jakości) mogą wynikać z błędów w etykietowaniu lub kategoryzowaniu izolatu, skażeniu roztworu podstawowego lub rearanżacji genetycznej (w tym utraty plazmidu wirulencji) podczas powtarzanego przenoszenia.
- Podczas badań walidacyjnych nie przebadano wszystkich serotypów *Salmonelli*, sprawdzono jednak przedstawicieli wszystkich 20 najpowszechniej występujących serotypów, obecnie występujących w USA (CDC National *Salmonella* Surveillance Annual Summary 2009). Analiza sekwencji *in silico* potwierdza wykrywanie wszystkich podgatunków i serotypów *Salmonelli*.
- W przypadku pewnych szczepów *E. coli*, zawierających warianty systemu sekrecji typu III ETT2, pojawić się może reaktywność krzyżowa w badaniu *Salmonella* (więcej informacji znaleźć można w części poświęconej inkluzyjności).

- Dodatnie i ujemne wartości predykcyjne są w dużej mierze zależne od zachorowalności. Uzyskiwanie wyników fałszywie ujemnych jest bardziej prawdopodobne w szczytowym momencie aktywności patogenów, przy wysokiej zachorowalności na daną chorobę. Natomiast wyniki fałszywie dodatnie będą częściej się pojawiać wtedy, gdy zachorowalność jest od średniej do niskiej.
- Przebieg badania nie przewiduje pracy z próbkami od osób o obniżonej odporności.
- Aby określić, jakie środki są potrzebne do weryfikacji wyników celem stwierdzenia epidemii i śledzenia jej przebiegu, krajowe i lokalne organy służby zdrowia opublikowały wytyczne dotyczące zgłaszania chorób objętych tym wymogiem, w tym wywołane przez: *Salmonellę*, *Shigellę*, *V. cholerae*, *E. coli* O157, szczepy enterotoksyczne *E. coli* (ETEC) *lt/st* oraz szczepy werotoksyczne *E. coli* (STEC) *stx1/stx2*. Na laboratoriach spoczywa obowiązek przestrzegania zasad przekazywania materiału klinicznego lub izolatów próbek określonych jako dodatnie do odpowiednich krajowych laboratoriów państwowych placówek zdrowia.

OCZEKIWANE WARTOŚCI

W prospektywnym ewaluacyjnym badaniu klinicznym, oceniającym skuteczność FilmArray GI Panel, zebrano i przebadano 1556 kwalifikujących się próbek (stolca na podłożu jelitowym, np. Cary Blair) w czterech placówkach badawczych na całym terenie USA (w regionach: Pacific, North Central, Great Lakes oraz Northeast), w okresie ok. pięciu miesięcy (od maja do września 2013 r.). Liczba i udział procentowy przypadków dodatnich w badaniu FilmArray GI Panel, podzielonych na grupy wiekowe, przedstawiono w poniższej tabeli. Ogólnie FilmArray GI Panel wykrył przynajmniej jeden organizm w 53,5% (832 / 1556) próbek prospektywnych.

Tabela 6. Przegląd wartości oczekiwanych (określonych w badaniu FilmArray GI Panel) według grup wiekowych w prospektywnym badaniu klinicznym (od maja do września 2013)

Wynik FilmArray GI Panel	Razem próbek (n=1556)	<1 roku (n=121)	1-5 lat (n=418)	6-12 lat (n=193)	13-21 lat (n=240)	22-64 lat (n=411)	65+ lat (n=173)
Bakterie							
<i>Campylobacter</i>	58 (3,7%)	1 (0,8%)	11 (2,6%)	12 (6,2%)	6 (2,5%)	19 (4,6%)	9 (5,2%)
<i>Clostridium difficile</i> toksyna A/B	204 (13,1%)	49 (40,5%)	66 (15,8%)	18 (9,3%)	33 (13,8%)	29 (7,1%)	9 (5,2%)
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	18 (1,2%)	0 (0,0%)	7 (1,7%)	4 (2,1%)	4 (1,7%)	3 (0,7%)	0 (0,0%)
<i>Salmonella</i>	37 (2,4%)	5 (4,1%)	7 (1,7%)	5 (2,6%)	5 (2,1%)	11 (2,7%)	4 (2,3%)
<i>Vibrio</i>	2 (0,1%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (0,5%)	0 (0,0%)
<i>Vibrio cholerae</i>	1 (0,1%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (0,2%)	0 (0,0%)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1 (0,1%)	1 (0,8%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Wywołujące biegunkę szczepy <i>E. coli</i>/Shigella							
Szczepy adherentne <i>E. coli</i> (EAEC)	109 (7,0%)	9 (7,4%)	34 (8,1%)	20 (10,4%)	17 (7,1%)	25 (6,1%)	4 (2,3%)
Szczepy enteropatogenne <i>E. coli</i> (EPEC)	348 (22,4%)	30 (24,8%)	155 (37,1%)	45 (23,3%)	46 (19,2%)	55 (13,4%)	17 (9,8%)
Szczepy enterotoksyczne <i>E. coli</i> (ETEC) <i>lt/st</i>	31 (2,0%)	1 (0,8%)	5 (1,2%)	7 (3,6%)	5 (2,1%)	9 (2,2%)	4 (2,3%)
Szczepy werotoksyczne <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i>	38 (2,4%)	1 (0,8%)	24 (5,7%)	2 (1,0%)	4 (1,7%)	5 (1,2%)	2 (1,2%)
<i>E. coli</i> O157	4 (0,3%)	0 (0,0%)	3 (0,7%)	1 (0,5%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Shigella</i> / Szczepy enteroinwazyjne <i>E. coli</i> (EIEC) ^a	49 (3,1%)	0 (0,0%)	31 (7,4%)	7 (3,6%)	5 (2,1%)	6 (1,5%)	0 (0,0%)
Pasożyty							
<i>Cryptosporidium</i>	24 (1,5%)	0 (0,0%)	9 (2,2%)	3 (1,6%)	6 (2,5%)	5 (1,2%)	1 (0,6%)
<i>Cyclospora cayetanensis</i> ^b	19 (1,2%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	13 (3,2%)	6 (3,5%)
<i>Entamoeba histolytica</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Giardia lamblia</i>	27 (1,7%)	1 (0,8%)	6 (1,4%)	5 (2,6%)	2 (0,8%)	13 (3,2%)	0 (0,0%)

Wirusy							
Adenowirus F 40/41	55 (3,5%)	12 (9,9%)	36 (8,6%)	5 (2,6%)	0 (0,0%)	2 (0,5%)	0 (0,0%)
Astrowirus	8 (0,5%)	1 (0,8%)	4 (1,0%)	0 (0,0%)	1 (0,4%)	2 (0,5%)	0 (0,0%)
Norowirus GI/GII	70 (4,5%)	15 (12,4%)	31 (7,4%)	5 (2,6%)	7 (2,9%)	9 (2,2%)	3 (1,7%)
Rotawirus A	18 (1,2%)	11 (9,1%)	2 (0,5%)	1 (0,5%)	1 (0,4%)	2 (0,5%)	1 (0,6%)
Sapowirus	59 (3,8%)	12 (9,9%)	31 (7,4%)	7 (3,6%)	1 (0,4%)	5 (1,2%)	3 (1,7%)

^a 10 z 49 *Shigella*/EIEC wykryto w placówce badawczej w Providence, RI, w lipcu 2013, podczas lokalnej epidemii *Shigelli*.

^b Wszystkie 19 *C. cayetanensis* zostało wykrytych w placówce badawczej w Omaha, NE, między czerwcem a lipcem 2013, podczas obejmującej kilka stanów epidemii *Cyclospora*.

FilmArray Panel nie bada wszystkich próbek na obecność EPEC czy *E. coli* O157. Próbki dodatnie STEC (w których wykryto *stx1/stx2*) nie są badane pod kątem obecności EPEC. I odwrotnie, obecność *E. coli* O157 jest sprawdzana tylko w próbkach dodatnich STEC (dodatkowe wyjaśnienia znajdują się w części poświęconej interpretacji wyników). W poniższej tabeli przedstawione zostały oczekiwane wartości dla *E. coli* O157 oraz szczepy enteropatogennych *E. coli* (EPEC) w połączeniu z mającymi zastosowanie wynikami STEC *stx1/stx2* (odpowiednio: Detected - wykryto lub Not Detected - nie wykryto).

Tabela 7. Przegląd wartości oczekiwanych (określonych w badaniu FilmArray GI Panel) na obecność *E. coli* O157 i szczepów enteropatogennych *E. coli* (EPEC), w połączeniu z mającymi zastosowanie wynikami STEC, w prospektywnym badaniu klinicznym (od maja do września 2013)

Wynik FilmArray GI Panel (z odpowiednimi wynikami STEC <i>stx1/stx2</i>)	Razem próbek	<1 roku	1-5 lat	6-12 lat	13-21 lat	22-64 lat	65+ lat
<i>E. coli</i> O157 wykryto (STEC <i>stx1/stx2</i> wykryto)	4/38 (10,5%)	0/1 (0,0%)	3/24 (12,5%)	1/2 (50,0%)	0/4 (0,0%)	0/5 (0,0%)	0/2 (0,0%)
Szczepy enteropatogenne <i>E. coli</i> (EPEC) wykryto (STEC <i>stx1/stx2</i> nie wykryto)	348/1518 (22,9%)	30/120 (25,0%)	155/394 (39,3%)	45/191 (23,6%)	46/236 (19,5%)	55/406 (13,5%)	17/171 (9,9%)

Podczas prospektywnej ewaluacji klinicznej FilmArray GI Panel stwierdził, że w 262 próbkach występuje wiele organizmów (tzn. infekcje mieszane). Oznacza to 31,5% (262 / 832) z wszystkich próbek dodatnich i 16,8% z wszystkich próbek poddanych badaniu (262 / 1556). Oczekiwane wartości dla każdego organizmu wykrywanego przez FilmArray GI Panel przy infekcjach mieszanych przedstawiono w poniższej tabeli.

Tabela 8. Oczekiwane wartości dla analitów z infekcjami mieszanymi (ustalone przez FilmArray GI Panel) w prospektywnym badaniu klinicznym (od maja do września 2013)

Analit	Liczba próbek zawierających analit z infekcjami mieszanymi	Udział procentowy infekcji mieszanych (N = 262)
Bakterie		
<i>Campylobacter</i>	30	11,5%
<i>Clostridium difficile</i> toksyna A/B	109	41,6%
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	16	6,1%
<i>Salmonella</i>	15	5,7%
<i>Vibrio</i>	1	0,4%
<i>Vibrio cholerae</i>	1	0,4%
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1	0,4%

Analit	Liczba próbek zawierających analit z infekcjami mieszany	Udział procentowy infekcji mieszanych (N = 262)
Wywołujące biegunkę szczepy <i>E. coli</i>/Shigella		
Szczepy adherentne <i>E. coli</i> (EAEC)	67	25,6%
Szczepy enteropatogenne <i>E. coli</i> (EPEC)	159	60,7%
Szczepy enterotoksyczne <i>E. coli</i> (ETEC) <i>lt/st</i>	26	9,9%
Szczepy werotoksyczne <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i>	13	5,0%
<i>E. coli</i> O157	1	0,4%
Shigella / szczepy enteroinwazyjne <i>E. coli</i> (EIEC)	17	6,5%
Pasożyty		
<i>Cryptosporidium</i>	11	4,2%
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	2	0,8%
<i>Entamoeba histolytica</i>	0	0%
<i>Giardia lamblia</i>	14	5,3%
Wirusy		
Adenowirus F 40/41	34	13,0%
Astrowirus	4	1,5%
Norowirus GI/GII	43	16,4%
Rotawirus A	10	3,8%
Sapowirus	33	12,6%

CHARAKTERYSTYKA DZIAŁANIA

Skuteczność kliniczna

Skuteczność kliniczna systemu FilmArray GI Panel została określona podczas wieloośrodkowego badanie przeprowadzonego w placówkach badawczych, mieszczących się w czterech oddzielnych regionach USA, w okresie od maja do września 2013 roku. Do badań klinicznych pozyskano łącznie 1578 prospektywnych próbek stolca na wymazówce z podłożem Cary Blair. 22 z nich wyłączono z badania. Najczęstszymi przyczynami odrzucenia były: nie zakończenie kontroli zewnętrznej w sposób prawidłowy w dniu badania, próbki nie zostały umieszczone na właściwych podłożach, wymaganych przez metodę referencyjną, bądź minęło więcej niż 4 dni od chwili pobrania próbki. Ostatecznie dane uzyskano z 1556 próbek. W tabeli 9 przedstawiono podsumowanie danych demograficznych osób, od których pobrano wszystkie te próbki.

Tabela 9. Podsumowanie danych demograficznych w prospektywnym badaniu klinicznym FilmArray GI Panel

Próbki poddane badaniu prospektywnemu	
Łączna liczba próbek	1556
Płeć	Liczba próbek (%)
Mężczyźni	718 (46%)
Kobiety	838 (54%)
Grupa wiekowa	Liczba próbek (%)
<1 roku	121 (8%)
1-5 lat	418 (27%)
6-12 lat	193 (12%)
13-21 lat	240 (15%)

Próbki poddane badaniu prospektywnemu	
22-64 lat	411 (26%)
65+ lat	173 (11%)
Status	Liczba próbek (%)
Przychodnie	1350 (87%)
Szpital	164 (11%)
Oddziały ratunkowe	42 (3%)

Działanie FilmArray GI Panel zostało ocenione poprzez porównanie wyników uzyskanych przez FilmArray GI Panel od każdej osoby uczestniczącej w badaniu, z użyciem odpowiednich metod porównawczo-referencyjnych, wymienionych w poniższej tabeli.

Tabela 10. Metody porównawcze w prospektywnym badaniu klinicznym FilmArray GI Panel

Wyniki uzyskane przez FilmArray	Metoda porównawczo-referencyjna
<i>Campylobacter</i>	Posiew ze stolca ^b (agar z krwią, agar z krwią z ampicylina, agar MacConkeya, agar MacConkeya z sorbitolem, GN broth +, agar HEA, agar dla <i>Campylobacter</i> , agar Cefsulodin-Irgasan™-Novobiocin oraz agar TCBS) wykonany standardowymi technikami ręcznymi i zautomatyzowanymi identyfikacji mikrobiologicznej / biochemicznej
<i>E. coli</i> O157 ^a	
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	
<i>Salmonella</i>	
<i>Vibrio</i> i <i>V. cholerae</i>	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	
STEC (<i>stx1/2</i>)	PCR z dwukierunkowym sekwencjonowaniem ^h
ETEC	
EPEC ^c	
EIEC/ <i>Shigella</i> ^d	
EAEC	
Adenowirus F 40/41	
Astrowirus	
Norowirus GI/GII ^e	
Rotawirus A	
Sapowirus ^f	
<i>Clostridium difficile</i> toksyna A/B	
<i>Cryptosporidium</i>	
<i>Giardia lamblia</i> ^g	
<i>Cyclospora cayentanensis</i>	
<i>Entamoeba histolytica</i>	

^a Ze względu na to, że FilmArray bada wyłącznie próbki dodatnie STEC na obecność *E. coli* O157, dane z metody porównawczej były stosowane jedynie do określenia dokładności wykrywania przez FilmArray bakterii *E. coli* O157 w próbkach, w których za pomocą FilmArray wykryto STEC.

^b Wszystkie bakterie wyizolowane z posiewu stolca, których za pomocą metod laboratoryjnych nie można było rozpoznać na poziomie gatunku, zostały poddane sekwencjonowaniu za pomocą badania umożliwiającego uzyskanie informacji o gatunku (np. 16S).

^c Wynik dla EPEC jest podawany tylko gdy nie występuje STEC (ten sam algorytm, który stosuje FilmArray).

^d *Shigellę* można identyfikować poprzez rutynowy posiew, jednak wykrycie zostanie potwierdzone wyłącznie dla celów informacyjnych.

^e Badania CDC Calicinet (uniemożliwiające wykrywanie sekwencji) zostało zastosowane jako metoda porównawcza dla norowirusa.

^f Na badanie porównawcze na sapowirusy składało się jedno dobrze potwierdzone badanie umożliwiające wykrywanie sekwencji i jedno z ogólnie dostępnymi wynikami, które nie umożliwiałoby wykrywania sekwencji.

^g Badania porównawcze *G. lamblia* składały się z jednego dobrze potwierdzonego, umożliwiające wykrywanie sekwencji badania i jedno z ogólnie dostępnymi wynikami, które nie umożliwiałoby wykrywania sekwencji.

^h Badania PCR zostało przewidziane do amplifikacji innych sekwencji niż te oznaczane przez FilmArray GI. Wyniki dodatnie badań umożliwiających wykrywanie sekwencji wymagały sekwencji o jakości odpowiedniej do tego, by pokryły się z predefiniowanymi kryteriami jakości zgodnymi z wzorcami sekwencji organizmów przechowywanych w bazie danych GenBanku National Center for Biotechnology Information (NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov), z akceptowalnymi wartościami E.

Badaniu poddano 1556 próbek. Czulość kliniczną lub procent zgodności dodatniej (PPA) obliczono z wzoru $100\% \times (PD / PD + FU)$. Wyniki prawdziwie dodatnie (PD) wskazują, że zarówno FilmArray GI Panel, jak i metoda referencyjno-porównawcza dały wyniki dodatnie dla danego analitu, natomiast wyniki fałszywie ujemne (FU) - że wynik uzyskany z FilmArray był ujemny, podczas gdy wynik porównawczy był dodatni. Swoistość kliniczną lub procent zgodności ujemnej (NPA) obliczono z wzoru $100\% \times (PU / PU + FD)$. Wyniki prawdziwie ujemne (PU) wskazują, że zarówno FilmArray GI Panel, jak i metoda referencyjno-porównawcza dały wyniki ujemne dla danego analitu, natomiast wyniki fałszywie dodatnie (FD) - że wynik FilmArray GI Panel był dodatni, podczas gdy wynik porównawczy był ujemny. Dokładny dwumianowy dwustronny 95% przedział ufności (CI) został obliczony. Wyniki przedstawia Table 11.

Tabela 11. Skuteczność kliniczna FilmArray GI

Bakterie	Czulość / PPA ^a			Swoistość / NPA ^a		
	PD/(PD +FU)	%	95% CI	PU/(PU+FD)	%	95% CI
<i>Campylobacter</i> (<i>C. jejuni</i> / <i>C. coli</i> / <i>C. upsaliensis</i>)	34/35 ^b	97,1	85,1-99,9	1497/1521 ^b	98,4	97,7-99,0
<i>Clostridium difficile</i> toksyna A/B ^a	163/165 ^c	98,8	95,7-99,9	1350/1391 ^c	97,1	96,0-97,9
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	3/3	100	29,2-100	1538/1553 ^d	99,0	98,4-99,5
<i>Salmonella</i>	31/31	100	88,8-100	1519/1525 ^e	99,6	99,1-99,9
<i>Vibrio</i> (<i>V. parahaemolyticus</i> / <i>V. vulnificus</i> / <i>V. cholerae</i>)	0/0	-	-	1554/1556 ^f	99,9	99,5-100
<i>Vibrio cholerae</i>	0/0	-	-	1555/1556 ^g	99,9	99,6-100
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1/1	100	N/A (nie dotyczy)	1555/1555	100	99,8-100
Wywołujące biegunkę szczepy <i>E. coli</i>/Shigella	Procent zgodności dodatniej (PPA)^a			Procent zgodności ujemnej (NPA)^a		
	PD/(PD +FU)	%	95% CI	PU/(PU+FD)	%	95% CI
Szczepy adherentne <i>E. coli</i> (EAEC)	82/83	98,8	93,5-100	1446/1473 ^h	98,2	97,3-98,8
Szczepy enteropatogenne <i>E. coli</i> (EPEC)	314/317	99,1	97,3-99,8	1167/1201 ⁱ	97,2	96,1-98,0
Szczepy enterotoksyczne <i>E. coli</i> (ETEC) <i>lt/st</i>	22/22	100	84,6-100	1525/1534 ^j	99,4	98,9-99,7
Szczepy werotoksyczne <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i>	33/33	100	89,4-100	1518/1523 ^k	99,7	99,2-99,9
<i>E. coli</i> O157 ^a	3/3	100	29,2-100	34/35 ^l	97,1	85,1-99,9
<i>Shigella</i> / szczepy enteroinwazyjne <i>E. coli</i> (EIEC).	47/49	95,9	86,0-99,5	1505/1507	99,9	99,5-100

Pasożyty	Procent zgodności dodatniej (PPA) ^a			Procent zgodności ujemnej (NPA) ^a		
	PD/(PD +FU)	%	95% CI	PU/(PU+FD)	%	95% CI
<i>Cryptosporidium</i>	18/18	100	81,5-100	1532/1538 ^m	99,6	99,2-99,9
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	19/19	100	82,4-100	1537/1537	100	99,8-100
<i>Entamoeba histolytica</i>	0/0	-	-	1556/1556	100	99,8-100
<i>Giardia lamblia</i>	20/20	100	83,2-100	1529/1536 ⁿ	99,5	99,1-99,8
Wirusy	Procent zgodności dodatniej (PPA) ^a			Procent zgodności ujemnej (NPA) ^a		
	PD/(PD +FU)	%	95% CI	PU/(PU+FD)	%	95% CI
Adenowirus F 40/41	42/44 ^o	95,5	84,5-99,4	1499/1512 ^o	99,1	98,5-99,5
Astrowirus	7/7	100	59,0-100	1548/1549 ^p	99,9	99,6-100
Norowirus GI/GII	52/55 ^q	94,5	84,9-98,9	1483/1501 ^q	98,8	98,1-99,3
Rotawirus A	6/6	100	54,1-100	1538/1550 ^r	99,2	98,7-99,6
Sapowirus (genogrupa I, II, IV i V)	46/46	100	92,3-100	1497/1510 ^s	99,1	98,5-99,5

^a Skuteczność wykrywania *C. difficile* jest zgłaszana jako procent zgodności dodatniej (PPA) / procent zgodności ujemnej (NPA), a skuteczność wykrywania *E. coli* O157 jest zgłaszana jako czułość / swoistość, w przeciwieństwie do nagłówków poświęconych im części. Miary skuteczności dla czułości i swoistości odnoszą się tylko do tych analizów, dla których zastosowano badanie referencyjne (tzw. „złoty standard”) hodowli komórkowej; *Campylobacter*, *E. coli* O157, *Plesiomonas shigelloides*, *Salmonella*, *Vibrio cholerae* oraz *Yersinia enterocolitica*. Miary skuteczności dla procentu zgodności dodatniej (PPA) i procentu zgodności ujemnej (NPA) dotyczą wszystkich pozostałych analizów, dla których zastosowano PCR / badanie sekwencji jako metodę porównawczą.

^b *Campylobacter jejuni* podgat. *doylei* został rozpoznany w jednej próbce fałszywie ujemnej z wykorzystaniem dwukierunkowej analizy sekwencji. *Campylobacter* został wykryty w 19/24 próbek fałszywie dodatnich z wykorzystaniem dwukierunkowej analizy sekwencji.

^c *C. difficile* został wykryty w 1/2 próbek fałszywie ujemnych i 41/41 próbek fałszywie dodatnich z wykorzystaniem dwukierunkowej analizy sekwencji.

^d *P. shigelloides* został wykryty w 15/15 próbek fałszywie dodatnich z wykorzystaniem dwukierunkowej analizy sekwencji.

^e *Salmonella* została wykryta w 6/6 próbek fałszywie dodatnich z wykorzystaniem dwukierunkowej analizy sekwencji.

^f *Vibrio* został wykryty w 2/2 próbek fałszywie dodatnich z wykorzystaniem dwukierunkowej analizy sekwencji.

^g *V. cholerae* został rozpoznany w jednej próbce fałszywie dodatniej z wykorzystaniem dwukierunkowej analizy sekwencji.

^h EAEC został wykryty w 27/27 próbek fałszywie dodatnich z wykorzystaniem dwukierunkowej analizy sekwencji.

ⁱ EPEC został wykryty w 23/34 próbek fałszywie dodatnich z wykorzystaniem dwukierunkowej analizy sekwencji.

^j ETEC został wykryty w 6/9 próbek fałszywie dodatnich z wykorzystaniem dwukierunkowej analizy sekwencji. Jak stwierdzono, trzy pozostałe wyniki fałszywie dodatnie otrzymano na skutek reaktywności krzyżowej z *Citrobacter koseri* (2 przypadki) i *Hafnia alvei* (1 przypadek). Bakterie te zawierają wariant genu *fliP* z sekwencją podobną do pramerów w badaniu.

^k STEC został wykryty w 5/5 próbek fałszywie dodatnich z wykorzystaniem dwukierunkowej analizy sekwencji.

^l *E.coli* O157 został rozpoznany w jednej próbce fałszywie dodatniej z wykorzystaniem dwukierunkowej analizy sekwencji.

^m *Cryptosporidium* zostało wykryte w 6/6 próbek fałszywie dodatnich z wykorzystaniem dwukierunkowej analizy sekwencji.

ⁿ *G. lamblia* została wykryta w 4/7 próbek fałszywie dodatnich z wykorzystaniem dwukierunkowej analizy sekwencji. Przyczyną uzyskania dwóch wyników fałszywie dodatnich prawdopodobnie była reaktywność krzyżowa z *Bifidobacterium longum* oraz *Ruminococcus callidus*.

^o Adenowirus został wykryty w 1/2 próbek fałszywie ujemnych i 11/13 próbek fałszywie dodatnich z wykorzystaniem dwukierunkowej analizy sekwencji.

^p Astrowirus został rozpoznany w jednej próbce fałszywie dodatniej z wykorzystaniem dwukierunkowej analizy sekwencji.

^q System FilmArray GI Panel wykrył norowirus w 1/3 próbek fałszywie ujemnych w trakcie ponownej analizy. Norowirus został wykryty w 1/2 pozostałych próbek fałszywie ujemnych oraz 8/18 fałszywie dodatnich próbek w drodze dwukierunkowej analizy sekwencji.

^r Rotawirus A został wykryty w 11/12 próbek fałszywie dodatnich z wykorzystaniem dwukierunkowej analizy sekwencji.

^s Sapowirus został wykryty w 12/13 próbek fałszywie dodatnich z wykorzystaniem dwukierunkowej analizy sekwencji.

FilmArray GI podaje wyniki na poziomie rodzaju (lub grupy wielu gatunków) dla trzech analizów z bakteriami, tj.:

Campylobacter (*C. jejuni*/*C. coli*/*C. upsaliensis*), *Salmonella* oraz *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*/*V. vulnificus*/*V. cholerae*).

W trakcie ewaluacji klinicznej rozpoznano za pomocą standardowych metod laboratoryjnych różne gatunki lub serowary w ramach każdej z tych grup. Gdy metody te nie pozwoliły na rozpoznanie gatunków, zastosowano do tego celu

dwukierunkowe sekwencjonowanie izolatów. Skuteczność według gatunków lub serowarów przedstawiono poniżej. Nie wyizolowano żadnych organizmów metodą posiewu dla *Vibrio*, jednak dwukierunkowe sekwencjonowanie z próbki

oryginalnej pozwoliło rozpoznać jeden *V. parahaemolyticus* i jeden *V. cholerae*.

Tabela 12. Skuteczność kliniczna wykrywania *Campylobacter* z podziałem na gatunki

Gatunki <i>Campylobacter</i> ^a	Czułość
<i>C. jejuni</i> ^b	31/31 (100%)
<i>C. coli</i>	2/2 (100%)
<i>C. jejuni</i> podgat. <i>doylei</i>	0/1 (0%)
<i>C. upsaliensis</i>	1/1 (100%)
Ogółem dla <i>Campylobacter</i>	34/35 (97,1%) 95% CI = 81,3-99,3%

^a W piętnastu (15) przypadkach *Campylobacter* nie został podzielony na gatunki w laboratorium wykonującym badania ewaluacyjne, poddano go natomiast sekwencjonowaniu genu *cadF*. Tą metodą określono jedenaście przypadków *C. jejuni*, dwa *C. coli*, jeden *C. jejuni* podgat. *doylei* oraz jeden *C. upsaliensis*.

^b Dwa przypadki *C. jejuni* rozpoznano pierwotnie w laboratorium wykonującym badania ewaluacyjne jako szczepy gatunku *Campylobacter*. Dopiero wykonane w powyższym laboratorium sekwencjonowanie izolatów doprowadziło do rozpoznania ich jako *C. jejuni*. Badania molekularne próbek, z której uzyskano izolaty, także doprowadziły do wykrycia obecności *C. upsaliensis*, wskazując na koinfekcję pomiędzy tymi dwoma gatunkami.

Tabela 13. Skuteczność kliniczna wykrywania *Salmonelli* z podziałem na gatunki i serowary

Gatunki i serowary <i>Salmonelli</i>	Czułość
<i>S. enterica</i> ser. Enteritidis	7/7 (100%)
<i>S. enterica</i> ser. Typhimurium (i:-)	7/7 (100%)
<i>S. enterica</i> ser. Typhimurium	3/3 (100%)
<i>S. enterica</i> ser. Javiana	2/2 (100%)
<i>S. enterica</i> ser. Newport	2/2 (100%)
<i>S. enterica</i> ser. Agbeni	1/1 (100%)
<i>S. enterica</i> ser. Berta	1/1 (100%)
<i>S. enterica</i> ser. Ealing	1/1 (100%)
<i>S. enterica</i> ser. Gaminara	1/1 (100%)
<i>S. enterica</i> ser. Infantis	1/1 (100%)
<i>S. enterica</i> ser. Mbandaka	1/1 (100%)
<i>S. enterica</i> ser. Miami	1/1 (100%)
<i>S. enterica</i> ser. Monachium	1/1 (100%)
<i>S. enterica</i> ser. Paratyphi B var L-Tartrate	1/1 (100%)
<i>S. enterica</i> ser. Thompson	1/1 (100%)
Ogółem dla <i>Salmonelli</i>	31/31 (100%) 95% CI = 88,8-100%

FilmArray GI Panel stwierdził, że w 262 próbkach występuje wiele organizmów (tzn. infekcje mieszane). Oznacza to 31,5% (262 / 832) z wszystkich próbek dodatnich i 16,8% z wszystkich próbek (262 / 1556). W większości przypadków próbki, w których wykryto wielu organizmów (199 / 262; 76,0%) zawierały dwa organizmy, 19,1% (50 / 262) - trzy organizmy, 3,4% (9 / 262) - cztery organizmy, 1,1% (3 / 262) - pięć organizmów, a 0,4% (1 / 262) - sześć organizmów. Trzy organizmy dominujące w koinfekcjach były jednocześnie tymi samymi, które najczęściej wykrywano w badaniu. Były to: EPEC, *C. difficile* i EAEC. Spośród 262 próbek, w których wykryto wiele organizmów, 144 (55,0%; 144 / 262) było zgodnych z metodami referencyjnymi. 118 próbek (45,0%; 118/262) zawierało jeden lub więcej organizmów nie wykrytych metodami referencyjno-porównawczymi (tj. 139 wyników fałszywie dodatnich); jednakże za pomocą analizy dwukierunkowej sekwencji potwierdzono obecność w analizie dla 88,5% (123 / 139) wyników rozbieżnych.

Najczęściej występującą infekcją mieszaną była koinfekcja *C. difficile* z EPEC (2% wszystkich próbek; 32 / 1556), następnie EAEC z EPEC (1% wszystkich próbek; 15 / 1556); jak wcześniej zaznaczono, były to najczęściej obecne organizmy w trakcie ewaluacji. W przypadku wszystkich kombinacji klas analitów obserwowano infekcje mieszane (np. bakterii z wirusami, wywołujących biegunkę *E. coli/Shigella* z pasożytami), a same koinfekcje występowały wewnątrz samych klas (np. trzy różne, wywołujące biegunkę *E. coli/Shigella*; ETEC, EAEC i STEC).

Tabela 14. Najczęściej występujące kombinacje koinfekcji (≥5 przypadków) stwierdzone przez FilmArray GI Panel

Kombinacje koinfekcji	Liczba przypadków
<i>C. difficile</i> toksyna A/B + EPEC	32
EAEC + EPEC	15
<i>Campylobacter</i> + EPEC	11
EPEC + sapowirus	10
Adenowirus + EPEC	9
EPEC + norowirus GI/GII	9
<i>C. difficile</i> toksyna A/B + EAEC	7
<i>C. difficile</i> toksyna A/B + norowirus GI/GII	6
<i>C. difficile</i> toksyna A/B + STEC <i>stx1/stx2</i>	5
EPEC + ETEC <i>lt/st</i>	5
EPEC + <i>G. lamblia</i>	5
EPEC + <i>Shigella/EIEC</i>	5

Ogólna skuteczność wykrywania w pierwszych testach wykonanych na próbkach w ramach badań prospektywnych wynosiła 99,2% (1544 / 1557). Cztery testy nie zostały ukończone z powodu błędów oprogramowania (3) lub przerwania cyklu przez użytkownika (1), a w przypadku dziewięciu testów doszło do niepowodzenia kontroli saszetki. Wszystkie próbki prócz jednej zostały ponownie przetestowane w ciągu czterech dni od ich pobrania, przy pierwszym podejściu uzyskując wynik (99,9% <1556 / 1557>).

Badanie wybranych zarchiwizowanych próbek

W badaniu klinicznym niektóre analizy albo nie wystąpiły w badanym materiale, albo były w ilości szczątkowej. W celu uzupełnienia wyników tego badania dokonano oceny wybranych, 222 zarchiwizowanych próbek. Były to przechowywane kliniczne próbki, a kryterium ich wybrania było wcześniejsze uzyskanie dodatniego wyniku na obecność jednego z następujących organizmów: *E. coli* O157, *P. shigelloides*, *Y. enterocolitica*, *Vibrio*, astrowirus, rotawirus A oraz *E. histolytica*, albo dały wynik ujemny w poprzednich testach laboratoryjnych. Przed wykonaniem badania FilmArray GI Panel potwierdzono w każdym materiale obecność (lub jej brak) oczekiwanych analitów, stosując w tym celu PCR ukierunkowane na obecność tych analitów, z późniejszym wykorzystaniem analizy reakcji dwukierunkowego sekwencjonowania.

Materiały zgrupowano w „panele” i zrandomizowano, aby laboranci przeprowadzający badania FilmArray GI nie wiedzieli, jakich wyników oczekiwać. Dostępne dane demograficzne osób, od których pochodziły przebadane próbki, podaje Table 15, a wyniki badań FilmArray GI są pokazane w Tabeli 16.

Tabela 15. Dane demograficzne dotyczące zarchiwizowanych, preselekcjonowanych próbek

Preselekcjonowane zarchiwizowane próbki	
Łączna liczba próbek	222
Płeć	Liczba próbek (%)
Mężczyźni	57 (25,7%)
Kobiety	48 (21,6%)
Nieznana	117 (52,7%)
Grupa wiekowa	Liczba próbek (%)
<1 roku	12 (5,4%)
1-5 lat	36 (16,2%)
6-12 lat	15 (6,8%)
13-21 lat	11 (5%)
22-64 lat	18 (8,1%)
65+ lat	4 (1,8%)
Nieznana	126 (56,8%)

Tabela 16. Skuteczność FilmArray GI Panel na podstawie zarchiwizowanych próbek

Analit	Procent zgodności dodatniej (PPA)			Procent zgodności ujemnej (NPA)		
	PD/(PD +FU)	%	95% CI	PU/(PU+FD)	%	95% CI
Bakterie						
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	12/12	100	73,5-100	107/107	100	96,6-100
<i>Vibrio</i>	1/1	100	N/A (nie dotyczy)	127/127	100	97,1-100
<i>Yersinia enterocolitica</i>	8/8	100	63,1-100	117/117	100	96,9-100
Wywołujące biegunkę szczepy <i>E. coli</i>/Shigella						
(STEC) <i>E. coli</i> O157 ^a	19/19	100	82,4-100	0/0	-	-
Pasożyty						
<i>Cryptosporidium</i>	29/30	96,7	82,8-99,9	66/66	100	94,6-100
<i>Entamoeba histolytica</i>	2/2	100	15,8-100	123/123	100	97,0-100
<i>Giardia lamblia</i>	26/26	100	86,8-100	66/66	100	94,6-100
Wirusy						
Astrowirus	31/32	96,9	83,8-99,9	91/91	100	96,0-100
Rotawirus A	29/29	100	88,1-100	65/65	100	94,5-100

^a Procent zgodności ujemnej (NPA) nie mógł być wyliczony dla *E. coli* O157 z powodu braku non-O157 STEC w zbiorze danych.

Badanie spreparowanych próbek

Skuteczność systemu nie została w przypadku pewnych analitów potwierdzona z powodu ich zbyt rzadkiego występowania w badaniach prospektywnych, jak i zarchizowanych, jak ma to miejsce dla *Entamoeba histolytica*. W celu uzupełnienia powyższych danych przeprowadzono badania spreparowanych próbek. Zostały one przygotowane na podstawie próbek pozostałych z prospektywnego badania klinicznego, które wcześniej dały wynik ujemny we wszystkich badaniach analitów wykonanych przez FilmArray GI panel i metodą porównawczą. Próbki te, dla każdego organizmu, załadowano pięcioma różnymi szczepami do poziomu wykrywalnego przez badania kliniczne, pozostawiając po 50 „niezaładowanych” do każdego badania. Laboranci badający próbki otrzymali je jako zaślepienie na status analitu. Wyniki badań przeprowadzone przez FilmArray przedstawiono w tabeli 17.

Tabela 17. Skuteczność FilmArray GI Panel sprawdzona z zastosowaniem spreparowanych próbek

Analit	Procent zgodności dodatniej (PPA)			Procent zgodności ujemnej (NPA)		
	PD/(PD +FU)	%	95% CI	PU/(PU+FD)	%	95% CI
<i>Entamoeba histolytica</i>	44/50	88,0	75,7-95,5	75/75	100	95,2-100
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	70/70	100	94,9-100	105/105	100	96,5-100
<i>Vibrio</i> ^a	112/115	97,4	92,6-99,5	60/60	100	94,0-100
<i>V. cholerae</i> ^b	55/65	84,6	73,5-92,4	110/110	100	96,7-100
<i>Yersinia enterocolitica</i>	65/65	100	94,5-100	110/110	100	96,7-100

^a Zawiera 64/65 *V. cholerae* (załadowano pięć różnych szczepów; jedna próbka załadowana na poziomie bliskim wykrycia nie została określona jako dodatnia) oraz 48/50 non-*V. cholerae* (załadowane zostały cztery szczepy *V. parahaemolyticus* oraz jeden szczep *V. vulnificus*; dwie próbki załadowane *V. parahaemolyticus* na poziomie bliskim wykrycia nie zostały określone jako dodatnie).

^b Dziesięć (10) z tych gatunków zostało załadowanych izolatami, który - jak ustalono - posiadał na tyle mocno odmienny gen *toxR*, że nie był znany w bazie danych NCBI i nie reagował z badaniem FilmArray GI Panel *V. cholerae*. Badanie FilmArray GI Panel *Vibrio* dało dziewięć dodatnich wyników przy badaniu tych próbek.

Granica wykrywalności

Analityczna wrażliwość, czyli granica wykrywalności (LoD), względem mikroorganizmów wykrywanych przy użyciu systemu FilmArray GI została oceniona na podstawie rozcieńczeń próbek zawierających jeden lub wiele (maksymalnie cztery) szczepów mikroorganizmów. Na podstawie tych badań określono, czy na czułość oznaczenia wpływa obecność wielu mikroorganizmów w jednej próbce. Czułość oznaczeń była równa w próbkach zainokulowanych jednym lub wieloma rodzajami mikroorganizmów, a większość badań potwierdzających przeprowadzono przy użyciu próbek zainokulowanych wieloma szczepami. Granica wykrywalności została zatem określona jako najniższe stężenie, dla którego analit był skutecznie wykrywany (≥95% badanych próbek).

Potwierdzenie granic wykrywalności było wykonywane poprzez zainokulowanie mikroorganizmów (jeden lub wiele szczepów) w stężeniach zbliżonych do granicy wykrywalności określonej przy użyciu serii rozcieńczeń do 20 niezależnych próbek kału. Granica wykrywalności została potwierdzona, gdy dla odpowiedniej kombinacji mikroorganizm/oznaczenie uzyskano prawidłowy wynik w co najmniej 19 z 20 próbek (19/20 = 95%) zbadanych przy użyciu systemu FilmArray dla stężenia określonego w tabeli 18. Prawidłowe wyniki uzyskano również w 19/20 powtórzeń (≥95%) również dla analizów oznaczenia GI Panel występujących w stężeniu wynoszącym jednokrotność granicy wykrywalności (1 x LoD). Badania przeprowadzono na systemach FilmArray 2.0 i FilmArray Torch przy użyciu takich samych lub podobnych izolatów.

Tabela 18. Granica wykrywalności (LoD) analizów FilmArray GI Panel

Wyniki badania GI Panel	Przebadane gatunki lub izolaty	Stężenie LoD	Skuteczność wykrywania na granicy wykrywalności przy użyciu systemu FilmArray
BAKTERIE			
<i>Campylobacter</i>	<i>Campylobacter coli</i> ATCC 33559	4 x 10 ⁴ komórek / ml	20/20 100%
	<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC BAA-1234		20/20 100%
	<i>Campylobacter upsaliensis</i> ATCC BAA-1059		20/20 100%
<i>Clostridium difficile</i> (toksyna A/B)	<i>Clostridium difficile</i> Toksynotyp 0 A+B+ ATCC 9689	4 x 10 ⁵ komórek / ml	20/20 100%
	<i>Clostridium difficile</i> (NAP1) Toksynotyp III A+B+ Zeptomatrix #801619	4 x 10 ⁴ komórek / ml	19/20 95%

Wyniki badania GI Panel	Przebadane gatunki lub izolaty	Stężenie LoD	Skuteczność wykrywania na granicy wykrywalności przy użyciu systemu FilmArray
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i> ATCC 14029	1 x 10 ³ CFU/ml	20/20 100%
<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella bongori</i> O66:H1z41:H2- SGSC RKS#3041 SarC11	1 x 10 ⁴ CFU/ml	20/20 100%
	<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i> serowar Typhimurium O1,4,[5],12:H1i:H21,2 SGSC RKS#4194 SarC1	5 x 10 ³ CFU/ml	20/20 100%
<i>Vibrio</i> oraz <i>Vibrio cholerae</i>	<i>Vibrio cholerae</i> Ogawa serotyp O:1 ATCC 14035	8 x 10 ³ komórek / ml	20/20 100%
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> ATCC 17802	8 x 10 ⁴ komórek / ml	20/20 100%
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> Biovar1 serogrupa O:8 ATCC 9610	5 x 10 ⁴ CFU/ml	20/20 100%
WYWOŁUJĄCE BIEGUNKĘ SZCZEPY <i>E. coli</i>/Shigella			
Szczepy adherentne <i>E. coli</i> (EAEC)	<i>Escherichia coli</i> JM221 O92:H33 STEC Center	1 x 10 ⁴ CFU/ml	20/20 100%
Szczepy enteropatogenne <i>E. coli</i> (EPEC)	<i>Escherichia coli</i> E2348/69 O127:H6 STEC Center	1 x 10 ³ CFU/ml	20/20 100%
Szczepy enterotoksyczne <i>E. coli</i> (ETEC) <i>lt/st</i>	<i>Escherichia coli</i> H10407 O78:H11 ATCC 35401	1 x 10 ³ CFU/ml	20/20 100%
Szczepy werotoksyczne <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i> <i>E. coli</i> O157	<i>Escherichia coli</i> O26:H11 ATCC BAA-2196	1 x 10 ³ CFU/ml	20/20 100%
	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 43895	1 x 10 ⁴ CFU/ml	20/20 100%
<i>Shigella</i> /szczepy enteroinwazyjne <i>E. coli</i> (EIEC)	<i>Escherichia coli</i> O29:NM ATCC 43892	5 x 10 ³ CFU/ml	20/20 100%
	<i>Shigella sonnei</i> ATCC 29930	100 CFU/ml	20/20 100%
PASOŻYTY			
<i>Cryptosporidium</i> ^a	<i>Cryptosporidium parvum</i> Iowa izolat (Harley Moon) Waterborne, Inc. P102C	5 x 10 ³ oocyst / ml ^a	20/20 100%
	<i>Cryptosporidium hominis</i> Próbka kliniczna		20/20 100%
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	<i>Cyclospora cayetanensis</i> Próbka kliniczna	180 ekwiwalentów genomu (GE) /ml	20/20 100%
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Entamoeba histolytica</i> HM-1:IMSS ATCC 30459	2 x 10 ³ komórek / ml	19/20 95%
<i>Giardia lamblia</i>	<i>Giardia intestinalis</i> (czyli <i>G. lamblia</i>) ATCC 30957	50 komórek / ml	20/20 ^b 100%
WIRUSY			
Adenowirus F 40/41	Adenowirus F40 ATCC VR-931	1 TCID ₅₀ /ml	20/20 100%
	Adenowirus F41 ATCC VR-930	100 TCID ₅₀ /ml	20/20 100%
Astrowirus	Astrowirus - typ 8 NCPV#1003071v	50 FFU / ml	20/20 100%
Norowirus GI/GII	Norowirus GI	1 x 10 ⁴ kopii RNA / ml	19/20

Wyniki badania GI Panel	Przebadane gatunki lub izolaty	Stężenie LoD	Skuteczność wykrywania na granicy wykrywalności przy użyciu systemu FilmArray
	Próbka kliniczna		95%
	Norowirus GII		20/20
	Próbka kliniczna		100%
Rotawirus A	Rotawirus A - G4[P6] NCPV#0904053v	1 x 10 ⁵ FFU / ml	20/20 100%
Sapowirus	Sapowirus (genogrupa I) Próbka kliniczna	1.1 x 10 ⁷ kopii RNA / ml	20/20 100%

^a Ograniczona liczba testów próbek klinicznych zawierających *Cryptosporidium meleagridis* wskazuje, że LoD dla tych gatunków jest identyczna dla granic uzyskanych dla *C. parvum* i *C. hominis*.

^b Po wstępnym potwierdzeniu granicy wykrywalności poprzez uzyskanie skuteczności wykrywania przy użyciu systemu FilmArray wynoszącej ≥95% kolejne badania izolatu *G. intestinalis* w stężeniu 50 komórek/ml były skuteczne w przypadku <95% próbek badanych przy użyciu systemów FilmArray i FilmArray 2.0. Uznaje się, że skuteczność wykrywania <95% była spowodowana niestabilnością przechowywanych izolatów. Po uzyskaniu nowych kultur i przeprowadzeniu badań próbek zawierających szczepy *Giardia lamblia* w stężeniu 50 komórek/ml skuteczność wykrywania wyniosła ≥95% w powtórzeniach badanych przy użyciu systemów FilmArray, FilmArray 2.0 i FilmArray Torch.

Reaktywność analityczna (inkluzywność)

Reaktywność analityczna (inkluzywność) FilmArray GI Panel została oceniona za pomocą 270 izolatów reprezentujących różnorodność analitów badanych przez ten panel. Izolaty dobrano tak, aby reprezentowały odpowiednie podgatunki bądź serotypy, z ukierunkowaniem na bardziej powszechne i znane ludzkie patogeny. Gdy było to możliwe, zastosowano analizę sekwencji in silico w celu przewidzenia reaktywności badania dla rzadziej występujących gatunków, szczepów, serowarów lub serotypów, które nie były poddawane badaniom, ale mogą być wykrywane przez FilmArray GI Panel.

Testy prowadzono nad organizmami w stężeniach bliskich granicy wykrywalności (LoD). Jeżeli wówczas próbka zawierająca konkretny szczep przy pierwszym podejściu została oznaczona jako dodatnia, nie przeprowadzano dalszych badań. Jeżeli natomiast nie wykryto danego organizmu, przeprowadzono ponowne badania przy zachowaniu tego samego stężenia (do pięciu razy), a gdy było to konieczne, powtarzano badanie przy stężeniach od 10- do 100-krotnie większych, aby sprawdzić, czy dany organizm jest wykrywalny przez GI Panel. Na podstawie przewidywanej reaktywności badania kilka wybranych izolatów przebadano pierwotnie przy wysokich stężeniach, a jeśli wynik był dodatni, następowała ewaluacja przy stężeniach niższych. Poniżej przedstawiono wyniki dla każdego badania FilmArray GI Panel.

Tabela 19. Wyniki inkluzyjności badania FilmArray na obecność *Campylobacter* (*C. coli*/*C. jejuni*/*C. upsaliensis*)

Organizm	ID izolatu	Stężenie wykrywalności (komórek / ml)	Wielokrotność LoD
<i>Campylobacter coli</i> ^a	ATCC BAA-1061	1,2 x 10 ⁵	3xLoD
	BEI HM-296	1,2 x 10 ⁵	3xLoD
	ATCC43485	1,2 x 10 ⁵	3xLoD
	ATCC 43478	1,2 x 10 ⁵	3xLoD
	ATCC 33559 ^b	4,0 x 10 ⁴	1xLoD
<i>Campylobacter jejuni</i> podgat. <i>doylei</i> ^c	ATCC 49349	4,0 x 10 ⁶	Nie wykryto ^c
	ATCC 49351	4,0 x 10 ⁶	100xLoD ^c
	ATCC 49350	4,0 x 10 ⁶	Nie wykryto ^c
<i>Campylobacter jejuni</i> podgat. <i>jejuni</i>	ATCC 43430	1,2 x 10 ⁵	3xLoD
	ATCC BAA-1062	1,2 x 10 ⁵	3xLoD
	ATCC BAA-1234 ^b	4,0 x 10 ⁴	1xLoD
	BEI NR-128	1,2 x 10 ⁵	3xLoD
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	ATCC BAA-1059	4,0 x 10 ⁴	1xLoD
	CCUG 24191	1,2 x 10 ⁵	3xLoD
	ATCC 43953	1,2 x 10 ⁵	3xLoD
	ATCC 43954 ^d	4,0 x 10 ⁶	Nie wykryto ^d
	ATCC 49815	1,2 x 10 ⁵	3xLoD
	BEI HM-297	1,2 x 10 ⁵	3xLoD

^a Analiza *in silico* wskazuje na niedopasowanie primerów, co mogło doprowadzić do obniżenia czułości badania lub braku reaktywności z 11/138 sekwencji *C. coli*.

^b Do ustalenia LoD dla tego badania użyto tego izolatu.

^c Analiza *in silico* wskazuje na niedopasowanie primerów, co mogło doprowadzić do obniżenia czułości badania dla tych podgatunków.

^d Sekwencjonowanie przy primerach doprowadziło do rozpoznania usunięć lub wstawień w miejscu wiązania primera w genie docelowym.

Tabela 20. Wyniki inkluzywności badania FilmArray na obecność *Clostridium difficile* toksyna A/B

Organizm	Toksynotyp	ID izolatu	Stężenie wykrywalności (komórek / ml)	Wielokrotność LoD
<i>Clostridium difficile</i>	0 A+B+	ATCC 9689 ^a	$4,0 \times 10^5$	1xLoD
		ATCC BAA-1382	$1,2 \times 10^6$	3xLoD
		ATCC 17857	$1,2 \times 10^6$	3xLoD
		ATCC 17858	$1,2 \times 10^6$	3xLoD
		ATCC 43255	$1,2 \times 10^6$	3xLoD
		ATCC 43594	$1,2 \times 10^6$	3xLoD
		ATCC 43596	$1,2 \times 10^6$	3xLoD
		ATCC 43599	$1,2 \times 10^6$	3xLoD
		ATCC 43600	$1,2 \times 10^6$	3xLoD
		ATCC 51695	$1,2 \times 10^6$	3xLoD
		ATCC 700792	$1,2 \times 10^6$	3xLoD
	III A+B+	ATCC BAA-1805 (NAP1)	$1,2 \times 10^6$	3xLoD
		Zeptomatrix #0801619 (NAP1) ^a	$4,0 \times 10^4$	1xLoD
	V A+B+	ATCC BAA-1875	$1,2 \times 10^6$	3xLoD
	VIII A-B+	ATCC 43598	$1,2 \times 10^6$	3xLoD
	X A-B+	CCUG 8864	$1,2 \times 10^6$	3xLoD
	XII A+B+	ATCC BAA-1812	$1,2 \times 10^6$	3xLoD
	XXII A+B (nieznane)	ATCC BAA-1814	$1,2 \times 10^6$	3xLoD

^a Izolatu tego użyto do określenia LoD dla tego badania.

Tabela 21. Wyniki inkluzywności badania FilmArray na obecność *Plesiomonas shigelloides*

Organizm	Izolacja geograficzna	ID izolatu	Stężenie wykrywalności (komórek / ml)	Wielokrotność LoD
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	CDC 3085-55	ATCC 14029 ^a	$1,0 \times 10^3$	1xLoD
	CDC 16408	ATCC 14030	$3,0 \times 10^3$	3xLoD
	Dakar, Senegal	ATCC 51572	$3,0 \times 10^3$	3xLoD
	Nieznana	ATCC 51903	$3,0 \times 10^3$	3xLoD
	Kolorado	CDPH HUM-2011019465	$3,0 \times 10^3$	3xLoD
	Republika Czeska	NIPH-Czech Republic 6300	$3,0 \times 10^3$	3xLoD

^a Izolatu tego użyto do określenia LoD dla tego badania. Organizm został określony ilościowo w CFU/ml na podstawie zliczania na płytce.

Tabela 22. Wyniki inkluzywności badania FilmArray na obecność *Salmonelli*

Organizm (gatunki, podgatunki i serowary)		ID izolatu	Stężenie wykrywalności (komórek / ml)	Wielokrotność LoD
<i>Salmonella bongori</i>		SGSC RKS 3041 ^a	$1,0 \times 10^4$	1xLoD
		NCTC 10946	$3,0 \times 10^4$	3xLoD
		SGSC RKS 3044	$3,0 \times 10^4$	3xLoD
<i>Salmonella enterica</i> podgat. <i>salamae</i> II		SGSC RKS 2985	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
<i>Salmonella enterica</i> podgat. <i>arizonae</i> IIIa		SGSC RKS 2980	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
<i>Salmonella enterica</i> podgat. <i>diarizonae</i> IIIb		SGSC RKS 2978	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
<i>Salmonella enterica</i> podgat. <i>houtenae</i> IV		SGSC RKS 3027	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
<i>Salmonella enterica</i> podgat. <i>indica</i> VI		SGSC RKS 2995	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
<i>Salmonella enterica</i> podgat. <i>enterica</i>	Typhimurium	SGSC RKS 4194 ^a	$5,0 \times 10^3$	1xLoD
	Enteritidis	ATCC BAA-708	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
	Newport	ATCC 27869	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
	Javiana	ATCC 10721	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
	Heidelberg	ATCC 8326	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
	Montevideo	ATCC BAA-710	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
	I 4,[5],12:i:-	Cornell CU0580	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
	Oranienburg	ATCC 9239	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
	Saintpaul	ATCC 9712	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
	Monachium	ATCC 8388	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
	Braenderup	ATCC 700136	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
	Infantis	ATCC BAA-1675	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
	Thompson	ATCC 8391	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
	Mississippi	Cornell CU0633	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
	Paratyphi B var. L(+) tartrate+ (poprzednio: java)	CCUG 9561	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
	Typhi (oczyszczone DNA) ^b	ATCC 700931D-5	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
	Agona	ATCC 51957	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
	Schwarzengrund	CCUG 21280	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
	Bareilly	ATCC 9115	$1,5 \times 10^4$	3xLoD
	Hadar	ATCC 51956	$1,5 \times 10^4$	3xLoD

^a Izolatu tego użyto do określenia LoD dla tego badania. Organizm został określony ilościowo w CFU/ml na podstawie zliczania na płycie.

^b Oczyszczone DNA zostało określone ilościowo w GE/ml z zastosowaniem spektrofotometru.

Uwaga: Analiza sekwencji *in silico* wykazała, że prócz gatunków i podgatunków sprawdzanych w tym badaniu, test FilmArray na obecność *Salmonelli* powinien reagować na wszystkie gatunki i podgatunki *Salmonelli*, włącznie z wszystkimi serowarami *S. enterica* podgat. *enterica*.

Tabela 23. Wyniki inkluzywności badań FilmArray na obecność *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*/*V. vulnificus*/*V. cholerae*) oraz *Vibrio cholerae*

Organizm (gatunki, biotypy i serotypy)		ID izolatu	Stężenie wykrywalności (komórek / ml)	Wielokrotność LoD
<i>Vibrio cholerae</i>	O:1 Ogawa	ATCC 14035 ^a	$8,0 \times 10^3$	1xLoD
	O:1 Inaba, biotyp El Tor	BEI NR-147	$2,4 \times 10^4$	3xLoD
	O:1 Ogawa, biotyp El Tor	BEI NR-148	$2,4 \times 10^4$	3xLoD
	non-O:1,non-O:139 (O:2)	BEI NR-149	$2,4 \times 10^4$	3xLoD
	non-O:1,non-O:139 (O:7)	BEI NR-152	$2,4 \times 10^4$	3xLoD
	O:1 Inaba, biotyp El Tor	ATCC 25870	$2,4 \times 10^4$	3xLoD
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>		ATCC 17802 ^a	$8,0 \times 10^4$	1xLoD
		ATCC BAA-242	$2,4 \times 10^5$	3xLoD
		ATCC 27969	$2,4 \times 10^5$	3xLoD
		ATCC 33845	$2,4 \times 10^5$	3xLoD
		BEI NR-21990	$2,4 \times 10^5$	3xLoD
		BEI NR-21992	$2,4 \times 10^5$	3xLoD
<i>Vibrio vulnificus</i>		ATCC 29306	$2,4 \times 10^5$	3xLoD
		ATCC 33817	$2,4 \times 10^5$	3xLoD
		ATCC BAA-88	$2,4 \times 10^5$	3xLoD
		ATCC 27562	$2,4 \times 10^4$	0,3xLoD
		ATCC BAA-86	$2,4 \times 10^4$	0,3xLoD

^a Do ustalenia LoD dla tego badania użyto tego izolatu.

Uwaga: *Vibrio* z wariantem sekwencji *toxR* nie został wykryty podczas ewaluacji klinicznej przez badanie Vchol; nie będą też przez nie wykrywane bardzo rzadkie szczepy patogenicznych *V. cholerae*, które nie posiadają genu *toxR*.

Tabela 24. Wyniki inkluzywności badania FilmArray na obecność *Yersinia enterocolitica*

Organizm	Serotyp	ID izolatu	Stężenie wykrywalności (komórek / ml)	Wielokrotność LoD
<i>Yersinia enterocolitica</i>	O:8	ATCC 9610 ^a	$5,0 \times 10^4$	1xLoD
		ATCC 23715	$1,5 \times 10^5$	3xLoD
		BEI NR-207	$1,5 \times 10^5$	3xLoD
	O:5, 27	NCTC 10463	$1,5 \times 10^5$	3xLoD
	O:3	ATCC 700822	$1,5 \times 10^5$	3xLoD
		BEI NR-212	$1,5 \times 10^5$	3xLoD
	O:9	ATCC 55075	$1,5 \times 10^5$	3xLoD

^a Do ustalenia LoD dla tego badania użyto tego izolatu. Organizm został określony ilościowo w CFU/ml na podstawie zliczania na płytce.

Uwaga: Analiza sekwencji *in silico* wykazała, że prócz gatunków i podgatunków sprawdzanych w tym badaniu, FilmArray *Yersinia enterocolitica* powinno reagować na wszystkie szczepy i serotypy *Y. enterocolitica* (w tym: O:1, 2a, 3; O:2a,3; O:4,32; O:12,25; O:13a,13b; O:19; O:20 oraz O:21).

Tabela 25. Wyniki inkluzywności badania FilmArray na obecność szczepów adherentnych *E. coli* (EAEC)

Organizm	Serotyp	ID izolatu	Stężenie wykrywalności (komórek / ml)	Wielokrotność LoD
Szczepy adherentne <i>E. coli</i> (EAEC)	O92:H33	STEC Center JM221 ^a	1,0 x 10 ⁴	1xLoD
	O162:NM	Penn State 92.0148	3,0 x 10 ⁴	3xLoD
	O17:H6	Penn State 92.0142	3,0 x 10 ⁴	3xLoD
	O4:H7	Penn State 92.0144	3,0 x 10 ⁴	3xLoD
	O51:H11	Penn State 92.0143	3,0 x 10 ⁴	3xLoD
	O68:NM	Penn State 92.0154	3,0 x 10 ⁴	3xLoD
	O7:NM	Penn State 92.0151	3,0 x 10 ³	0,3xLoD
	O44:H18	STEC Center O42	3,0 x 10 ³	0,3xLoD
	O104:H4 (Purified DNA) ^b	Szczep który wywołał epidemię w Europie w 2011 roku ^c	3,0 x 10 ³	0,3xLoD
	Ond:H10 ^d	STEC Center 101-1	1,5 x 10 ⁸	Nie wykryto ^d

^a Do ustalenia LoD dla tego badania użyto tego izolatu. Organizm został określony ilościowo w CFU/ml na podstawie zliczania na płytce.

^b Oczyszczone DNA zostało określone ilościowo w GE/ml z zastosowaniem spektrofotometru.

^c Izolat miał charakterystykę genetyczną spójną ze STEC i EAEC.

^d Fenotypowe EAEC, jednak określone jako nie posiadające markera (markerów) wykrywanych przez FilmArray GI Panel EAEC.

Tabela 26. Wyniki inkluzywności badania FilmArray na obecność szczepów

Organizm	Serotyp	Typowy / atypowy	ID izolatu	Stężenie wykrywalności (komórek / ml)	Wielokrotność LoD
Szczepy enteropatogenne <i>E. coli</i> (EPEC)	O127:H6	Typowy	STEC Center E2348/69 ^a	1,0 x 10 ³	1xLoD
	O128:H2	Atypowy	STEC Center DEC11a	3,0 x 10 ³	3xLoD
	111a:NM	Nieznany	STEC Center Stoke W	3,0 x 10 ³	3xLoD
	O142:H6	Typowy	STEC Center E851/71	3,0 x 10 ³	3xLoD
	O55:H7	Atypowy	STEC Center DEC5A	3,0 x 10 ³	3xLoD
	O114:H2	Typowy	STEC Center 3448-87	3,0 x 10 ³	3xLoD
	O119:H+	Nieznany	STEC Center RN410/1	3,0 x 10 ³	3xLoD
	O96:H	Nieznany	STEC Center HSP19/4	3,0 x 10 ³	3xLoD
	O86:Hnm	Nieznany	STEC Center E990	3,0 x 10 ³	3xLoD
	O55:H-	Nieznany	STEC Center MA551/1	3,0 x 10 ³	3xLoD

^a Do ustalenia LoD dla tego badania użyto tego izolatu. Organizm został określony ilościowo w CFU/ml na podstawie zliczania na płytce.

Tabela 27. Wyniki inkluzywności badania FilmArray na obecność szczepów enterotoksycznych *E. coli* (ETEC) lt/st

Organizm	Serotyp	ST/LT	ID izolatu	Stężenie wykrywalności (komórek / ml)	Wielokrotność LoD
Szczepy enterotoksyczne <i>E. coli</i> (ETEC)	O78:H11	STA (+)/LT (+)	ATCC 35401 ^a	1,0 x 10 ³	1xLoD
	O175:H15	STA (-)/LT (+)	Penn State 6.0671	3,0 x 10 ³	3xLoD
	O149:H5	STA (-)/LT (+)	Penn State 6.1182	3,0 x 10 ³	3xLoD
	O84:H28	STA (-)/LT (+) ^b	Penn State 7.1493	3,0 x 10 ³	Nie wykryto ^b
	H5	STA (+)/LT (-)	Penn State 10.0049	3,0 x 10 ³	3xLoD
	O168	STA (+)/LT (-)	Penn State 9.1809	3,0 x 10 ³	3xLoD
	O145:H25	STA (+)/LT (-)	Penn State 10.0136	1,0 x 10 ⁴	100xLoD ^c
	O78	STA (+)/LT (+)	Penn State 2.1507	3,0 x 10 ³	3xLoD
	O19:H5	STA (+)/LT (+)	Penn State 5.0038	3,0 x 10 ³	3xLoD
	H14	STA (+)/LT (-)	Penn State 10.045	3,0 x 10 ³	3xLoD
	O141	STA (+)/LT (+)	Penn State 93.0045	3,0 x 10 ³	3xLoD
	Nieznany	STB (+) ^d STA(-)/LT(-)	Penn State 8.2425	1,5 x 10 ⁹	Nie wykryto ^d
	Nieznany	STB (+) ^d STA(-)/LT(-)	Penn State 9.1179	1,5 x 10 ⁹	Nie wykryto ^d

^a Do ustalenia LoD dla tego badania użyto tego izolatu. Organizm został określony ilościowo w CFU/ml na podstawie zliczania na płycie.

^b W drugim badaniu PCR nie udało się potwierdzić obecności genu docelowego (lub genów docelowych) - podejrzewa się utratę plazmidu bądź genu.

^c Sekwencjonowanie genu docelowego (lub genów docelowych) pozwoliło stwierdzić, że istnieje wariacja sekwencji prowadząca do obniżonej czułości badania na STA.

^d FilmArray GI Panel nie wykrywa fenotypowego ETEC wytwarzającego jedynie termostabilną toksynę ST2/STB lub termolabilną toksynę LT-II.

Tabela 28. Wyniki inkluzywności badania FilmArray na obecność szczepów bakterii *E. coli* wytwarzających

Organizm	Serotyp	stx1/stx2	ID izolatu	Stężenie wykrywalności (komórek / ml)	Wielokrotność LoD do wykrycia STEC	Wielokrotność LoD do wykrycia O157
Szczepy enterotoksyczne <i>E. coli</i> (STEC)	STEC (non-O157)					
	O26:H11	+/+	ATCC BAA-2196 ^a	1,0 x 10 ³	1xLoD	Nie wykryto
	O113:H21	+/+	ATCC BAA-177	3,0 x 10 ³	3xLoD	Nie wykryto
	O45:H2	Nieznany	STEC Center DEC11C	3,0 x 10 ³	3xLoD	Nie wykryto
	O103:H2	+/Nieznany	STEC Center 107-226	3,0 x 10 ³	3xLoD	Nie wykryto
	O104:H21	-/+	STEC Center G5506	3,0 x 10 ³	3xLoD	Nie wykryto
	O111:NM	+/+	STEC Center 95-3208	3,0 x 10 ³	3xLoD	Nie wykryto
	O111:H2	-/+	STEC Center RD8	3,0 x 10 ³	3xLoD	Nie wykryto
	O111:H8	+/+	STEC Center DEC8B	3,0 x 10 ³	3xLoD	Nie wykryto
	O121:H19	Nieznany	STEC Center F6173	3,0 x 10 ³	3xLoD	Nie wykryto
	O26:NM	+/-	STEC Center DA-22	3,0 x 10 ³	3xLoD	Nie wykryto
	O26:H11	+/-	STEC Center H19	3,0 x 10 ³	3xLoD	Nie wykryto
	O145:NM	+/-	STEC Center	3,0 x 10 ³	3xLoD	Nie wykryto

Organizm	Serotyp	stx1/stx2	ID izolatu	Stężenie wykrywalności (komórek / ml)	Wielokrotność LoD do wykrycia STEC	Wielokrotność LoD do wykrycia O157
			GS G5578620			
	O104:H4 ^b (oczyszczone DNA) ^c	-/+	ATCC BAA-2326D-5 ^b	3,0 x 10 ^{3c}	3xLoD	Nie wykryto
	STEC O157					
	O157:NM	+/+	STEC Center DA-26	3,0 x 10 ³	3xLoD	0,3xLoD
	O157:H7	-/+	STEC Center E32511	3,0 x 10 ³	3xLoD	0,3xLoD
	O157:HNT	+/+	STEC Center DA-74	3,0 x 10 ³	3xLoD	0,3xLoD
	O157:H7	+/+	ATCC 43895 ^a	1,0 x 10 ⁴	10xLoD	1xLoD
	O157:H7	+/+	STEC Center A8993-CS2	3,0 x 10 ⁴	30xLoD	3xLoD
	Non-STEC O157					
	O157:H7	-/-	ATCC 43888	3,0 x 10 ⁴	Nie wykryto	Nie dotyczy ^d
	O157:H45	-/-	STEC Center SC373/2	3,0 x 10 ⁴	Nie wykryto	Nie dotyczy ^d

^a Do ustalenia LoD użyto tego izolatu. Organizm został określony ilościowo w CFU/ml na podstawie zliczania na płycie.

^b Szczep który wywołał epidemię w Europie w 2011 roku. Izolat miał charakterystykę genetyczną spójną ze STEC i EAEC.

^c Oczyszczone DNA zostało określone ilościowo w GE/ml z zastosowaniem spektrofotometru.

^d Rezultaty „nie dotyczy” dla *E. coli* O157 spowodowane były brakiem wyników dodatnich na obecność STEC.

Uwaga: Na podstawie analizy *in silico*, przewiduje się, że badanie FilmArray GI Panel dla szczepu STEC z *stx2* w podtypach e i f będzie wykazywało zmniejszoną czułość lub jej nie wykryje.

Tabela 29. Wyniki inkluzywności badania FilmArray na obecność *Shigelli* / enteroinwazyjnych szczepów *E. coli* (EIEC)

Organizm	Serotyp (rok / miejsce)	ID izolatu	Stężenie wykrywalności (komórek / ml)	Wielokrotność LoD
Szczepy enteroinwazyjne <i>E. coli</i> (EIEC)	O29:NM	ATCC 43892 ^a	5,0 x 10 ³	1xLoD
	O29:HNM (1977)	STEC Center 1885-77	3,0 x 10 ³	0,6xLoD
	O124:HNM (1978)	STEC Center 929-78	3,0 x 10 ³	0,6xLoD
	O29:H27 (1979; VA, USA)	STEC Center 1827-79	3,0 x 10 ³	Nie wykryto ^b
	O28:H- (1983, Brazylia)	STEC Center LT-15	3,0 x 10 ³	0,6xLoD
	O136:H- (1983, Bangladesz)	STEC Center LT-41 Szczep 1111-55	3,0 x 10 ³	0,6xLoD
<i>Shigella boydii</i> (serogrupa C)	Typ 2	ATCC 8700	3,0 x 10 ²	3xLoD
	Typ 4	CDPH HUM-2010029296	3,0 x 10 ²	3xLoD
	Typ 1	ATCC 9207	3,0 x 10 ²	3xLoD
	Typ 20	ATCC BAA-1247	3,0 x 10 ²	3xLoD
	Typ 10	ATCC 12030	3,0 x 10 ²	3xLoD
<i>Shigella dysenteriae</i> (serogrupa A)	Typ 1	BEI NR-520	3,0 x 10 ²	3xLoD ^c
	Typ 2	CDPH PHM-2004008089	3,0 x 10 ²	3xLoD

Organizm	Serotyp (rok / miejsce)	ID izolatu	Stężenie wykrywalności (komórek / ml)	Wielokrotność LoD
	Typ 13	ATCC 49555	$3,0 \times 10^2$	3xLoD
	Typ 3	ATCC 29028	$3,0 \times 10^2$	3xLoD
	Typ 12	ATCC 49551	$3,0 \times 10^2$	3xLoD
<i>Shigella flexneri</i> (serogrupa B)	Typ 2a	ATCC 700930	$3,0 \times 10^2$	3xLoD
	Typ 1a	ATCC 9199	$3,0 \times 10^2$	3xLoD
	Typ 6	CDPH PHM-2006004043	$3,0 \times 10^2$	3xLoD
	Typ 2b	ATCC 12022	$3,0 \times 10^2$	3xLoD
	Typ 2a	ATCC 29903	$3,0 \times 10^2$	3xLoD
	Nieznany	STEC Center VA-6	$3,0 \times 10^2$	3xLoD
<i>Shigella sonnei</i> (serogrupa D)	Nie dotyczy	ATCC 29930 ^a	$1,0 \times 10^2$	1xLoD
	Nie dotyczy	ATCC 11060	$3,0 \times 10^2$	3xLoD
	Nie dotyczy	CDPH HUM-2010027998	$3,0 \times 10^2$	3xLoD
	Nie dotyczy	ATCC 29031	$3,0 \times 10^2$	3xLoD
	Nie dotyczy	ATCC 25931	$3,0 \times 10^2$	3xLoD
	Nie dotyczy	ATCC 9290	$3,0 \times 10^2$	3xLoD

^a Do ustalenia LoD dla tego badania użyto tego izolatu. Organizm został określony ilościowo w CFU/ml na podstawie zliczania na płycie.

^b W drugim badaniu PCR nie zdołano potwierdzić obecności genu docelowego (lub genów docelowych) - podejrzewa się utratę plazmidu bądź genu.

^c Ten izolat dał oczekiwane wyniki STEC Detected (wykryto) i *Shigella*/EIEC Detected (wykryto) ze względu na obecność *stx* zawartego w *Shigella dysenteriae*.

Tabela 30. Wyniki inkluzji badania FilmArray na obecność *Cryptosporidium*

Organizm	Miejsce / Źródło izolatu lub próbki	Stężenie wykrywalności (kopii / ml)	Wielokrotność LoD
<i>Cryptosporidium canis</i>	Peru Próbka kliniczna	Nieznane	<LoD ^a
<i>Cryptosporidium hominis</i>	Szkocja Próbka kliniczna ^b	$2,1 \times 10^3$ ^b	1xLoD
	Szkocja Próbka kliniczna	$6,4 \times 10^3$	3xLoD
	Szkocja Próbka kliniczna	$6,4 \times 10^3$	3xLoD
	BEI NR-2520 (oczyszczone DNA izolatu TU502)	$6,4 \times 10^3$	3xLoD
<i>Cryptosporidium meleagridis</i>	BEI NR-2521 (oczyszczone DNA izolatu TU1867)	$1,8 \times 10^3$	3xLoD
<i>Cryptosporidium muris</i>	Waterborne, Inc. P104	$1,5 \times 10^4$ oocyst/ml	3xLoD
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Waterborne, Inc. P102C ^c	$6,0 \times 10^2$ ^c	1xLoD
	Szkocja Próbka kliniczna	$1,8 \times 10^3$	3xLoD
	Szkocja Próbka kliniczna	$1,8 \times 10^3$	3xLoD
	BEI NR-2519 (oczyszczone DNA izolatu Iowa)	$1,8 \times 10^3$	3xLoD

Organizm	Miejsce / Źródło izolatu lub próbki	Stężenie wykrywalności (kopii / ml)	Wielokrotność LoD
<i>Cryptosporidium ubiquitum</i>	Szkocja oczyszczone DNA z próbki klinicznej	Nieznane	<LoD ^a
	Szkocja oczyszczone DNA z próbki klinicznej	Nieznane	<LoD ^a

^a Określenie ilościowe wykonane metodą qPCR wskazało, że oczyszczone próbki mają stężenie analitu niższe niż granica wykrywalności (LoD) badania.

^b Ta próbka *C. hominis* została wykorzystana do wyznaczenia granicy wykrywalności (LoD) *C. hominis* (LoD wynosząca $5,0 \times 10^3$ oocyst/ml została określona jako równa $2,1 \times 10^3$ kopii/ml).

^b Ten izolat *C. parvum* został wykorzystany do wyznaczenia granicy wykrywalności (LoD) *C. parvum* (LoD wynosząca $5,0 \times 10^3$ oocyst/ml została określona jako równa $6,0 \times 10^2$ kopii/ml).

Uwaga: Analiza sekwencji *in silico* wskazuje, że badanie FilmArray na obecność *Cryptosporidium* powinno reagować na ok. 23 różne gatunki *Cryptosporidium* (włącznie z tymi, które obejmowało badanie), a także na sekwencje nie powiązane z konkretnymi gatunkami. Na podstawie analizy *in silico* przewiduje się, że badanie *Cryptosporidium* może nie reagować na rzadkie gatunki lub na te, które są typowe dla ludzi: *C. bovis*, *C. ryanae* czy *C. xiaoi*.

Tabela 31. Wyniki inkluzywności badania FilmArray na obecność *Cyclospora cayetanensis*

Organizm	Miejsce / próbka		Stężenie wykrywalności (GE / ml)	Wielokrotność LoD
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	Nebraska	Próbka kliniczna ^a	180	1xLoD
		Próbka kliniczna	540	3xLoD
		Próbka kliniczna	540	3xLoD
	Peru	Próbka kliniczna	540	3xLoD
		Próbka kliniczna	540	3xLoD
		Próbka kliniczna	540	3xLoD
		Próbka kliniczna	540	3xLoD

^a Do ustalenia LoD dla tego badania użyto tego materiału.

Tabela 32. Wyniki inkluzywności badania FilmArray na obecność *Entamoeba histolytica*

Organizm	Nazwa szczepu	Miejsce / Rok wykrycia izolatu	ID izolatu	Stężenie wykrywalności (kopii / ml)	Wielokrotność LoD
<i>Entamoeba histolytica</i>	HM-1:IMSS	Mexico City 1967	ATCC 30459 ^a	$\sim 1,2 \times 10^5$	1xLoD
	EntaHB-301:NIH	Birma 1960	BEI NR-176	$3,6 \times 10^5$	3xLoD
	Rahman	Anglia 1972	BEI NR-179	$3,6 \times 10^5$	3xLoD
	HU-21:AMC	Arkansas 1970	BEI NR-2589	$3,6 \times 10^5$	3xLoD
	IP:1182:2	Honduras 1982	BEI NR-20088	$3,6 \times 10^5$	3xLoD
	SAW 408 RR, Klon A	Meksyk	BEI NR-20090	$3,6 \times 10^5$	3xLoD

^a Izolat użyty do określenia LoD tego badania (LoD wynosząca $2,0 \times 10^3$ komórek/ml została ustalona jako równa $\sim 1,2 \times 10^5$ kopii/ml).

Tabela 33. Wyniki inkluzji badania FilmArray na obecność *Giardia lamblia*

Organizm	Miejsce / Rok wykrycia izolatu	ID izolatu	Stężenie wykrywalności (komórek / ml)	Wielokrotność LoD
<i>Giardia lamblia</i> (czyli <i>G. intestinalis</i> lub <i>G. duodenalis</i>)	Nowy Orlean, LA 1985	ATCC 50137	150	3xLoD
	Portland, OR 1971	ATCC 30888	150	3xLoD
	Bethesda, MD 1979	ATCC 30957 ^a	50	1xLoD
	Nieznane	Waterborne P101	150	3xLoD
	Egipt	ATCC PRA-243	150	3xLoD
	Stany Zjednoczone	ATCC PRA-247	150	3xLoD

^a Do ustalenia LoD dla tego badania użyto tego izolatu.

Tabela 34. Wyniki inkluzji badania FilmArray na obecność adenowirusa F 40/41

Organizm	ID izolatu	Stężenie wykrywalności (kopii / ml)	Wielokrotność LoD
Adenowirus F 40	ATCC VR-931 ^a	$\sim 2,8 \times 10^5$	1xLoD
	Próbka kliniczna E239	$8,4 \times 10^5$	3xLoD
	NCPV 0101141v (Dugan)	$8,4 \times 10^5$	3xLoD
	Zeptomatrix #0810084CF	$8,4 \times 10^5$	3xLoD
Adenowirus F 41	ATCC VR-930 (Tak) ^a	$\sim 3,0 \times 10^4$	1xLoD
	Zeptomatrix #0810085CF (Tak) ^b	$9,0 \times 10^4$	10xLoD ^b
	UIRF F41	$9,0 \times 10^4$	3xLoD
	Próbka kliniczna 762	$9,0 \times 10^4$	3xLoD
	Próbka kliniczna 976	$9,0 \times 10^4$	3xLoD
	Próbka kliniczna Chn81	$9,0 \times 10^4$	3xLoD

^a Do ustalenia LoD dla tego badania użyto tego izolatu. W przypadku ATCC VR-931, LoD wynosząca 1 TCID₅₀/ml została określona jako równa $2,8 \times 10^5$ kopii/ml, a dla ATCC VR-930 LoD wynosząca 100 TCID₅₀/ml określono jako równą $3,0 \times 10^4$ kopii/ml.

^b Dotyczy takich samych szczepów, jak ATCC VR-930 (który został wykryty przy stężeniu 1x LoD), lecz otrzymanych z innego źródła.

Tabela 35. Wyniki inkluzji badania FilmArray na obecność adenowirusów

Organizm	Typ	Miejsce / Źródło / ID izolatu	Stężenie wykrywalności (kopii / ml)	Wielokrotność LoD
Ludzki astrowirus	1	Próbka kliniczna, Chiny	$3,9 \times 10^7$	10xLoD
		Próbka kliniczna, Chiny	$3,9 \times 10^7$	3xLoD
	2	Próbka kliniczna, USA	$3,9 \times 10^7$	3xLoD
	3	Hiszpania, Uniwersytet w Barcelonie	$3,9 \times 10^7$	3xLoD
	4	NCPV #1002072v	$3,9 \times 10^7$	3xLoD
	5	Próbka kliniczna, USA	$3,9 \times 10^7$	3xLoD
		Próbka kliniczna, USA	$3,9 \times 10^7$	3xLoD
	6	Hiszpania, Uniwersytet w Barcelonie	$3,9 \times 10^7$	3xLoD
	7	Hiszpania, Uniwersytet w Barcelonie	$3,9 \times 10^7$	3xLoD
	8	NCPV #1003071v ^a	$\sim 1,3 \times 10^7$	1xLoD

^a Izolat użyty do określenia LoD tego badania (LoD wynosząca 50 FFU/ ml została ustalona jako równa $1,3 \times 10^7$ kopii/ml).

Tabela 36. Wyniki inkluzywności badania FilmArray na obecność norowirusa GI/GII

Norowirus Genogrupa / genotyp		ID izolatu (próbki kliniczne)	Stężenie wykrywalności (kopii / ml)	Wielokrotność LoD
Norowirus GI	3	Noro1_036 ^a	1,0 x 10 ⁴	1xLoD
	2	Noro1_002	6,0 x 10 ³	0,6xLoD
	3	Noro1_003	6,0 x 10 ³	0,6xLoD
		Noro1_012	6,0 x 10 ³	0,6xLoD
		Noro1_030	6,0 x 10 ³	0,6xLoD
	4	Noro1_031	6,0 x 10 ³	0,6xLoD
	6	Noro1_021	1,0 x 10 ⁵	10xLoD
	7	Noro1_009	2,0 x 10 ⁵	20xLoD ^c
		Noro1_029	6,0 x 10 ³	0,6xLoD
		Noro1_034	6,0 x 10 ³	0,6xLoD
	8	Noro G1,8 ^b	6,0 x 10 ⁴	6xLoD
Norowirus GII	Nieznane	Noro2_013 ^a	1,0 x 10 ^{4a}	1xLoD
	2	Noroll.2 ^b	6,0 x 10 ³	0,6xLoD
	3	China-5	6,0 x 10 ³	0,6xLoD
		SGB_038	6,0 x 10 ³	0,6xLoD
	4	GI-PILOT-SPDRL-077	2,0 x 10 ⁵	20xLoD ^c
		Noro2_004	2,0 x 10 ⁵	20xLoD ^c
		Noro2_032	2,0 x 10 ⁵	20xLoD ^c
		PCMC_025 (Sydney)	6,0 x 10 ³	0,6xLoD
		PCMC_031 (Sydney)	6,0 x 10 ³	0,6xLoD
	6	NYH-A	6,0 x 10 ³	0,6xLoD
	7	Noroll.7 ^b	6,0 x 10 ³	0,6xLoD
	8	Noroll.8 ^b	6,0 x 10 ³	0,6xLoD
	12	Noroll.12 ^b	6,0 x 10 ³	0,6xLoD
	16	Noroll.16 ^b	6,0 x 10 ³	0,6xLoD
	20	Noroll.20c ^b	2,0 x 10 ⁵	20xLoD ^c
Noroll.20 ^b		6,0 x 10 ³	0,6xLoD	

^a Do ustalenia LoD dla tego badania użyto tego izolatu.

^b Izolat otrzymano jak ekstrakt RNA z próbki klinicznej. Genotyp dostarczony przez laboratorium źródłowe.

^c Ponieważ norowirusy cechują się różnorodnością genetyczną, analiza *in silico* dała wynik pozwalający przewidzieć, iż większość szczepów ze wszystkich genotypów zostanie wykryta, jednak pewne szczepy będą wykrywane z mniejszą czułością lub też nie zostaną wykryte z powodu niedostatecznej amplifikacji lub zostaną wykluczone na etapie analizy topnienia.

Tabela 37. Wyniki inkluzywności badania FilmArray na obecność rotawirusa A

Organizm	Nazwa szczepu (serotyp)	ID izolatu	Stężenie wykrywalności (kopii / ml)	Wielokrotność LoD
Rotawirus A	ST3 (G4P6)	NCPV 0904053v ^a	3,9 x 10 ³	1xLoD
	RV4 (G1P8)	NCPV 0904052v	1,2 x 10 ⁴	3xLoD
	69M (G8P5)	NCPV 0904055v	1,2 x 10 ⁴	3xLoD
	P (G3P1A[8])	NCPV 0904056v	1,2 x 10 ⁴	3xLoD
	Wa (G1P1A[8])	ATCC VR-2018	1,2 x 10 ⁴	3xLoD
	DS-1 (G2P1B[4])	ATCC VR-2550	1,2 x 10 ⁴	3xLoD

^a Izolat użyty do określenia LoD tego badania (LoD wynosząca 1,0x10⁵ FFU/ ml została ustalona jako równa 3,9x10³ kopii/ml).

Uwaga: badanie na obecność rotawirusa A wykryje również stosowane przy produkcji szczepionek wirusy rekombinowane.

Tabela 38. Wyniki inkluzywności badania FilmArray na obecność sapowirusów

Organizm	Genogrupa	ID izolatu (próbki kliniczne)	Stężenie wykrywalności (kopii / ml)	Wielokrotność LoD
Sapowirus	GI	AB_SaV_14 ^a	$5,0 \times 10^6$	1xLoD
	Nieznana	China_56	$1,5 \times 10^7$	3xLoD
	Nieznana	AB_SaV_03	$1,5 \times 10^7$	3xLoD
	Nieznana	PCMC_54	$1,5 \times 10^7$	3xLoD
	Nieznana	SPDRL-006	$1,5 \times 10^7$	3xLoD
	Nieznana	SPDRL-099	$1,5 \times 10^7$	3xLoD
	Nieznana	SGB-MP-11	$1,5 \times 10^7$	3xLoD
	GI	Sapo_03 ^b	$1,5 \times 10^7$	3xLoD
	GII	Sapo_06 ^b	$1,5 \times 10^7$	3xLoD
	GIV	Sapo_09 ^b	$1,5 \times 10^7$	3xLoD
	GV	Sapo_02 ^b	$1,5 \times 10^7$	3xLoD

^a Próbkę kliniczną użytą do określenia LoD dla tego badania.

^b Izolat otrzymany jako ekstrakt RNA z próbki klinicznej; informacja dotyczące genogrupy dostarczone przez laboratorium źródłowe.

Swoistość analityczna (reaktywność krzyżowa i dokładność wyników)

Możliwość zachodzenia reakcji krzyżowych pomiędzy materiałami stosowanymi w badaniach FilmArray GI Panel została sprawdzona poprzez testowanie analitu o wysokim stężeniu. Testowano organizmy i wirusy zarówno identyfikowane w badaniu GI Panel (on-panel), jak i te przez niego nie identyfikowane (off-panel).

Wykorzystano 28 organizmów (typu on-panel) do zweryfikowania, że reagują tylko z właściwymi kontrolami w panelu. Wszystkie te organizmy dały oczekiwane wyniki dodatnie, bez wyników fałszywie dodatnich.

Do testów swoistości wybrano łącznie 174 organizmy (typu off-panel) na podstawie kilku czynników, takich jak: (1) pokrewieństwo z gatunkami wykrywanymi przez GI Panel (blisko powiązane); (2) odpowiedniość kliniczna; (3) prawdopodobieństwo obecności w próbce kału; i (4) genetyczne podobieństwo do primerów zawartych w GI Panel, zgodnie z wynikiem uzyskanym w analizie *in silico* podczas projektowania badania. W przypadku niemożności uzyskania na potrzeby badania danego organizmu, do przewidywania reaktywności zastosowano odrębną, specyficzną dla organizmu analizę *in silico* całej sekwencji genomu, odpowiadającej bezpośrednio primerom w panelu GI. Kilka organizmów typu off-panel wyselekcjonowano i przetestowano pod kątem określenia swoistości danych badań, natomiast wiele innych poddano testom, ponieważ były symbiotycznymi lub patogenicznymi, z możliwością wykrycia ich przy wysokim stężeniu w próbkach kału. Wszystkie organizmy testowano w wysokich stężeniach (zazwyczaj wynoszących $\geq 1,0 \times 10^8$ CFU/ml dla bakterii i grzybów, $\geq 1,0 \times 10^4$ komórek/ml dla pierwotniaków i pasożytów oraz $\geq 1,0 \times 10^5$ jednostek/ml dla wirusów).

W tabeli 39 podano badania GI Panel i odpowiadające im organizmy, dla których wykryto reaktywność krzyżową (zaobserwowaną w badaniach lub przewidywaną na podstawie analizy *in silico*). Z wyjątkiem wykrywania *Vibrio fluvialis* i *Vibrio mimicus* przez badanie na obecność *Vibrio*, zaobserwowano reaktywność krzyżową jedynie w przypadku, gdy organizm uważany za wywołujący ją lub przypuszczany o to, był obecny w wysokim stężeniu w próbce.

W tabeli 40 przedstawiono pełny spis bakterii, grzybów, pierwotniaków i pasożytów oraz wirusów typu off-panel, które zostały poddane badaniom w FilmArray GI Panel i zwróciły oczekiwany wynik (ujemny dla wszystkich badań, bez reaktywności krzyżowej) lub dla których na podstawie analizy *in silico* nie zakładano reaktywności krzyżowej.

Tabela 39. Zaobserwowana lub przewidywana reaktywność krzyżowa dla organizmów typu off-panel

Wyniki badania FilmArray GI Panel	Organizmy z reaktywnością krzyżową
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Entamoeba dispar</i>
<i>Giardia lamblia</i>	<i>Bifidobacterium spp.</i> ^a <i>Ruminococcus spp.</i> ^a
Szczepy enterotoksyczne <i>E.coli</i> (ETEC) It/st [badanie 2 ETEC]	<i>Citrobacter koseri</i> <i>Citrobacter sedlakii</i> <i>Hafnia alvei</i> ^a <i>Cedeceae davisiae</i> ^a
<i>Salmonella</i> ^b	<i>E. coli</i> zawierające wariant białka sekrecji typu III ^b
<i>Vibrio</i> (<i>V. parahaemolyticus</i> / <i>V. vulnificus</i> / <i>V. cholerae</i>)	<i>Vibrio alginolyticus</i> <i>Vibrio fluvialis</i> ^c <i>Vibrio mimicus</i> ^c <i>Grimontia</i> (poprzednio <i>Vibrio</i>) <i>hollisae</i>
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Yersinia frederiksenii</i> ^{a,d} <i>Yersinia kristensenii</i> ^d

^a Nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej podczas testów przy wysokich stężeniach ($1,5 \times 10^9$ komórek/ml). Reaktywność krzyżową podejrzewano jednak lub potwierdzono w próbkach klinicznych. Potencjalną reaktywność krzyżową potwierdzały również badania *in silico*.

^b W badaniach analitycznych lub klinicznych na obecność *Salmonelli* nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej dającej wyniki fałszywie dodatnie. Uzyskano jednak nietypowe produkty amplifikacji o wartościach Tm zbliżonych do zakresu Tm charakterystycznego dla badania, co oznacza potencjalną możliwość otrzymania wyników fałszywie dodatnich na obecność *Salmonelli*.

^c Wykryto w stężeniu bliskim LoD badania na obecność *Vibrio*.

^d *Y. kristensenii* i *Y. frederiksenii* trudno odróżnić od *Y. enterocolitica* standardowymi metodami laboratoryjnymi.

Tabela 40. Brak reaktywności krzyżowej w badaniach FilmArray GI Panel (obserwowanej lub przewidywanej w analizach *in silico*)

BAKTERIE				
Przebadane				
<i>Abiotrophia defectiva</i>	<i>Campylobacter mucosalis</i>	<i>Desulfovibrio piger</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Ruminococcus flavefaciens</i> ^a
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Campylobacter rectus</i>	Diffusely adherent <i>E.coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Ruminococcus obeum</i> ^a
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	<i>Campylobacter showae</i>	<i>Escherichia blattae</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Selenomonas ruminantium</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Campylobacter sputorum</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Campylobacter ureolyticus</i>	<i>Escherichia hermannii</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Anaerococcus tetradius</i>	<i>Cedecea davisae</i> ^b	<i>Escherichia vulneris</i>	<i>Leminorella grimontii</i>	<i>Shewanella algae</i>
<i>Arcobacter butzleri</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Arcobacter cryaerophilus</i>	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	<i>Eggerthella lenta</i>	<i>Megamonas hypermegale</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Megasphaera elsdenii</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Clostridium acetobutylicum</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Methanobrevibacter smithii</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	<i>Clostridium botulinum</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Bacteroides vulgatus</i>	<i>Clostridium difficile non-toxigenic</i> ^c	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ^a	<i>Clostridium histolyticum</i>	<i>Eubacterium cylindroides</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Bifidobacterium bifidum</i> ^a	<i>Clostridium methylpentosum</i>	<i>Eubacterium rectale</i>	<i>Photobacterium damsela</i>	<i>Streptococcus suis</i>
<i>Bifidobacterium longum</i> ^a	<i>Clostridium novyi</i>	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	<i>Trabulsiella guamensis</i>
<i>Campylobacter concisus</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Fusobacterium varium</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Campylobacter curvus</i>	<i>Clostridium ramosum</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Yersinia bercovieri</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Clostridium septicum</i>	<i>Gemella morbillorum</i>	<i>Proteus penneri</i>	<i>Yersinia frederiksenii</i> ^d
<i>Campylobacter gracilis</i>	<i>Clostridium sordellii</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Yersinia intermedia</i>
<i>Campylobacter helveticus</i>	<i>Clostridium tetani</i>	<i>Hafnia alvei</i> ^b	<i>Providencia alcalifaciens</i>	<i>Yersinia mollaretii</i>
<i>Campylobacter hominis</i>	<i>Collinsella aerofaciens</i>	<i>Helicobacter fennelliae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Ruminococcus bromii</i> ^a	<i>Yersinia rohdei</i>
<i>Campylobacter lari</i>				
PIERWOTNIAKI I PASOŻYTY				GRZYBY
Przebadane		Tylko analiza <i>in silico</i>		Przebadane
<i>Babesia microti</i>	<i>Entamoeba moshkovskii</i>	<i>Ancylostoma duodenale</i>	<i>Entamoeba hartmanni</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Blastocystis hominis</i>	<i>Giardia muris</i>	<i>Ascaris lumbricoides</i>	<i>Entamoeba polecki</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Conidiobolus lachnoides</i>	<i>Pentatrichomonas hominis</i>	<i>Balantidium coli</i>	<i>Enterobius vermicularis</i>	<i>Candida catenulate</i>
<i>Conidiobolus lobatus</i>	<i>Schistosoma mansoni</i>	<i>Chilomastix mesnili</i>	<i>Enteromonas hominis</i>	<i>Penicillium marneffeii</i>
<i>Encephalitozoon hellem</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Dientamoeba fragilis</i>	<i>Isospora belli</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Encephalitozoon intestinalis</i>	<i>Trichomonas tenax</i>	<i>Endolimax nana</i>	<i>Necator americanus</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Entamoeba gingivalis</i>		<i>Entamoeba coli</i>		
WIRUSY				
Przebadane			Tylko analiza <i>in silico</i>	
Adenowirus A:31	Adenowirus E:4a	Koronawirus 229E	Enterowirus 68	Adenowirus G52
Adenowirus B:34	Astrowirus wariant VA1	Wirus Coxsackie B3	Zapalenie wątroby typu A	Norowirus GIV
Adenowirus C:2	Astrowirus wariant MLB	Cytomegalowirus (CMV)	Wirus opryszczki zwykłej typu 2	Rotawirus B
Adenowirus D:37	Bokawirus typu 1	Echowirus 6	Rynowirus 1A	Rotawirus C

^aW ewaluacji klinicznej zaobserwowano reaktywność krzyżową w badaniu na obecność *Giardia lamblia* z jednym lub więcej gatunkami *Bifidobacterium* i *Ruminococcus*, natomiast w tym badaniu nie stwierdzono jej. Gatunki *Bifidobacterium* i *Ruminococcus* wymienione są w tabeli 39 jako potencjalnie wywołujące reaktywność krzyżową.

^bW ewaluacji klinicznej zaobserwowano - lub podejrzewano na podstawie analizy *in silico* - reaktywność krzyżową w badaniu ETEC 2 na obecność *Hafnia alvei* i *Cedeceae davisiae*, natomiast w tym badaniu nie stwierdzono jej. *Hafnia alvei* i *Cedeceae davisiae* są także wymienione w tabeli 39 jako potencjalnie wywołujące reaktywność krzyżową

^cDwa izolaty tego gatunku zostały przetestowane pod kątem swoistości analitycznej.

^dNa podstawie analizy *in silico* wykazano możliwość zachodzenia reaktywności krzyżowej pomiędzy *Yersinią fredricksenii* i *Yersinią enterocolitica* przy wysokich stężeniach, natomiast w tym badaniu nie stwierdzono tego. *Y. fredricksenii* jest także wymieniona w tabeli 39 jako potencjalnie wywołująca reaktywność krzyżową.

Zakażenie krzyżowe i przenoszenie zakażeń

Możliwość przenoszenia zakażeń pomiędzy próbkami została oceniona z zastosowaniem naprzemiennego testowania próbek zawierających wysokie stężenia organizmów (10^7 - 10^9 organizmów/ml) oraz próbek ich nie zawierających w ogóle. Nie stwierdzono żadnych wyników fałszywie dodatnich w badaniach próbek wysoko dodatnich, a następnie, bezpośrednio po nich, ujemnych, co wskazuje na skuteczność systemu i zalecanego sposobu obchodzenia się z próbkami oraz praktyk laboratoryjnych, w zakresie zapobiegania uzyskiwania wyników fałszywie dodatnich z powodu zakażeń krzyżowych lub przenoszenia zakażeń z próbki na próbkę.

Badanie na odtwarzalność wyników

Wieloośrodkowe badanie na odtwarzalność wyników przeprowadzone zostało w celu określenia międzyośrodkowej i całkowitej odtwarzalności wyników pracy systemu FilmArray GI Panel. Powtarzalność wyników została wykazana w trzech różnych ośrodkach badawczych, z wykorzystaniem spreparowanych próbek kału, załadowanych różnymi kombinacjami czterech odmiennych analitów GI Panel. Każdy z nich został przebadany przy trzech różnych stężeniach (ujemnym, niskim dodatnim oraz średnim dodatnim).

W badaniu wykorzystano wachlarz potencjalnych wariantów wprowadzonych przez 13 operatorów, 4 różne partie saszetek i 16 różnych urządzeń FilmArray. Przed badaniami próbki przechowywane były w chłodni (4°C) lub zamrożone ($\leq -70^\circ\text{C}$). Probki mrożone badano w ciągu pięciu dni, w trzech ośrodkach badawczych, aby uzyskać 90 przypadków na próbkę, a próbki chłodzone badano w ciągu czterech dni, w trzech ośrodkach badawczych, do uzyskania 108 przypadków na próbkę. Podsumowanie wyników (procentowa (%) zgodność z oczekiwanymi wynikami) dla każdego analitu (na ośrodek i ogółem) przedstawiono w tabeli 41. W tabeli 42 natomiast pokazano powtarzalność Tm dla każdego badania z wynikiem dodatnim.

FilmArray GI Panel pozwala uzyskać wysoką dokładność i powtarzalność wyników badań wszystkich analitów (15 891/15 912 = 99.87% zgodności ogółem, z 95% interwałem pewności w przedziale 99,81% - 99,92%), z odchyleniem standardowym Tm wynoszącym 0,5°C.

Tabela 41. Powtarzalność wyników badań FilmArray GI Panel

Badany organizm	Stężenie	Oczekiwany wynik	% zgodności z oczekiwanym wynikiem ^a			
			Ośrodek A	Ośrodek B	Ośrodek C	Wszystkie ośrodki (95% interwał pewności)
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC BAA-1234	średnie dodatnie 3xLoD 1,2x10 ⁵ komórek/ml	Wykryto	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0 - 100%)
	niskie dodatnie 1xLoD 4x10 ⁴ komórek/ml	Wykryto	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0 - 100%)
	Brak	Nie wykryto	192/192 100%	192/192 100%	192/192 100%	576/576 100% (99,4 - 100%)
<i>Clostridium difficile</i> ^b ATCC 9689	średnie dodatnie 3xLoD 1,2x10 ⁶ komórek/ml	Wykryto	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6 - 100%)
	niskie dodatnie 1xLoD 4x10 ⁵ komórek/ml	Wykryto	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6 - 100%)
	Brak	Nie wykryto	120/120 100%	120/120 100%	120/120 100%	360/360 100% (96,6 - 100%)
<i>Escherichia coli</i> (EPEC) E2348/69	średnie dodatnie 3xLoD 3x10 ³ CFU/ml	Wykryto	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0 - 100%)

Badany organizm	Stężenie	Oczekiwany wynik	% zgodności z oczekiwanym wynikiem ^a			
			Ośrodek A	Ośrodek B	Ośrodek C	Wszystkie ośrodki (95% interwał pewności)
(STEC Center)	niskie dodatnie 1xLoD 1x10 ³ CFU/ml	Wykryto	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0 - 100%)
	Brak	Nie wykryto	192/192 ^c 100%	192/192 ^c 100%	192/192 ^c 100%	576/576 100% (99,4 - 100%)
<i>Salmonella enterica</i> ^b SarC1 (SGSC)	średnie dodatnie 3xLoD 1,5x10 ⁴ CFU/ml	Wykryto	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6 - 100%)
	niskie dodatnie 1xLoD 5x10 ³ CFU/ml	Wykryto	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6 - 100%)
	Brak	Nie wykryto	120/120 100%	120/120 100%	120/120 100%	360/360 100% (96,6 - 100%)
<i>Escherichia coli</i> (STEC) O157 ATCC 43895	średnie dodatnie 3xLoD 3x10 ⁴ CFU/ml	Wykryto	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0 - 100%)
	niskie dodatnie 1xLoD 1x10 ⁴ CFU/ml	Wykryto	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0 - 100%)
	Brak	Nie dotyczy	192/192 100%	192/192 100%	192/192 100%	576/576 100% (99,4 - 100%)
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 29930	średnie dodatnie 3xLoD 3x10 ² CFU/ml	Wykryto	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0 - 100%)
	niskie dodatnie 1xLoD 1x10 ² CFU/ml	Wykryto	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0 - 100%)
	Brak	Nie wykryto	192/192 100%	192/192 100%	192/192 100%	576/576 100% (99,4 - 100%)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> ^b ATCC 17802	średnie dodatnie 3xLoD 2,4x10 ⁵ komórek/ml	Wykryto	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6 - 100%)
	niskie dodatnie 1xLoD 8x10 ⁴ komórek/ml	Wykryto	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6 - 100%)
	Brak	Nie wykryto	120/120 100%	120/120 100%	120/120 100%	360/360 100% (96,6 - 100%)
<i>Cryptosporidium parvum</i> Waterborne, Inc. P102C	średnie dodatnie 3xLoD 1,5x10 ⁴ oocyst/ml	Wykryto	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0 - 100%)
	niskie dodatnie 1xLoD 5x10 ³ oocyst/ml	Wykryto	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0 - 100%)
	Brak	Nie wykryto	192/192 100%	192/192 100%	192/192 100%	576/576 100% (99,4 - 100%)
<i>Giardia intestinalis</i> ^b (syn. <i>Giardia lamblia</i>) ATCC 30957	średnie dodatnie 3x LoD 150 komórek/ml	Wykryto	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6 - 100%)
	niskie dodatnie 1xLoD 50 komórek/ml	Wykryto	30/36 83,3%	30/36 83,3%	31/36 86,1%	91/108 84,3% (77,0 - 91,0%)
	Brak	Nie wykryto	120/120 100%	120/120 100%	120/120 100%	360/360 100% (96,6 - 100%)
Adenowirus F41 ATTC VR-930	średnie dodatnie 3x LoD 300 TCID ₅₀ /ml	Wykryto	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0 - 100%)

Badany organizm	Stężenie	Oczekiwany wynik	% zgodności z oczekiwanym wynikiem ^a			
			Ośrodek A	Ośrodek B	Ośrodek C	Wszystkie ośrodki (95% interwał pewności)
	niskie dodatnie 1xLoD 100 TCID ₅₀ /ml	Wykryto	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0 - 100%)
	Brak	Nie wykryto	192/192 100%	192/192 100%	192/192 100%	576/576 100% (99,4 - 100%)
Astrowirus (typ 8) NCPV 1003071v	średnie dodatnie 3xLoD 150 FFU/ml	Wykryto	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0 - 100%)
	niskie dodatnie 1xLoD 50 FFU/ml	Wykryto	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96,0 - 100%)
	Brak	Nie wykryto	192/192 100%	192/192 100%	192/192 100%	576/576 100% (99,4 - 100%)
Norowirus GI Próbka kliniczna	średnie dodatnie 3xLoD 3x10 ⁴ kopii/ml	Wykryto	29/30 96,7%	30/30 100%	30/30 100%	89/90 98,9% (96,0 - 100%)
	niskie dodatnie 1xLoD 1x10 ⁴ kopii/ml	Wykryto	28/30 93,3%	29/30 96,7%	30/30 100%	87/90 96,7% (96,0 - 100%)
	Brak	Nie wykryto	192/192 100%	192/192 100%	192/192 100%	576/576 100% (99,4 - 100%)

^a Oczekiwane wyniki „Nie wykryto” uzyskano z wszystkich próbek, które nie były załadowane odpowiednim analitem (100% zgodność z oczekiwanymi wynikami).

^b Wykrywanie powtarzalne, lecz sub-optymalne (<95%), zaobserwowano w przypadku jednego lub obu stężeń dla spreparowanych, zamrożonych próbek. Przedstawione dane uzyskano z próbek przechowywanych w temperaturze ~4°C w okresie do 4 dni przed poddaniem ich badaniom.

^c Obejmuje wyniki „nie dotyczy” dla 60 próbek (180 dla wszystkich ośrodków) załadowanych STEC O157. W przypadku wykrycia STEC, wynik „nie dotyczy” uzyskiwano na obecność EPEC niezależnie od statusu badania na obecność EPEC.

Tabela 42. Odtwarzalność wyników Tm dla badań FilmArray GI Panel z wynikiem dodatnim

Organizm	Badanie	Stężenie	Ośrodek	Odtwarzalność wyników Tm					
				Średnia	Odchyl.	Min.	Maks.	(Maks. - Min.)	
Bakterie i (włącznie z wywołującym biegunkę <i>E. coli</i>)									
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC BAA-1234	Campy 1	średnie dodatnie 3xLoD 1,2x10 ⁵ komórek/ml	Ośrodek A	78,38	± 0,27	77,86	79,01	1,15	
			Ośrodek B	78,28	± 0,21	77,87	78,59	0,72	
			Ośrodek C	78,04	± 0,29	77,60	78,59	0,99	
			Wszystkie	78,23	± 0,30	77,60	79,01	1,41	
		niskie dodatnie 1xLoD 4x10 ⁴ komórek/ml	Ośrodek A	78,60	± 0,33	77,73	79,47	1,74	
			Ośrodek B	78,65	± 0,19	78,28	79,01	0,73	
			Ośrodek C	78,21	± 0,26	77,73	78,72	0,99	
			Wszystkie	78,48	± 0,33	77,73	79,47	1,74	
<i>Clostridium difficile</i> ATCC 9689	Cdiff ^a	średnie dodatnie 3xLoD 1,2x10 ⁶ komórek/ml	Ośrodek A	76,01	± 0,34	75,30	76,99	1,69	
			Ośrodek B	75,79	± 0,40	74,71	76,59	1,88	
			Ośrodek C	75,60	± 0,34	75,02	77,09	2,07	
			Wszystkie	75,80	± 0,39	74,71	77,09	2,38	
		niskie dodatnie 1xLoD 4x10 ⁵ komórek/ml	Ośrodek A	76,18	± 0,43	75,45	77,15	1,70	
			Ośrodek B	75,94	± 0,43	75,09	76,74	1,65	
			Ośrodek C	75,73	± 0,28	75,29	76,45	1,16	
			Wszystkie	75,95	± 0,43	75,09	77,15	2,06	
		Tm 2	średnie dodatnie 3xLoD 1,2x10 ⁶ komórek/ml	Ośrodek A	78,84	± 0,26	78,44	79,56	1,12
				Ośrodek B	78,61	± 0,30	77,86	79,17	1,31
				Ośrodek C	78,40	± 0,22	78,01	79,02	1,01
				Wszystkie	78,62	± 0,32	77,86	79,56	1,70
			niskie dodatnie 1xLoD 4x10 ⁵ komórek/ml	Ośrodek A	78,94	± 0,31	78,45	79,61	1,16
				Ośrodek B	78,67	± 0,30	78,02	79,17	1,15
				Ośrodek C	78,48	± 0,24	78,02	79,02	1,00

Organizm	Badanie	Stężenie	Ośrodek	Odtwarzalność wyników Tm				
				Średnia	Odchyl.	Min.	Maks.	(Maks. - Min.)
			Wszystkie	78,70	± 0,34	78,02	79,61	1,59
Escherichia coli (EPEC) E2348/69 (STEC Center)	Ec eae	średnie dodatnie 3xLoD 3x10 ³ CFU/ml	Ośrodek A	80,53	± 0,24	80,16	81,04	0,88
			Ośrodek B	80,39	± 0,20	79,86	80,74	0,88
			Ośrodek C	80,38	± 0,17	80,01	80,61	0,60
			Wszystkie	80,43	± 0,22	79,86	81,04	1,18
		niskie dodatnie 1xLoD 1x10 ³ CFU/ml	Ośrodek A	80,59	± 0,24	80,15	81,18	1,03
			Ośrodek B	80,46	± 0,20	79,87	80,73	0,86
			Ośrodek C	80,42	± 0,14	80,15	80,72	0,57
Wszystkie	80,49	± 0,21	79,87	81,18	1,31			
Salmonella enterica SarC1 (SGSC)	Salm	średnie dodatnie 3xLoD 1,5x10 ⁴ CFU/ml	Ośrodek A	82,17	± 0,20	81,86	82,59	0,73
			Ośrodek B	81,88	± 0,26	81,30	82,32	1,02
			Ośrodek C	81,78	± 0,25	81,44	82,17	0,73
			Wszystkie	81,95	± 0,29	81,30	82,59	1,29
		niskie dodatnie 1xLoD 5x10 ³ CFU/ml	Ośrodek A	82,21	± 0,27	81,74	82,77	1,03
			Ośrodek B	81,96	± 0,26	81,31	82,39	1,08
			Ośrodek C	81,83	± 0,25	81,45	82,31	0,86
			Wszystkie	82,00	± 0,30	81,31	82,77	1,46
Escherichia coli (STEC) O157 ATCC 43895	O157	średnie dodatnie 3xLoD 3x10 ⁴ CFU/ml	Ośrodek A	83,23	± 0,22	82,58	83,77	1,19
			Ośrodek B	83,20	± 0,19	82,85	83,60	0,75
			Ośrodek C	82,96	± 0,29	82,59	83,44	0,85
			Wszystkie	83,13	± 0,26	82,58	83,77	1,19
		niskie dodatnie 1xLoD 1x10 ⁴ CFU/ml	Ośrodek A	83,26	± 0,24	82,80	83,88	1,08
			Ośrodek B	83,20	± 0,20	82,73	83,59	0,86
			Ośrodek C	83,01	± 0,29	82,46	83,60	1,14
			Wszystkie	83,16	± 0,26	82,46	83,88	1,42
	STEC 1	średnie dodatnie 3xLoD 3x10 ⁴ CFU/ml	Ośrodek A	82,85	± 0,25	82,16	83,48	1,32
			Ośrodek B	82,80	± 0,19	82,28	83,17	0,89
			Ośrodek C	82,52	± 0,28	82,16	83,02	0,86
			Wszystkie	82,72	± 0,28	82,16	83,48	1,32
		niskie dodatnie 1xLoD 1x10 ⁴ CFU/ml	Ośrodek A	82,89	± 0,24	82,44	83,31	0,87
			Ośrodek B	82,78	± 0,18	82,44	83,17	0,73
			Ośrodek C	82,55	± 0,28	82,03	83,17	1,14
			Wszystkie	82,74	± 0,27	82,03	83,31	1,28
	STEC 2	średnie dodatnie 3xLoD 3x10 ⁴ CFU/ml	Ośrodek A	84,99	± 0,22	84,44	85,49	1,05
			Ośrodek B	84,90	± 0,19	84,43	85,31	0,88
			Ośrodek C	84,68	± 0,30	84,30	85,16	0,86
			Wszystkie	84,86	± 0,27	84,30	85,49	1,19
		niskie dodatnie 1xLoD 1x10 ⁴ CFU/ml	Ośrodek A	84,98	± 0,22	84,58	85,45	0,87
			Ośrodek B	84,92	± 0,19	84,45	85,30	0,85
			Ośrodek C	84,72	± 0,28	84,31	85,32	1,01
			Wszystkie	84,88	± 0,26	84,31	85,45	1,14
Shigella sonnei ATCC 29930	Shig	średnie dodatnie 3xLoD 3x10 ² CFU/ml	Ośrodek A	86,58	± 0,25	86,01	87,05	1,04
			Ośrodek B	86,38	± 0,19	85,87	86,61	0,74
			Ośrodek C	86,44	± 0,17	86,16	86,75	0,59
			Wszystkie	86,47	± 0,22	85,87	87,05	1,18
		niskie dodatnie 1xLoD 1x10 ² CFU/ml	Ośrodek A	86,57	± 0,22	86,29	87,18	0,89
			Ośrodek B	86,52	± 0,24	86,02	87,01	0,99
			Ośrodek C	86,26	± 0,24	85,87	86,73	0,86
			Wszystkie	86,45	± 0,27	85,87	87,18	1,31
Vibrio parahaemolyticus ATCC 17802	Vibrio	średnie dodatnie 3xLoD 2,4x10 ⁵ komórek/ml	Ośrodek A	81,96	± 0,23	81,59	82,42	0,83
			Ośrodek B	81,69	± 0,24	81,02	82,03	1,01
			Ośrodek C	81,57	± 0,27	81,17	82,16	0,99
			Wszystkie	81,74	± 0,30	81,02	82,42	1,40
		niskie dodatnie 1xLoD 8x10 ⁴ komórek/ml	Ośrodek A	82,03	± 0,17	81,73	82,42	0,69
			Ośrodek B	81,74	± 0,23	81,29	82,17	0,88
			Ośrodek C	81,60	± 0,22	81,30	82,02	0,72
			Wszystkie	81,79	± 0,28	81,29	82,42	1,13
Pierwotniaki								
Cryptosporidium	Crypt 1	średnie dodatnie	Ośrodek A	78,99	± 0,23	78,58	79,46	0,88

Organizm	Badanie	Stężenie	Ośrodek	Odtwarzalność wyników Tm						
				Średnia	Odchyl.	Min.	Maks.	(Maks. - Min.)		
parvum Waterborne, Inc. P102C		3xLoD 1,5x10 ⁴ oocyst/ml	Ośrodek B	78,95	± 0,24	78,29	79,58	1,29		
			Ośrodek C	78,83	± 0,15	78,57	79,16	0,59		
			Wszystkie	78,92	± 0,22	78,29	79,58	1,29		
			Ośrodek A	79,00	± 0,26	78,59	79,61	1,02		
		niskie dodatnie 1xLoD 5x10 ³ oocyst/ml	Ośrodek B	78,94	± 0,21	78,29	79,31	1,02		
			Ośrodek C	78,88	± 0,18	78,43	79,17	0,74		
			Wszystkie	78,95	± 0,23	78,29	79,61	1,32		
			Crypt 2	średnie dodatnie 3xLoD 1,5x10 ⁴ oocyst/ml	Ośrodek A	71,75	± 0,28	71,29	72,31	1,02
					Ośrodek B	71,74	± 0,20	71,15	72,15	1,00
	Ośrodek C	71,50			± 0,20	71,28	72,15	0,87		
	Wszystkie	71,67			± 0,26	71,15	72,31	1,16		
	niskie dodatnie 1xLoD 5x10 ³ oocyst/ml	Ośrodek A		71,81	± 0,35	71,29	72,43	1,14		
		Ośrodek B		71,81	± 0,16	71,43	72,16	0,73		
		Ośrodek C		71,59	± 0,21	71,28	72,14	0,86		
		Wszystkie		71,74	± 0,27	71,28	72,43	1,15		
Giardia intestinalis (syn. <i>G. lamblia</i>) ATCC 30957		Glam		średnie dodatnie 3xLoD 150 komórek/ml	Ośrodek A	91,52	± 0,24	91,04	92,08	1,04
	Ośrodek B		91,19		± 0,25	90,47	91,59	1,12		
	Ośrodek C		91,12		± 0,29	90,62	91,74	1,12		
	Wszystkie		91,28		± 0,31	90,47	92,08	1,61		
	niskie dodatnie 1xLoD 50 komórek/ml		Ośrodek A	91,57	± 0,21	91,17	91,91	0,74		
			Ośrodek B	91,24	± 0,22	90,75	91,62	0,87		
			Ośrodek C	91,10	± 0,30	90,60	91,61	1,01		
			Wszystkie	91,30	± 0,31	90,60	91,91	1,31		
			Wirusy							
	Adenowirus F41 ATTC VR-930	AdenoF	średnie dodatnie 3xLoD 300 TCID ₅₀ /ml	Ośrodek A	86,71	± 0,23	86,01	87,35	1,34	
				Ośrodek B	86,61	± 0,18	86,28	87,03	0,75	
				Ośrodek C	86,36	± 0,31	85,87	86,87	1,00	
Wszystkie				86,56	± 0,28	85,87	87,35	1,48		
niskie dodatnie 1xLoD 100 TCID ₅₀ /ml			Ośrodek A	86,85	± 0,27	86,37	87,48	1,11		
			Ośrodek B	86,70	± 0,20	86,30	87,16	0,86		
			Ośrodek C	86,47	± 0,29	86,02	87,03	1,01		
			Wszystkie	86,67	± 0,30	86,02	87,48	1,46		
Astrowirus (typ 8) NCPV 1003071v	Astro	średnie dodatnie 3xLoD 150 FFU/ml	Ośrodek A	85,62	± 0,25	85,17	86,06	0,89		
			Ośrodek B	85,48	± 0,18	85,01	85,88	0,87		
			Ośrodek C	85,51	± 0,21	85,02	85,90	0,88		
			Wszystkie	85,54	± 0,22	85,01	86,06	1,05		
		niskie dodatnie 1xLoD 50 FFU/ml	Ośrodek A	85,67	± 0,26	85,17	86,19	1,02		
			Ośrodek B	85,54	± 0,22	85,01	86,01	1,00		
			Ośrodek C	85,55	± 0,16	85,29	85,89	0,60		
			Wszystkie	85,59	± 0,22	85,01	86,19	1,18		
Norowirus GI Próbka kliniczna	Noro 1	średnie dodatnie 3xLoD 3x10 ⁴ kopii/ml	Ośrodek A	83,69	± 0,23	83,14	84,07	0,93		
			Ośrodek B	83,46	± 0,20	82,92	83,76	0,84		
			Ośrodek C	83,43	± 0,20	83,02	83,87	0,85		
			Wszystkie	83,52	± 0,24	82,92	84,07	1,15		
		niskie dodatnie 1xLoD 1x10 ⁴ kopii/ml	Ośrodek A	83,62	± 0,24	83,22	84,15	0,93		
			Ośrodek B	83,59	± 0,21	83,18	83,98	0,80		
			Ośrodek C	83,30	± 0,24	82,93	83,79	0,86		
			Wszystkie	83,50	± 0,27	82,93	84,15	1,22		

^a Gdy w próbce obecne są obydwa geny toksyny *C. difficile* (*tcdA* i *tcdB*), zaobserwowano charakterystyczny podwójny profil topnienia i dwie różne wartości Tm (Tm1 i Tm2).

Czynniki zakłócające

Sprawdzono zdolność zakłócania badania przez substancje, które mogą być obecne w próbce stolca (przechowywanej na podkładzie Cary Blair) lub wprowadzone do próbek podczas obchodzenia się z nimi. Substancję potencjalnie zakłócającą dodano do spreparowanej próbki stolca zawierającej organizmy reprezentatywne GI Panel. Każda spreparowana próbka zawierała mieszankę czterech różnych organizmów, z których każdy obecny był w stężeniach wynoszących ok. trzykrotność (3x) LoD. Próbki niezaladowane organizmami (bez substancji testowanych) posłużyły dla porównania, jako kontrole dodatnie (brak interferencji). Próbki załadowane (czyli zawierające substancje testowane) sprawdzono pod kątem działania kontroli i dokładności uzyskiwania wyników z każdej z próbek. Powtarzające się błędy kontroli lub uzyskiwanie nieoczekiwanych wyników (czyli fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych) świadczyły o obecności czynników zakłócających.

W przypadku testów przeprowadzanych na substancjach endogennych i egzogennych (tabela 43), tylko mucyna bydlęca dała nieoczekiwane wyniki: stwierdzono EPEC w próbkach, które nie były nim załadowane. Dalsze badania nad komercyjnie przygotowaną, a stosowaną do testów próbką mucyny wykazały wcześniejsze jej skażenie EPEC.

Tabela 43. Przebadane substancje endogenne i egzogenne - brak zakłóceń

Substancje endogenne	Substancje egzogenne
Krew pełna ludzka	Bacytracyna
Triglicerydy	Doksycyklina
Cholesterol	Nystatyna
Kwasy tłuszczowe (kwas palmitynowy)	Metronidazol
Kwasy tłuszczowe (kwas stearynowy)	Naproksen
Mucyna bydlęca ^a	Bisakodyl
Żółć ludzka	Subsaliicylan bizmutu
Mocz ludzki	Węglan wapnia
Kał ludzki (z podkładu Cary Blair)	Dokuzynian sodu
	Gliceryna
	Hydrokortyzon
	Loperamid
	Wodorotlenek magnezu
	Olej mineralny
	Chlorowodorek fenylefryny
	Fosforan sodu
	Nonoksynol-9
	Podchloryn
	Etanol

^a Nieoczekiwane wyniki na obecność EPEC wywołane były skażeniem mucyny kwasem nukleinowym EPEC.

Nie zaobserwowano inhibicji ani nieoczekiwanych wyników testów przy wysokich stężeniach organizmów potencjalnie konkurujących (typu on-panel i off-panel; tabela 44).

Tabela 44. Testowane mikroorganizmy potencjalnie konkurujące - brak zakłóceń

Organizmy typu on-panel	Organizmy typu off-panel
Adenowirus F41	<i>Aeromonas hydrophila</i>
Szczepy enterotoksyczne <i>E. coli</i> (ETEC)	Niepatogeniczne <i>E. coli</i>
	<i>Bacteroides vulgatus</i>
	<i>Helicobacter pylori</i>
	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
	<i>Saccharomyces boulardii</i>
	Ludzki rinowirus 87

Poddano testom szczepy rekombinowane rotawirusa A, stosowane w produkcji szczepionki przeciwko temu wirusowi (tabela 45) i uzyskano wyniki Rotavirus A Detected (wykryto). Obecność w stolcu rotawirusa A ze szczepionki podawanej doustnie powodowała wykrywanie tego wirusa przez FilmArray GI Panel.

Tabela 45. Testowane szczepy rotawirusa A pochodzące ze szczepionki - wykrywanie rotawirusa A

Składniki szczepionki RotaTeq przeciwko rotawirusowi A
Szczep rekombinowany rotawirusa WC3:2-5, R574(9) [ATCC VR-2195]
Szczep rekombinowany rotawirusa WI79-4,9 [ATCC VR-2415]

Spreparowane próbki stolca, przygotowane na różnych podłożach, w tym Cary Blair (patrz tabela 46) zostały sprawdzone pod kątem wpływu tych podłoży na zakłócanie dokładności wyników badań FilmArray GI Panel. Zakłóceń nie zaobserwowano w przypadku próbek zebranych na podłożach Protocol Cary Blair czy innych marek (Para-Pak Enteric Plus oraz Para-Pak C&S); nie określono skuteczności tych podłoży. Skuteczność badań analizów była jednak obniżona (uzyskano wyniki fałszywie ujemne) dla próbek przygotowanych na mediach zawierających substancje konserwujące, zwłaszcza formalinę.

Tabela 46. Testowane podłoża

Podłoża enteryczne - nie zaobserwowano zakłóceń		
PROTOCOL™ Cary Blair	Para-Pak Enteric Plus ^a	Para-Pak C&S ^a
Podłoża zawierające substancje konserwujące - zaobserwowano zakłócenia^a		
Modyfikowany alkohol poliwinylowy (PVA) (Cu)	Para-Pak 10% Formalin ^b	Para-Pak SAF ^a
Para-Pak ECOFIX	Para-Pak LV-PVA	Para-Pak Zn-PVA

^a Nie ustalono skuteczności tych podłoży.

^b Obniżona skuteczność wykrywania analizów (wyniki fałszywie dodatnie) w podłożach zawierających formalinę.

SKUTECZNOŚĆ OZNACZEŃ FILMARRAY 2.0 I FILMARRAY TORCH

W badaniach klinicznych i nieklinicznych ustalono, że skuteczność oznaczenia FilmArray GI Panel, w tym wartość granicy wykrywalności (patrz część Granica wykrywalności powyżej), procentowa zgodność wyników dodatnich i procentowa zgodność wyników ujemnych, jak również odtwarzalność, jest równa w systemach FilmArray i FilmArray 2.0. W badaniach nieklinicznych również wykazano podobną skuteczność w systemach FilmArray Torch.

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

Kliniczne badania porównawcze

Kliniczne badania porównawcze przeprowadzono za pomocą próbek uzyskanych wcześniej, podczas prospektywnej oceny klinicznej oznaczenia FilmArray GI, oraz zarchiwizowanych próbek dodatkowych, pobranych w zewnętrznych placówkach medycznych i laboratoriach referencyjnych, w celu zwiększenia liczby próbek testowanych pod kątem analizów charakteryzujących się niską prevalencją. Próbki spreparowane klinicznie również zostały wykorzystane do przygotowania analizów GI, które są niezwykle rzadkie i dla których nie były dostępne żadne próbki kliniczne (*Entamoeba histolytica*, *Vibrio* spp., i *V. cholerae*). Wybrano łącznie 104 próbki tak, aby każdy analiz był obecny od 3 do 5 razy. Każda próbka została rozmrożona lub spreparowana oraz przebadana przy użyciu systemu FilmArray i FilmArray 2.0. Ogólna procentowa zgodność wyników dodatnich pomiędzy systemami wynosiła 96,4%, gdzie dolna granica obustronnego przedziału ufności 95% (95% CI) była na poziomie 91,0%. Ogólna procentowa zgodność wyników ujemnych wynosiła 99,4%, gdzie dolna granica obustronnego przedziału ufności 95% (95% CI) była na poziomie 98,9%.

Tabela 47. Wyniki dla analizów uzyskane w klinicznym badaniu porównawczym systemu FilmArray

Analit	FilmArray 2.0 / FilmArray					
	PPA	%	95% CI	NPA	%	95% CI
Bakterie						
<i>Campylobacter</i>	5/5	100%	47,8–100%	96/97	99%	94,4–100%
<i>Clostridium difficile</i> toksyna A/B	5/5	100%	47,8–100%	95/97	97,9%	92,7–99,7%
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	3/3	100%	29,2–100%	99/99	100%	96,3–100%
<i>Salmonella</i>	5/5	100%	47,8–100%	97/97	100%	96,3–100%
<i>Vibrio</i>	6/7	85,7%	42,1–99,6%	94/95	98,9%	94,3–100%
<i>Vibrio cholerae</i>	3/3	100%	29,2–100%	98/99	99%	94,5–100%
<i>Yersinia enterocolitica</i>	4/4	100%	39,8–100%	98/98	100%	96,3–100%
Biegunkogenne <i>E. coli</i> / <i>Shigella</i>						
Enteroagregacyjne <i>E. coli</i> (EAEC)	8/8	100%	63,1–100%	94/94	100%	96,2–100%
Enteropatogenne <i>E. coli</i> (EPEC)	11/12	91,7%	61,5–99,8%	84/84	100%	95,7–100%
Enterotoksygenne <i>E. coli</i> (EPEC)	5/5	100%	47,8–100%	96/97	99%	94,4–100%
<i>E. coli</i> wytwarzające toksyny typu Shiga (STEC)	6/6	100%	54,1–100%	96/96	100%	96,2–100%
<i>Escherichia coli</i> O157	3/3	100%	29,2–100%	3/3	100%	29,2–100%
<i>Shigella</i> /enteroinwazyjne <i>E. coli</i> (EIEC)	6/6	100%	54,1–100%	96/96	100%	96,2–100%
Pasożyty						
<i>Cryptosporidium</i>	6/6	100%	54,1–100%	96/96	100%	96,2–100%
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	4/4	100%	39,8–100%	98/98	100%	96,3–100%
<i>Entamoeba histolytica</i>	5/5	100%	47,8–100%	97/97	100%	96,3–100%
<i>Giardia lamblia</i>	6/6	100%	54,1–100%	96/96	100%	96,2–100%
Wirusy						
Adenowirus F 40/41	7/9	77,8%	40–97,2%	90/93	96,8%	90,9–99,3%
Astrowirus	5/5	100%	47,8–100%	97/97	100%	96,3–100%
Norowirus GI/GII	4/4	100%	39,8–100%	96/98	98%	92,8–99,8%
Rotawirus A	4/4	100%	39,8–100%	98/98	100%	96,3–100%
Sapowirus	5/5	100%	47,8–100%	97/97	100%	96,3–100%
Zgodność ogólna	116/120	96,7%	91,7–99,1%	2011/2022	99,5%	99,0–99,7%

Określono skuteczność działania systemu na podstawie badań 104 próbek na każdej platformie. Na systemie FilmArray przeprowadzono 105 cykli, z których 104 zakończyło się pomyślnie (99,0%; 104/105). Jeden cykl został przerwany przez użytkownika (0,9%). W trakcie analiz nie wystąpiły żadne nieprawidłowości. Na systemie FilmArray 2.0 przeprowadzono 104 cykli, z których 104 zakończyło się pomyślnie (100%; 104/104). Jedna analiza się nie powiodła.

Odtwarzalność

Wieloośrodkowe badanie odtwarzalności przeprowadzono w celu określenia odtwarzalności między placówkami/systemami i odtwarzalności łącznej oznaczeń GI Panel w systemach FilmArray 2.0. Badania odtwarzalności były prowadzone w trzech placówkach analitycznych przy użyciu spreparowanych próbek kału, zainokulowanych kombinacjami pięciu różnych analitów do oznaczenia GI Panel, przedstawiających rodzaje mikroorganizmów wykrywanych przy użyciu tego oznaczenia (bakterie (w tym biegunkogenne *E. coli*), pasożyty, wirusy DNA i RNA). Każdy analit był oceniany w trzech różnych stężeniach (ujemnym, niskim dodatnim i umiarkowanym dodatnim). Wyniki ujemne dla każdego oznaczenia zostały uzyskane w przypadku próbek, które nie zostały zainokulowane odpowiednimi mikroorganizmami (próbka nie zawierała analitu).

Dane obejmują wyniki ze 108 powtórzeń dla analitu i obejmują zakres możliwych odchyleń wynikających z obsługi przez 9 różnych operatorów, stosowania 3 różnych partii saszetek oraz 9 różnych urządzeń FilmArray 2.0 skonfigurowanych na 3 różnych systemach wieloelementowych. Podobnie, jak w przypadku odtwarzalności na systemie FilmArray wyników uzyskanych przy użyciu systemu FilmArray GI Panel (tabele 41–42 powyżej), procentowa (%) zgodność z wynikami Detected (Wykryto), Not Detected (Nie wykryto) oraz N/A/ (Nie dotyczy) wynosiła co najmniej 99,1%, a odchylenie standardowe wartości T_m wynosiło 0,6°C lub mniej dla wszystkich oznaczeń.

UWAGA: Odtwarzalność na systemie FilmArray Torch wyników uzyskanych przy użyciu systemu FilmArray GI Panel została również oceniona w podobnym badaniu. Uzyskano zbliżone wyniki, w tym zgodność z oczekiwanymi wynikami Detected (Wykryto), uzyskanymi w przypadku $\geq 99,0\%$ powtórzeń, przy stężeniu wynoszącym jednokrotność granicy wykrywalności ($1 \times \text{LoD}$) oraz oczekiwane wyniki Not Detected (Nie wykryto) lub N/A (Nie dotyczy) w przypadku $\geq 99,0\%$ badanych próbek, gdzie standardowe odchylenie wartości T_m dla każdego oznaczenia wynosiło $\pm 0,5^\circ\text{C}$ lub mniej. Jedynym wyjątkiem były szczepy *G. lamblia*, które były wykrywane w przypadku $< 95\%$ powtórzeń badanych przy użyciu systemów FilmArray Torch i FilmArray. Następnie ustalono, że stosowane kultury były niezdadne do użycia. W wyniku ponownych badań 20 powtórzeń próbki o stężeniu $1 \times \text{LoD}$, przygotowanej przy użyciu nowych kultur, uzyskano spodziewaną, wynoszącą $> 95\%$ skuteczność wykrywania przy użyciu systemów FilmArray, FilmArray 2.0 i FilmArray Torch.

Tabela 48. Podsumowanie odtwarzalności wyników badań uzyskanych przy użyciu systemu FilmArray 2.0

Badane mikroorganizmy	Badane stężenie	Oczekiwane wyniki badań	% zgodność z oczekiwanym wynikiem			
			Placówka/system			Łącznie (95% przedział ufności)
			A	B	C	
<i>Clostridium difficile</i> (toksynotyp 0 A+B+) ATCC 9689	Umiarkowanie dodatni 3x LoD 1,2x10 ⁶ CFU/ml	Detected (Wykryto)	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6–100%)
	Niski dodatni 1x LoD 4,0x10 ⁵ CFU/ml	Detected (Wykryto)	35/36 97,2%	36/36 100%	36/36 100%	107/108 99,1% (95,0–100%)
	Ujemny	Not Detected (Nie wykryto)	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6–100%)
Wytwarzające toksyny typu Shiga <i>Escherichia coli</i> O157 (STEC O157) ATCC 43895	Umiarkowanie dodatni 3x LoD 3,0x10 ⁴ CFU/ml	Detected (Wykryto)	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6–100%)
	Niski dodatni 1x LoD 1,0x10 ⁴ CFU/ml	Detected (Wykryto)	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6–100%)
	Ujemny	Not Detected (Nie wykryto) (STEC) oraz N/A (Nie dotyczy) (O157)	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6–100%)
<i>Cryptosporidium parvum</i> Przenoszone drogą wodną P102C	Umiarkowanie dodatni 3x LoD 1,5x10 ⁴ oocyst/ml	Detected (Wykryto)	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6–100%)
	Niski dodatni 1x LoD 5,0x10 ³ oocyst/ml	Detected (Wykryto)	35/36 97,2%	36/36 100%	36/36 100%	107/108 99,1% (95,0–100%)
	Ujemny	Not Detected (Nie wykryto)	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6–100%)
Adenowirus F41 ATCC VR-930	Umiarkowanie dodatni 3x LoD 300 TCID ₅₀ /ml	Detected (Wykryto)	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6–100%)
	Niski dodatni 1x LoD 100 TCID ₅₀ /ml	Detected (Wykryto)	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6–100%)
	Ujemny	Not Detected (Nie wykryto)	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6–100%)
Astrowirus NCPV 10037071v	Umiarkowanie dodatni 3x LoD 150 FFU/ml	Detected (Wykryto)	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6–100%)
	Niski dodatni 1x LoD 50 FFU/ml	Detected (Wykryto)	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6–100%)
	Ujemny	Not Detected (Nie wykryto)	36/36 100%	36/36 100%	36/36 100%	108/108 100% (96,6–100%)

REFERENCJE

1. Herikstad, H. *et al.* A population-based estimate of the burden of diarrhoeal illness in the United States: FoodNet, 1996–7. *Epidemiology and Infection* **129**, 9–17 (2002).
2. Mead, P. S. *et al.* Food-related illness and death in the United States. *Emerging infectious diseases* **5**, 607 (1999).
3. Kimata, K. *et al.* Rapid categorization of pathogenic *Escherichia coli* by multiplex PCR. *Microbiol. Immunol.* **49**, 485–492 (2005).
4. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vital signs: preventing *Clostridium difficile* infections. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **61**, 157–162 (2012).
5. Dubberke, E. R., Reske, K. A., Olsen, M. A., McDonald, L. C. & Fraser, V. J. Short- and long-term attributable costs of *Clostridium difficile*-associated disease in nonsurgical inpatients. *Clin. Infect. Dis.* **46**, 497–504 (2008).
6. Liu, L. *et al.* Global, regional, and national causes of child mortality: an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000. *Lancet* **379**, 2151–2161 (2012).
7. Marcus, R. New information about pediatric foodborne infections: The view from FoodNet. *Current opinion in pediatrics* **20**, 79 (2008).
8. Vidal, M. *et al.* Single multiplex PCR assay to identify simultaneously the six categories of diarrheagenic *Escherichia coli* associated with enteric infections. *J. Clin. Microbiol.* **43**, 5362–5365 (2005).
9. Moore, J. E. *et al.* *Campylobacter*. *Veterinary Research* **36**, 351–382 (2005).
10. Versalovic, J. & American Society for Microbiology. *Manual of clinical microbiology*. (ASM Press, 2011).
11. Nachamkin, I., Szymanski, C. M. & Blaser, M. J. *Campylobacter*. (ASM Press, 2008).
12. Scallan, E. Foodborne Illness Acquired in the United States—Major Pathogens. *Emerging Infectious Diseases* **17**, (2011).
13. Eurosurveillance editorial team. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2011. *Euro Surveill.* **11**, (2013).
14. Kyne, L., Hamel, M. B., Polavaram, R. & Kelly, C. P. Health care costs and mortality associated with nosocomial diarrhea due to *Clostridium difficile*. *Clinical Infectious Diseases* **34**, 346 (2002).
15. Bauer, M. P. *et al.* *Clostridium difficile* infection in Europe: a hospital-based survey. *Lancet* **377**, 63–73 (2011).
16. Khanna, S. *et al.* The Epidemiology of Community-Acquired *Clostridium difficile* Infection: A Population-Based Study. *The American Journal of Gastroenterology* **107**, 89–95 (2011).
17. Sunenshine, R. H. & McDonald, L. C. *Clostridium difficile*-associated disease: new challenges from an established pathogen. *Cleveland Clinic journal of medicine* **73**, 187 (2006).
18. Schutze, G. E., Willoughby, R. E., Committee on Infectious Diseases & American Academy of Pediatrics. *Clostridium difficile* infection in infants and children. *Pediatrics* **131**, 196–200 (2013).
19. Cohen, S. H. *et al.* Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults: 2010 Update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA). *Infection Control and Hospital Epidemiology* **31**, 431–455 (2010).
20. Wong, T. Y. *et al.* *Plesiomonas shigelloides* infection in Hong Kong: retrospective study of 167 laboratory-confirmed cases. *Hong Kong Med J* **6**, 375–380 (2000).
21. Center for Food Safety and Applied Nutrition (U.S.). *The bad bug book : foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook*. (International Medical Pub., 2004).
22. Crum-Cianflone, N. F. Salmonellosis and the gastrointestinal tract: more than just peanut butter. *Curr Gastroenterol Rep* **10**, 424–431 (2008).
23. Adams, D. A. *et al.* Summary of Notifiable Diseases - United States, 2011. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **60**, 1–117 (2013).
24. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). COVIS Annual Summary, 2009. *US Department of Health and Human Services* (2011).
25. European Commission. Opinion of the Scientific Committee on Veterinary measures relating to public health on *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus*. (2001).
26. Schmitz AM, T., RV. in *Bacterial Infections of Humans* 939 (Springer, 2009).
27. Croxen, M. A. *et al.* Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews* **26**, 822–880 (2013).
28. Kaur, P., Chakraborti, A. & Asea, A. Enterohaggregative *Escherichia coli*: An Emerging Enteric Food Borne Pathogen. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases* **2010**, 1–10 (2010).
29. DuPont, H. L. Bacterial diarrhea. *New England Journal of Medicine* **361**, 1560–1569 (2009).
30. Nataro, J. P. *et al.* Diarrheagenic *Escherichia coli* infection in Baltimore, Maryland, and New Haven, Connecticut. *Clinical infectious diseases* **43**, 402 (2006).

31. Roche, J. K., Cabel, A., Sevilleja, J., Nataro, J. & Guerrant, R. L. Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) Impairs Growth while Malnutrition Worsens EAEC Infection: A Novel Murine Model of the Infection Malnutrition Cycle. *The Journal of Infectious Diseases* **202**, 506–514 (2010).
32. Zamboni, A., Fabbriotti, S. H., Fagundes-Neto, U. & Scaletsky, I. C. A. Enteroaggregative *Escherichia coli* virulence factors are found to be associated with infantile diarrhea in Brazil. *Journal of clinical microbiology* **42**, 1058–1063 (2004).
33. Huang, D. B. A review of an emerging enteric pathogen: enteroaggregative *Escherichia coli*. *Journal of Medical Microbiology* **55**, 1303–1311 (2006).
34. Lanata, C. F., Mendoza, W. & Black, R. E. Improving diarrhoea estimates. Geneva, Switzerland: World Health Organization (2002). at http://www.who.int/entity/maternal_child_adolescent/documents/pdfs/improving_diarrhoea_estimates.pdf
35. Dalton, C., Mintz, E., Wells, J., Bopp, C. & Tauxe, R. Outbreaks of enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in American adults: a clinical and epidemiologic profile. *Epidemiology and infection* **9**–16 (1999).
36. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Bacteriological Analytical Manual (BAM). at <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>
37. Rangel, J. M., Sparling, P. H., Crowe, C., Griffin, P. M. & Swerdlow, D. L. Epidemiology of *Escherichia coli* O157: H7 Outbreaks, United States, 1982–2002. (2005).
38. Sethabutr, O. *et al.* Detection of PCR products of the ipaH gene from *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli* by enzyme linked immunosorbent assay. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **37**, 11–16 (2000).
39. Thiem, V. D. *et al.* Detection of *Shigella* by a PCR Assay Targeting the ipaH Gene Suggests Increased Prevalence of Shigellosis in Nha Trang, Vietnam. *Journal of Clinical Microbiology* **42**, 2031–2035 (2004).
40. Pawlowski, S. W., Warren, C. A. & Guerrant, R. Diagnosis and treatment of acute or persistent diarrhea. *Gastroenterology* **136**, 1874–1886 (2009).
41. Legua, P. & Seas, C. Cystoisospora and cyclospora. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **26**, 479–483 (2013).
42. Buss, S. N., Alter, R., Iwen, P. C. & Fey, P. D. Implications of Culture-Independent Panel-Based Detection of *Cyclospora cayetanensis*. *Journal of Clinical Microbiology* **51**, 3909–3909 (2013).
43. Fotedar, R. *et al.* Laboratory diagnostic techniques for *Entamoeba* species. *Clin. Microbiol. Rev.* **20**, 511–532, table of contents (2007).
44. Amoebiasis. *Wkly. Epidemiol. Rec.* **72**, 97–99 (1997).
45. DuPont, H. L. *Giardia*: both a harmless commensal and a devastating pathogen. *J. Clin. Invest.* **123**, 2352–2354 (2013).
46. Utagawa, E. T. *et al.* Astrovirus as a cause of gastroenteritis in Japan. *J. Clin. Microbiol.* **32**, 1841–1845 (1994).
47. Koci, M. D. Immunity and resistance to astrovirus infection. *Viral Immunol.* **18**, 11–16 (2005).
48. Division of Viral Diseases, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention. Updated norovirus outbreak management and disease prevention guidelines. *MMWR Recomm Rep* **60**, 1–18 (2011).
49. Kaplan, J. E. *et al.* Epidemiology of Norwalk gastroenteritis and the role of Norwalk virus in outbreaks of acute nonbacterial gastroenteritis. *Ann. Intern. Med.* **96**, 756–761 (1982).
50. Ahmed, S. M., Lopman, B. A. & Levy, K. A systematic review and meta-analysis of the global seasonality of norovirus. *PLoS ONE* **8**, e75922 (2013).
51. Johnson, P. C., Mathewson, J. J., DuPont, H. L. & Greenberg, H. B. Multiple-challenge study of host susceptibility to Norwalk gastroenteritis in US adults. *J. Infect. Dis.* **161**, 18–21 (1990).
52. Cortese, M. M. & Parashar, U. D. Prevention of rotavirus gastroenteritis among infants and children: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* **58**, 1–25 (2009).
53. Parashar, U. D., Bresee, J. S., Gentsch, J. R. & Glass, R. I. Rotavirus. *Emerging infectious diseases* **4**, 561 (1998).
54. Pediatric ROTavirus European Committee (PROTECT). The paediatric burden of rotavirus disease in Europe. *Epidemiol. Infect.* **134**, 908–916 (2006).
55. Schlenker, C. & Surawicz, C. M. Emerging infections of the gastrointestinal tract. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* **23**, 89–99 (2009).
56. Fischer, T. K. *et al.* Hospitalizations and deaths from diarrhea and rotavirus among children <5 years of age in the United States, 1993–2003. *J. Infect. Dis.* **195**, 1117–1125 (2007).
57. Rha, B. *et al.* Effectiveness and impact of rotavirus vaccines in the United States - 2006–2012. *Expert Rev Vaccines* (2014). doi:10.1586/14760584.2014.877846
58. Lee, L. E. *et al.* Sapovirus outbreaks in long-term care facilities, Oregon and Minnesota, USA, 2002–2009. *Emerging Infect. Dis.* **18**, 873–876 (2012).
59. Svraka, S. *et al.* Epidemiology and genotype analysis of emerging sapovirus-associated infections across Europe. *J. Clin. Microbiol.* **48**, 2191–2198 (2010).
60. Rockx, B. *et al.* Natural history of human calicivirus infection: a prospective cohort study. *Clin. Infect. Dis.* **35**, 246–253 (2002).
61. Johansson, P. J. H. *et al.* A nosocomial sapovirus-associated outbreak of gastroenteritis in adults. *Scand. J. Infect. Dis.* **37**, 200–204 (2005).

62. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL).
63. Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; CLSI Approved Guideline M29.
64. *Summary of Notifiable Diseases*. available at <<http://www.cdc.gov>>
65. *CIFOR Analysis of State Legal Authorities*. available at <<http://www.cifor.us/>>
66. Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions; CLSI Approved Guideline. (2006).
67. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; CLSI Approved Guideline. (2008).

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.



A BIOMÉRIEUX COMPANY

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