

## BioFire<sup>®</sup> Respiratory Panel 2.1 plus (RP2.1plus)

IVD

CE<sub>2797</sub>



Instrukcja obsługi	<a href="https://www.biofiredx.com/e-labeling/ITI0019">https://www.biofiredx.com/e-labeling/ITI0019</a>
Skrócona instrukcja obsługi	<a href="https://www.biofiredx.com/e-labeling/ITI0064">https://www.biofiredx.com/e-labeling/ITI0064</a>
Karta charakterystyki	<a href="https://www.biofiredx.com/e-labeling/ITI0092">https://www.biofiredx.com/e-labeling/ITI0092</a>
Oprogramowanie modułu saszetki	<a href="https://www.biofiredx.com/e-labeling/ITIFA20RP21plus10">https://www.biofiredx.com/e-labeling/ITIFA20RP21plus10</a>

<b>Dział obsługi klienta i pomocy technicznej</b>  <small>*Więcej informacji na temat kontaktowania się z Działem obsługi klienta i pomocy technicznej, patrz Załącznik B.</small>	Nr tel.: 1-800-735-6544 (bezpłatny) E-mail: <a href="mailto:support@BioFireDX.com">support@BioFireDX.com</a> Strona internetowa: <a href="http://www.biofiredx.com">www.biofiredx.com</a>
	Można też skontaktować się z lokalnym przedstawicielem handlowym firmy bioMérieux lub autoryzowanym dystrybutorem.

## ZASTOSOWANIE

### Przeznaczenie

BioFire Respiratory Panel 2.1 plus (RP2.1plus) to multiplexowy test wykrywający kwas nukleinowy przeznaczony do stosowania z systemem BioFire<sup>®</sup> FilmArray<sup>®</sup> 2.0 lub BioFire<sup>®</sup> FilmArray<sup>®</sup> Torch służący do jednoczesnego jakościowego wykrywania i identyfikacji kwasów nukleinowych wielu wirusów i bakterii w wymazie nosowo-gardłowym (NPS) od osób, u których podejrzewa się zakażenie dróg oddechowych, w tym COVID-19.

Za pomocą testu BioFire RP2.1plus można zidentyfikować następujące typy i podtypy drobnoustrojów:

Wirusy	Bakterie
Adenovirus (Adenowirus) Coronavirus 229E (Koronawirus 229E) Coronavirus HKU1 (Koronawirus HKU1) Coronavirus NL63 (Koronawirus NL63) Coronavirus OC43 (Koronawirus OC43) Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (Koronawirus bliskowschodniego zespołu niewydolności oddechowej) (MERS-CoV) Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (Koronawirus SARS-2 zespołu ostrej ciężkiej niewydolności oddechowej) (SARS-CoV-2) Human Metapneumovirus (Ludzki metapneumowirus) Human Rhinovirus/Enterovirus (Ludzki rinowirus/enterowirus) Influenza A (Wirus grypy typu A), włącznie z podtypami H1, H3 i H1-2009 Influenza B (Wirus grypy typu B) Parainfluenza Virus 1 (Wirus paragrypy 1) Parainfluenza Virus 2 (Wirus paragrypy 2) Parainfluenza Virus 3 (Wirus paragrypy 3) Parainfluenza Virus 4 (Wirus paragrypy 4) Respiratory Syncytial Virus (Syncytialny wirus oddechowy)	Bordetella parapertussis Bordetella pertussis Chlamydia pneumoniae Mycoplasma pneumoniae

Oznaczane w tym teście kwasy nukleinowe wirusów i bakterii, pochodzących z dróg oddechowych, są zazwyczaj wykrywalne w wymazie nosowo-gardłowym (NPS) od pacjentów w ostrej fazie zakażenia. Wykrycie i identyfikacja kwasów nukleinowych określonych wirusów i bakterii u osób z objawami podmiotowymi i/lub przedmiotowymi zakażenia dróg oddechowych wskazuje na obecność oznaczonego drobnoustroju i stanowi pomoc w rozpoznaniu zakażenia dróg oddechowych, jeśli jednocześnie korzysta się z innych danych klinicznych i epidemiologicznych. Wyniki tego testu nie mogą stanowić wyłącznej podstawy do postawienia rozpoznania, wdrożenia leczenia czy podejmowania innych decyzji dotyczących postępowania terapeutycznego.

Ujemny wynik u pacjenta z chorobą układu oddechowego może świadczyć o zakażeniu patogenem, którego nie wykrywa ten test, lub zakażeniu dolnych dróg oddechowych, którego nie można wykryć na podstawie NPS. Dodatnie wyniki nie wykluczają koinfekcji innymi mikroorganizmami. Wykryty w teście BioFire RP2.1*plus* patogen może nie być specyficzną przyczyną choroby. Podczas oceny pacjenta z potencjalnym zakażeniem dróg oddechowych mogą okazać się konieczne dodatkowe testy laboratoryjne (np. posiew bakteryjny lub wirusowy, testy immunofluorescencyjne lub badania radiograficzne).

## Kompetencje użytkownika i środowisko użytkowania

BioFire RP2.1*plus* jest przeznaczony do stosowania przez przeszkolonych pracowników medycznych i laboratoryjnych w warunkach laboratoryjnych lub pod nadzorem przeszkolonego pracownika laboratoryjnego.

## PODSUMOWANIE I OBJAŚNIENIE TESTU

Patogeny układu oddechowego wywołują ostre, miejscowe i układowe choroby, które mają najcięższy przebieg u dzieci, osób starszych i osób z upośledzonym układem odpornościowym. Do możliwych objawów choroby układu oddechowego należą: kaszel, wysięk z nosa, niedrożność nosa, gorączka, świszczący oddech, duszność, ból głowy i ból mięśni. Jako że choroby wywołane różnymi wirusami i bakteriami mają podobny przebieg, rozpoznanie wyłącznie na podstawie objawów klinicznych jest trudne. Identyfikacja potencjalnych czynników etiologicznych dostarcza danych pomocnych lekarzowi we wdrożeniu odpowiedniego leczenia, a organom zdrowia publicznego — we wdrożeniu działań zapobiegających rozprzestrzenianiu się choroby. BioFire RP2.1*plus* jest testem na bazie zagnieżdżonej, multipleksowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym, przeznaczonym do jednoczesnej identyfikacji kwasów nukleinowych 23 różnych wirusów i bakterii wywołujących zakażenia dróg oddechowych w pojedynczym wymazie nosowo-gardłowym (NPS).

### Opis wykrywanych drobnoustrojów

**Adenowirusy (AdV)** są zróżnicowaną grupą wirusów DNA bez otoczki, obejmującą siedem gatunków (od A do G).<sup>1</sup> Adenowirusy B, C i E są przyczyną ostrej choroby układu oddechowego, przy czym wszystkie gatunki wywołują choroby u ludzi.<sup>2</sup> Inne adenowirusy (A, D, F i G) mogą wywoływać m.in. zapalenie pęcherza, zapalenie żołądka i jelit oraz zapalenie spojówek<sup>3</sup>, i również wykrywa się je w próbkach układu oddechowego. Ogniska często występują w warunkach zinstytucjonalizowanych, np. w koszarach, placówkach opieki długoterminowej i specjalistycznych szpitalach pediatrycznych, ponieważ dochodzi tam do częstego przenoszenia zakażenia w obrębie zamkniętej populacji.<sup>4–6</sup> Adenowirusy mogą przez długi czas pozostawać na powierzchniach zachowując właściwości zakaźne.<sup>6</sup>

**Koronawirusy (CoV)** — w latach '60-tych ustalono, że koronawirusy ludzkie są patogenami układu oddechowego, a do tej pory scharakteryzowano siedem wariantów serologicznych, wywołujących choroby u człowieka: cztery typy (**koronawirusy 229E, OC43, HKU1, NL63**), które regularnie krążą w populacjach ludzkich, stanowiąc przyczynę około 15% zwykłych przeziębień<sup>7,8</sup>, oraz trzy szczepy (**koronawirus bliskowschodniego zespołu niewydolności oddechowej (MERS-CoV)**, **koronawirus zespołu ostrej ciężkiej niewydolności oddechowej (SARS-CoV)** i **koronawirus 2 zespołu ostrej ciężkiej niewydolności oddechowej (SARS-CoV-2)**, przenoszące się ze zwierząt na ludzi od 2002<sup>8</sup> r. i stanowiące zagrożenie dla zdrowia publicznego jako nowe patogeny odzwierzęce. SARS-CoV został przez WHO uznany za zwalczony w 2003 r., mniej niż 12 miesięcy po jego pojawieniu się, a od 2004 r. nie odnotowano żadnych nowych przypadków. Ogniska MERS-CoV, który został opisany po raz pierwszy w 2012 r.,<sup>9</sup> sporadycznie pojawiają się do tej pory, gdy wirus przeniesie się ze zwierzęcia na człowieka, a następnie z człowieka na człowieka.<sup>10</sup> SARS-CoV-2 jest nowym koronawirusem i wywołuje COVID-19, chorobę, która osiągnęła poziom pandemii w krótkim czasie od pojawienia się pod koniec 2019 roku.<sup>11,12</sup> Koronawirusy powiązano z zapaleniem krupowym i zaostrzeniem astmy.<sup>13,14</sup> Zakażenia koronawirusem 229E, OC43, HKU1 i NL63 występują częściej zimą i wydaje się, że pojawiają się w obiegu okresowo.<sup>15</sup> Choroby wywoływane przez te koronawirusy są na ogół samoograniczające się.<sup>16</sup> Chociaż koronawirusy jako grupa najczęściej wywołują zakażenia górnych dróg oddechowych, wszystkie koronawirusy ludzkie mogą również powodować zakażenia dolnych dróg oddechowych, a MERS-CoV, SARS-CoV i SARS-CoV-2 mogą powodować zespół ostrej niewydolności oddechowej (ARDS), jak również znaczny odsetek hospitalizacji, powikłań i zgonów, szczególnie u pacjentów z chorobami współistniejącymi.<sup>17</sup> Jako jedyny wśród koronawirusów MERS-CoV powoduje ostre upośledzenie czynności nerek u ponad połowy zakażonych.<sup>18,19</sup> Zakażenie tym wirusem kończy się zgonem u ~25–76,5% osób.<sup>10</sup>

Uwaga: SARS-CoV nie jest wykrywany przez BioFire RP2.1*plus*.

**Ludzki metapneumowirus (hMPV)** należy do rodziny *Paramyxoviridae*.<sup>20</sup> hMPV wykryto po raz pierwszy w 2001 roku jako patogen występujący w drogach oddechowych u dzieci.<sup>21</sup> Dalsze badania potwierdziły, że hMPV może wywoływać zakażenia u osób w każdym wieku.<sup>22</sup> Oba jego genotypy: A i B, mogą występować jednocześnie i nie wydają się różnić pod względem ciężkości wywoływanej choroby.<sup>20</sup> hMPV jest drugą co do częstości przyczyną zapalenia oskrzeli u małych dzieci.<sup>20</sup> Dodatkowo zakażenie może dawać różne objawy zarówno ze strony górnych, jak i dolnych dróg oddechowych, takie jak: kaszel, wysięk z nosa, świszczący oddech, duszności i gorączka.<sup>23</sup> Szacuje się, że hMPV wywołuje 5–7% zakażeń

dróg oddechowych u dzieci i 3% u osób w dowolnym wieku.<sup>23</sup> Szczyt sezonowy zakażeń hMPV przypada na zimę i wczesną wiosnę, często zachodząc na sezonowy szczyt zakażeń z syncytialnym wirusem oddechowym (RSV).<sup>24</sup>

**Wirusy grypy typu A i B** są wirusami RNA z rodziny *Orthomyxoviridae*. Podczas corocznych epidemii grypy dochodzi do zakażeń górnych dróg oddechowych u 5–20% populacji. Wiążą się one z szybkim rozwojem gorączki.<sup>25</sup> Dominujący typ wirusa grypy zależy od dryfu i przesunięcia antygenowego.<sup>26</sup> Wirus grypy typu A dzieli się na podtypy według genów hemaglutyniny (H) i neuraminidazy (N). Podtypami wirusa grypy typu A najczęściej zakażającymi człowieka są **H1N1** i **H3N2**. Podtyp H3N2 wywołuje chorobę o większej ciężkości i śmiertelności.<sup>26</sup> W sezonie grypowym 2009/10 dominującym podtypem wirusa grypy typu A był (H1N1)pdm09 (H1-2009, tzw. „wirus świńskiej grypy”), wywołując około 99% zgłoszonych przypadków grypy, w międzyczasie wypierając występujące przed 2009 rokiem szczepy H1N1 (Tab. 1).<sup>27</sup> Obecnie dostępne są co najmniej cztery leki przeciwwirusowe do leczenia grypy: amantadyna, rymantadyna, zanamiwir i oseltamiwir. Ich skuteczność jest specyficzna wobec typu, a rozprzestrzenianie się nowych szczepów wirusa wiąże się z rozwojem lekooporności.<sup>28</sup> Powikłanie grypy wirusowym lub bakteryjnym zapaleniem płuc jest przyczyną zwiększenia śmiertelności tej choroby.<sup>29</sup>

Tab. 1. Udział poszczególnych podtypów wirusa grypy w zakażeniach w USA (zgodnie z doniesieniami amerykańskiej agencji Centers for Disease Control)

Sezon grypowy <sup>1</sup>	Wirus grypy typu A	% podtypów wirusa grypy typu A			Wirus grypy typu B
		(Wirus grypy typu A H1)	H1-2009	(Wirus grypy typu A H3)	
2019–2020 <sup>2</sup>	58,3%	0,0	92,7	7,3	41,7%
2018–2019	94,3%	0,0	55,5	44,5	5,7%
2017–2018	71,0%	0,0	15,5	84,5	29,0%
2016–2017 <sup>3</sup>	77,1%	0,0	3,1	96,9	22,9%
2015–2016 <sup>3</sup>	70,3%	0,0	78,4	21,6	29,7%
2014–2015	83,1%	0,0	0,5	99,5	16,9%
2013–2014	85,2%	0,0	87,3	12,7	14,8%
2012–2013	70,4%	0,0	5,2	94,8	29,6%

<sup>1</sup> Dostęp do danych CDC FluView uzyskano w dniu 08.05.2020 r.

<sup>2</sup> Skumulowane wyniki do 18.04.2020 r.

<sup>3</sup> Sezon, podczas którego zebrano prospektywne dane kliniczne, opisane w tej publikacji.

**Wirusy paragrypy (PIV)** są wirusami RNA z rodziny *Paramyxoviridae*. W latach 1950 ustalono, że wirusy paragrypy są odrębnymi od wirusów grypy patogenami układu oddechowego.<sup>30</sup> Wirusy paragrypy dzielą się na cztery typy (**wirus paragrypy 1, 2, 3 i 4**). Wirus paragrypy typu 1 wywołuje epidemie co dwa lata na jesień i przypisuje mu się 50% przypadków zapalenia krupowego.<sup>30</sup> Wirus paragrypy typu 2 wywołuje epidemie co rok lub dwa lata i mogą one następować zamiennie z epidemiami wirusa paragrypy typu 1.<sup>30</sup> Dzieci poniżej szóstego miesiąca życia są szczególnie narażone na zakażenia wirusem paragrypy typu 3, a ogniska choroby pojawiają się na oddziałach intensywnej opieki neonatologicznej. PIV3 jest przyczyną największej śmiertelności i chorobowości spośród wszystkich szczepów<sup>31</sup>, a epidemie występują najczęściej wiosną i latem.<sup>30</sup> Wirus paragrypy typu 4 wywołuje zakażenia we wszystkich grupach wiekowych, lecz jako że jest wykrywany rzadko nie ustalono, czy zakażenia występują okresowo.<sup>32,33</sup>

**Syncytialny wirus oddechowy (RSV)** należy do grupy wirusów RNA z rodziny *Paramyxoviridae* i jest spokrewniony z ludzkimi metapneumowirusami i wirusami paragrypy.<sup>34</sup> RSV ma dwa główne podtypy (A i B), których występowanie zmienia się corocznie.<sup>35</sup> RSV jest najpowszechniejszą przyczyną ciężkich chorób układu oddechowego u niemowląt, przy czym ostre zapalenie oskrzeli stanowi główną przyczynę hospitalizacji.<sup>34</sup> RSV jest obecnie uznawany za istotny patogen wśród dorosłych, aczkolwiek infekcje u dorosłych mają na ogół mniej ciężki przebieg i ograniczają się do górnych dróg oddechowych.<sup>36</sup> Szczytowa aktywność RSV przypada zwykle na styczeń i luty.<sup>37</sup>

**Rinowirusy i Enterowirusy** są spokrewnionymi ze sobą wirusami RNA z rodziny *Picornaviridae*.<sup>38</sup> Istnieje ponad 100 serotypów ludzkiego rinowirusa, różniących się serologią białek kapsydu.<sup>38</sup> Stwierdzono, że rinowirusy wywołują przeziębienie, lecz mogą również przyczyniać się do wywoływania napadów astmy i ciężkich powikłań.<sup>38</sup> Do grupy enterowirusów należą cztery gatunki, które łącznie dzielą się na co najmniej 89 odmiennych typów. Poszczególne typy mogą dawać różne objawy kliniczne, w tym wywoływać nieswoiste choroby układu oddechowego u niemowląt lub dorosłych.<sup>39</sup> Zarówno rinowirusy, jak i enterowirusy występują przez cały rok.<sup>40,41</sup>

***Bordetella pertussis***, bakteria Gram-ujemna, jest głównym czynnikiem etiologicznym krztuśca (koklusz), silnie zaraźliwej, możliwej do zapobieżenia szczepionką choroby, która podlega obowiązkowi zgłoszenia odpowiednim organom zdrowia publicznego.<sup>42–44</sup> Krztusiec występuje najczęściej u dzieci, ale może też wystąpić u młodzieży i dorosłych. Udokumentowano ogniska choroby w pełni wyszczepionych populacjach z powodu utraty odporności (wykazano, że odporność spada po 5–10 latach od zaszczepienia).<sup>44,45</sup> Wczesny etap krztuśca jest nieswoisty (przypomina przeziębienie), a typowe objawy (kaszel napadowy, świszczący wdech, przypominający pianie koguta, wymioty po napadzie kaszlu, oraz bezdech lub sinienie u niemowląt) pojawiają się dopiero około dwóch tygodni po pierwszych objawach. ***Bordetella parapertussis*** wywołuje łagodniejszą, przypominającą krztusiec chorobę.<sup>44</sup> Nie określono szczytowego sezonu zakażeń *Bordetella*.

***Chlamydia pneumoniae*** (wcześniej *Chlamydophila pneumoniae*) jest obligatoryjną bakterią wewnątrzkomórkową, wywołującą ostre infekcje układu oddechowego i jest częstą przyczyną atypowego (niewymagającego hospitalizacji) pozaszpitalnego zapalenia płuc i oskrzeli.<sup>46–48</sup> Okres inkubacji *C. pneumoniae* wynosi około trzech tygodni, a chorobę mogą przenosić również bezobjawowi nosiciele.<sup>48</sup> Ogniska choroby pojawiają się w szkołach, koszarach i domach opieki.<sup>49</sup> Nie określono szczytowego sezonu zakażeń dla *C. pneumoniae*.

***Mycoplasma pneumoniae*** jest kolejnym bakteryjnym czynnikiem etiologicznym atypowego pozaszpitalnego zapalenia płuc, często tworzącym ogniska choroby.<sup>50,51</sup> Czas inkubacji *M. pneumoniae* wynosi 1–4 tygodni.<sup>52</sup> Choroba układu oddechowego wywołana przez *M. pneumoniae* nie ma określonego sezonu największej częstości występowania, lecz jej epidemie pojawiają się okresowo co 3–7 lat.<sup>51</sup>

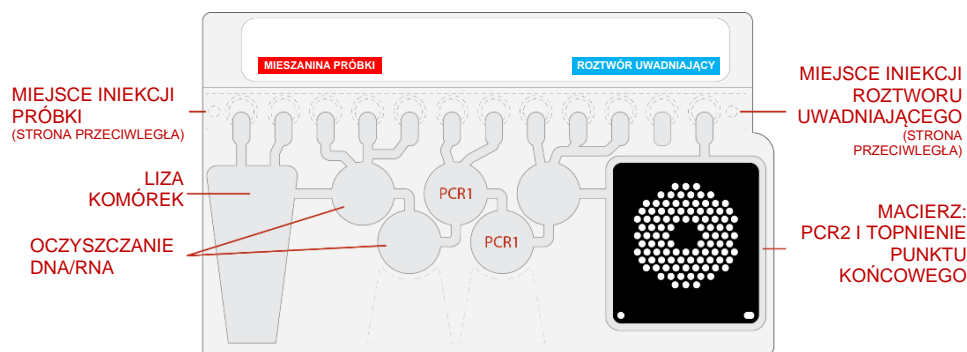
## ZASADA PROCEDURY

Saszetka BioFire® RP2.1plus jest zamkniętym, jednorazowym układem, zawierającym wszystkie niezbędne odczynniki do przygotowania próbki, odwrotnej transkrypcji, reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) i detekcji. Umożliwia izolację, namnażanie i wykrywanie kwasu nukleinowego różnych patogenów układu oddechowego w pojedynczym wymazie nosowo-gardłowym. Po pobraniu próbki użytkownik wstrzykuje do saszetki hydration solution (roztwór uwadniający) oraz próbkę zawieszoną w Sample Buffer (Buforze próbki), wprowadza saszetkę do odpowiedniego modułu urządzenia BioFire® FilmArray® System i uruchamia cykl. Cały cykl trwa około 45 minut. Dalsze informacje można znaleźć w odpowiednim podręczniku operatora urządzenia BioFire FilmArray System.

Etapy cyklu w systemie FilmArray®:

- Liza próbki poprzez wytrząsanie (liza mechaniczna) oraz liza chemiczna w Sample Buffer (Buforze próbki).
- Ekstrakcja i oczyszczenie całkowitych kwasów nukleinowych z próbki za pomocą technologii kulek magnetycznych.
- Zagnieżdżona reakcja multiplex PCR:
  - Najpierw wykonywana jest odwrotna transkrypcja, a następnie multipleksowa reakcja PCR pierwszego etapu (PCR1).
  - Następnie przeprowadzane są liczne, jednoczesne reakcje PCR drugiego etapu (PCR2), podczas których namnażane są sekwencje w obrębie produktów PCR1
- Na podstawie punktu końcowego krzywej topnienia wykrywane są amplicony specyficzne dla mikroorganizmu docelowego; analiza tych danych umożliwia wygenerowanie wyniku dla każdego analitu.





## MATERIAŁY DOSTARCZANE

Każdy zestaw zawiera wystarczającą ilość odczynników do przetestowania 30 próbek (zestaw 30 testów — REF 423740):

- Pojedynczo zapakowane saszetki BioFire RP2.1*plus*
- Jednorazowe ampułki z buforem Sample Buffer (bufor próbki) (1,0 ml)
- Jednorazowe, wypełnione strzykawki Hydration Injection Vials (Strzykawki z roztworem uwadniającym) (1,5 ml) ([niebieskie](#))
- Jednorazowe strzykawki Sample Injection Vials (Strzykawki z próbką) ([czerwone](#))
- Pojedynczo zapakowane pipety Transfer Pipettes (Pipety transferowe)

## MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZANE

- System BioFire® FilmArray® w tym:
  - Systemy BioFire® FilmArray® 2.0 lub BioFire® FilmArray® Torch
    - wraz z oprogramowaniem podstawowym przeznaczonym do danego systemu oraz oprogramowaniem modułu saszetki przeznaczonym do danego panelu
  - BioFire® FilmArray® Pouch Loading Station (Stacja ładowania saszetek)
- 10% roztwór wybielacza lub podobny środek dezynfekujący

## OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

### Ogólne środki ostrożności

1. Wyniki testu BioFire RP2.1*plus* musi wnikliwie zinterpretować przeszkolony lekarz, uwzględniając występujące u pacjenta objawy przedmiotowe i podmiotowe, wyniki innych badań diagnostycznych oraz wszelkie istotne dane epidemiologiczne.
2. Saszetki BioFire RP2.1*plus* są przeznaczone do stosowania wyłącznie z systemami BioFire FilmArray 2.0 i BioFire FilmArray Torch.
3. Zawsze należy sprawdzać datę ważności saszetki. Nie wolno używać saszetek po upływie tej daty.

4. Saszetki BioFire RP2.1*plus* są przechowywane próżniowo w pojedynczo opakowanych pojemnikach. Aby zachować próżnię saszetki i zapewnić jej prawidłowe działanie, przed rozpakowaniem saszetek należy potwierdzić sprawność i dostępność urządzenia/modułu.

## Środki ostrożności dotyczące bezpieczeństwa

1. Należy stosować środki ochrony indywidualnej, w tym jednorazowe, czyste, bezpyłowe rękawiczki i fartuch laboratoryjny. Należy chronić skórę, oczy i błony śluzowe. W trakcie pracy z odczynnikami lub próbkami należy często zmieniać rękawiczki.
2. Wszystkie próbki i odpady należy traktować jako materiał potencjalnie zakaźny. Przestrzegać wytycznych dotyczących bezpieczeństwa, podanych m.in. w następujących dokumentach:
  - CDC/NIH *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>52</sup>
  - CLSI Document M29 *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*<sup>53</sup>
  - Należy zapoznać się z wytycznymi dotyczącymi bezpieczeństwa obchodzenia się i przetwarzania próbek, które mogą zawierać SARS-CoV-2 [www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab-biosafety-guidelines.html](http://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab-biosafety-guidelines.html) lub innymi, bardziej aktualnymi wytycznymi dotyczącymi SARS-CoV-2.
3. Należy przestrzegać obowiązujących w danej placówce procedur dotyczących bezpieczeństwa pracy z próbkami biologicznymi.
4. Jeśli na podstawie aktualnych, klinicznych i epidemiologicznych kryteriów przesiewowych zalecanych przez organy ds. zdrowia publicznego podejrzewa się zakażenie SARS-CoV-2 lub MERS-CoV, należy pobierać próbki z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności w celu zapobiegania zakażeniom.
5. Jeśli na podstawie bieżących klinicznych i epidemiologicznych kryteriów badań przesiewowych zalecanych przez organy zdrowia publicznego podejrzewa się zakażenie nowym wirusem grypy typu A, należy pobrać próbki zachowując odpowiednie środki ostrożności zapobiegające zakażeniu nowym, wirulentnym szczepem grypy oraz przesłać je do badań lokalnym władzom odpowiedzialnym za ochronę zdrowia. Nie należy w takich przypadkach podejmować prób prowadzenia hodowli wirusowych, chyba że dostępna jest placówka klasy BSL-3+, która odebrałaby próbki i wykonała hodowlę.
6. Materiały wykorzystane do wykonania tego oznaczenia, w tym odczynniki, próbki i zużyte fiolki buforu, należy utylizować zgodnie z przepisami krajowymi, wojewódzkimi i lokalnymi.
7. Sample Buffer (Bufor próbki) podlega następującej klasyfikacji:
  - Toksyczność ostra, kat. 4
  - Poważne uszkodzenie oczu, kat. 1
  - Podrażnienie skóry, kat. 2.

Dalsze informacje można znaleźć w karcie charakterystyki odczynników BioFire RP2.1*plus*.

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

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

9. Wybielacz, zalecany środek dezynfekujący, ma właściwości żrące i może powodować silne podrażnienie i uszkodzenia skóry oraz oczu. Jego pary i mgiełka mogą podrażniać drogi oddechowe. Wybielacz jest szkodliwy po połknięciu i wdychaniu.

- Kontakt z oczami: Przytrzymując otwarte oko, płukać wodą przez 15–20 minut. Jeśli poszkodowany ma soczewki kontaktowe, zdjąć je po 5 minutach płukania i kontynuować płukanie. Zasięgnąć porady lekarskiej.
- Kontakt ze skórą: Natychmiast rozpocząć płukanie dużą ilością wody i prowadzić je co najmniej przez 15 minut. Jeśli dojdzie do podrażnień, zasięgnąć porady lekarskiej.
- Połknięcie: Nie wywoływać wymiotów. Wypić szklankę wody. Jeśli dojdzie do podrażnień, zasięgnąć porady lekarskiej.
- Dalsze informacje można znaleźć w odpowiedniej karcie charakterystyki.

## Środki ostrożności dotyczące laboratorium

### 1. Zapobieganie zanieczyszczeniu mikrobiologicznemu

W związku z dużą czułością testu BioFire RP2.1*plus* ważna jest ochrona próbki oraz miejsca pracy przed zanieczyszczeniem poprzez staranne przeprowadzenie procesu testu zgodnie z wytycznymi w niniejszej instrukcji, w tym z poniższymi zaleceniami:

- Personel laboratoryjny może być bezobjawowym nosicielem i rozprzestrzeniać powszechne patogeny układu oddechowego, nieświadomie zakażając próbki podczas ich przetwarzania. Zaleca się staranne przestrzeganie etapów przetwarzania próbek opisanych w niniejszym dokumencie w celu uniknięcia ewentualnego zanieczyszczenia. Próbkę należy przetwarzać w czystej komorze bezpieczeństwa biologicznego, jeśli jest dostępna, lub zgodnie z wytycznymi danego laboratorium. Jeśli nie stosuje się komory bezpieczeństwa biologicznego, należy przygotowywać próbki pod wyciągiem (takim jak stacja robocza AirClean PCR), w osłonie przeciwbryzgowej (np. Bel-Art Scienceware Splash Shields) lub osłonie twarzy.
- Personel laboratoryjny z objawami czynnej infekcji układu oddechowego (wysięk z nosa, kaszel) powinien stosować standardowe maski chirurgiczne (lub ich odpowiednik) i unikać dotykania maski podczas pracy z próbkami.
- Nie pracować z próbkami i saszetkami na obszarze, w którym rutynowo przetwarza się kultury patogenów układu oddechowego i/lub prowadzi badania immunofluorescencyjne, chyba że obszar ten zostanie najpierw dokładnie oczyszczony.
- Przed przystąpieniem do pracy z próbką należy dokładnie oczyścić miejsce pracy i Pouch Loading Station (Stację ładowania saszetek) BioFire® odpowiednim środkiem czyszczącym, np. świeżo przygotowanym 10% roztworem wybielacza lub podobnym środkiem odkażającym. Aby uniknąć nagromadzenia pozostałości i potencjalnego zniszczenia próbki lub zakłóceń ze strony środków odkażających, zdezynfekowane powierzchnie należy przetrzeć wodą.
- Można pracować z jedną próbką i jedną saszetką jednocześnie. Między przygotowaniem poszczególnych próbek i saszetek należy zawsze zmieniać rękawiczki i czyścić miejsce pracy.
- Na czas wyjmowania ampulek Sample Buffer (Buforu próbki) i Sample/Hydration Injection Vials (Strzykawek z roztworem uwadniającym) z większych opakowań należy zakładać czyste rękawiczki. Gdy opakowania te nie są używane, muszą pozostać szczelnie zamknięte.
- W miarę możliwości nie pobierać próbek ani nie pracować z nimi na obszarach narażonych na materiał szczepionek przeciwko patogenom wykrywanym przez test BioFire RP2.1*plus* (np. grypy i *Bordetella pertussis*). Należy zachować szczególną ostrożność podczas pracy, aby uniknąć zakażenia. Niektóre bezkomórkowe szczepionki przeciwko *B. pertussis* (tj. Pentacel®, Daptacel® i Adacel®) zawierają DNA wykrywalne metodą PCR. Zakażenie próbek lub materiału testowego może spowodować uzyskanie wyników fałszywie dodatnich wobec *B. pertussis* (<http://www.cdc.gov/pertussis/clinical/diagnostic-testing/diagnosis-pcr-bestpractices.html>).



## 2. Zapobieganie zanieczyszczeniu amplikonem

Częstym problemem w przypadku oznaczeń z wykorzystaniem metody PCR są wyniki fałszywie dodatnie spowodowane zanieczyszczeniem obszaru roboczego amplikonem PCR. Ponieważ saszetka BioFire RP2.1*plus* to układ zamknięty, ryzyko zanieczyszczenia amplikonem jest niskie, o ile saszetki pozostaną nienaruszone po zakończeniu testu. Oprócz powyższych, należy w celu zapobieżenia zanieczyszczeniu amplikonem postępować zgodnie z następującymi wytycznymi:

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

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

**NIE PRZEPROWADZAĆ DALSZYCH OZNACZEŃ DO MOMENTU ODKAŻENIA OBSZARU.**

## Przestrogi związane ze zgłaszaniem do organów zdrowia publicznego

Lokalne, wojewódzkie i ogólnokrajowe przepisy dotyczące powiadamiania o przypadkach chorób podlegających obowiązkowi zgłoszenia są stale aktualizowane i obejmują szereg drobnoustrojów w przypadku których konieczny jest nadzór i badania epidemiologiczne.<sup>53,54</sup> Ponadto amerykańska agencja Centers for Disease Control and Prevention (CDC) zaleca, aby w razie wykrycia testem diagnostycznym innym niż hodowla (CIDT) patogenów powodujących choroby podlegające obowiązkowi zgłoszenia, laboratorium umożliwiło uzyskanie izolatu lub materiałów klinicznych celem przedłożenia właściwemu laboratorium ds. zdrowia publicznego, aby pomóc w wykryciu ogniska choroby i badaniach epidemiologicznych. Laboratoria odpowiadają za przestrzeganie przepisów wojewódzkich i/lub lokalnych, w związku z czym powinny skontaktować się z lokalnymi i/lub wojewódzkimi laboratoriami ds. zdrowia publicznego celem uzyskania izolatu i/lub wytycznych dotyczących przedłożenia próbki klinicznej.

Dodatknie wyniki w kierunku SARS-CoV-2, MERS-CoV lub podejrzanego nowego wirusa grypy należy zgłaszać do wojewódzkich, lokalnych lub krajowych organów ochrony zdrowia zgodnie z lokalnymi wymogami dotyczącymi sprawozdawczości. Nie należy w takich przypadkach podejmować prób hodowli komórek wirusowych, chyba że dostępna jest placówka klasy BSL-3, która odebrałaby próbki i wykonała hodowlę.

Zgodnie z prawem lokalnym, wojewódzkim i krajowym, podmioty świadczące opiekę zdrowotną powinny niezwłocznie zgłaszać organom zdrowia publicznego (w stosownych przypadkach) każdą osobę ocenianą pod kątem zakażenia MERS-CoV, jeśli spełniają kryteria dla pacjenta objętego dochodzeniem (<https://www.cdc.gov/coronavirus/mers/case-def.html#pui>).

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

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

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

# PRZECHOWYWANIE, STABILNOŚĆ ORAZ PRACA Z ODCZYNNIKIEM

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

## WYMAGANIA DOTYCZĄCE PRÓBK

W tabeli poniżej opisano wymagania dotyczące pobierania i przygotowania próbek oraz postępowania z nimi w sposób zapewniający uzyskanie prawidłowych wyników.

Rodzaj próbki	Wymaz nosowo-gardłowy (NPS) pozyskany standardową techniką i umieszczony w maksymalnie 3 ml podłoża transportowego
Minimalna objętość próbki	0,3 ml (300 µl)
Transport i przechowywanie	<p>Próbki należy przetwarzać i oznaczać testem BioFire RP2.1 <i>plus</i> tak szybko, jak to tylko możliwe.</p> <p>Jeśli konieczne jest przechowywanie, należy stosować następujące warunki:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• W temperaturze pokojowej (15–25°C) przez maksymalnie 4 godziny</li><li>• W lodówce (2–8°C) przez maksymalnie 3 dni</li><li>• Zamrożone (≤ –15°C lub ≤ –70°C) (przez maksymalnie 30 dni)<sup>a</sup></li></ul>

<sup>a</sup> Oceniono przechowywanie tego typu próbek przez okres do 30 dni po zamrożeniu. Dopuszczalne jest jednak dłuższe przechowywanie zamrożonych próbek. Należy przestrzegać zasad i protokołów walidacji przechowywania próbek w danej instytucji.



**UWAGA: Próbek NPS przed badaniem nie należy wirować.**




**UWAGA: Wybielacz może uszkodzić drobnoustroje / kwasy nukleinowe w próbce, potencjalnie powodując otrzymanie wyników fałszywie ujemnych. Należy unikać kontaktu wybielacza z próbkami podczas pobierania, dezynfekcji i przeprowadzania testu.**

## PROCEDURA

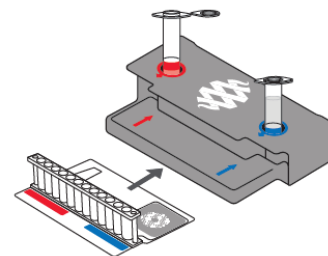
W trakcie pracy z saszetkami i próbkami należy nosić czyste rękawiczki i inne środki ochrony indywidualnej. Przygotowywać tylko jedną saszetkę BioFire RP2.1*plus* na raz i zmieniać rękawiczki między przygotowaniem poszczególnych próbek i saszetek. Po umieszczeniu próbki w saszetce należy niezwłocznie przenieść ją do urządzenia i rozpocząć cykl. Po zakończeniu cyklu wyrzucić saszetkę do pojemnika na odpady stanowiącego zagrożenie biologiczne.

### Etap 1: Przygotowanie saszetki

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

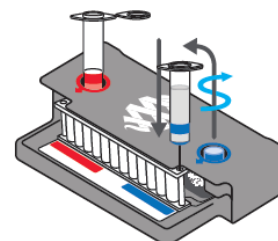
 **UWAGA:** Można użyć saszetki, nawet jeśli próżniowe zamknięcie opakowania zostało naruszone. Należy podjąć próbę uwodnienia saszetki, wykonując czynności opisane w części Uwadnianie saszetki. Jeśli uwodnienie saszetki się powiedzie, kontynuować cykl. Jeśli uwodnienie saszetki się nie powiedzie, należy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

3. Sprawdzać datę ważności saszetki. Nie stosować przeterminowanych saszetek.
4. Włożyć saszetkę do Pouch Loading Station (Stacji ładowania saszetek), wyrównując czerwoną i niebieską etykietę na saszetce z czerwoną i niebieską strzałką na Pouch Loading Station (Stacji ładowania saszetek).
5. Zamkniętą czerwonym korkiem **Sample Injection Vial (Strzykawkę z próbką)** umieścić w **czerwonej studzience** Pouch Loading Station (Stacji ładowania saszetek).
6. Zamkniętą niebieskim korkiem **Hydration Injection Vial (Strzykawkę z roztworem uwadniającym)** umieścić w **niebieskiej studzience** Pouch Loading Station (Stacji ładowania saszetek).



### Etap 2: Uwadnianie saszetki

1. Odkręcić **Hydration Injection Vial (Strzykawkę z roztworem uwadniającym)** od niebieskiego korka.
2. Odłączyć **Hydration Injection Vial (Strzykawkę z roztworem uwadniającym)**, pozostawiając niebieski korek w studzience BioFire Pouch Loading Station (Stacji ładowania saszetek).
3. Końcówkę kaniuli **Hydration Injection Vial (Strzykawki z roztworem uwadniającym)** umieścić w **porcie uwadniania saszetki** znajdującym się bezpośrednio pod niebieską strzałką Pouch Loading Station (Stacji ładowania saszetek).
4. Pewnym, szybkim ruchem wcisnąć mocno, aby przebić uszczelnienie. Da się słyszeć ciche pstryknięcie i opór ustąpi. Odczekać, aż próżnia spowoduje zaciągnięcie prawidłowej ilości Hydration Solution (Roztworu uwadniającego) do saszetki.
  - Jeśli roztwór uwadniający nie zostanie automatycznie zaciągnięty do saszetki, należy powtórzyć Etap 2, aby sprawdzić, czy plomba **portu uwadniania saszetki** nie została uszkodzona. Jeśli roztwór uwadniający znów nie został zaciągnięty do saszetki, należy odrzucić saszetkę, wziąć nową i powtórzyć czynności od *Etapu 1: Przygotowanie saszetki*.



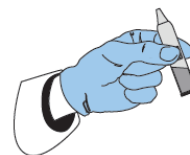
5. Należy upewnić się, że saszetka została uwodniona.

- Obrócić etykietę kodu kreskowego do dołu i sprawdzić, czy płyn został wprowadzony do studzienek na odczynnik (znajdujących się w podstawie sztywnej, wykonanej z tworzywa sztucznego części saszetki). Mogą być widoczne małe pęcherzyki powietrza.
- Jeśli próba uwodnienia saszetki nie powiedzie się (suche odczynniki będą widoczne w postaci białych grudek), należy powtórzyć Etap 2, aby sprawdzić, czy złamano plombę [portu uwadniania saszetki](#). Jeśli roztwór uwadniający nadal nie został zaciągnięty do saszetki, wyrzucić saszetkę, wziąć nową i powtórzyć czynności od *Etapu 1: Przygotowanie saszetki*.

### Etap 3: Przygotowanie mieszaniny próbki

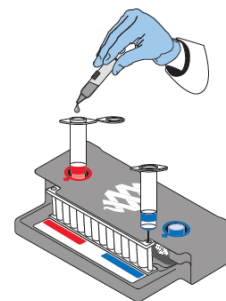
1. Dodać Sample Buffer (Bufor próbki) do **Sample Injection Vial (Strzykawki z próbką)**.

- Przytrzymać ampulkę zawierającą Sample Buffer (Bufor próbki), kierując końcówkę ku górze.



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

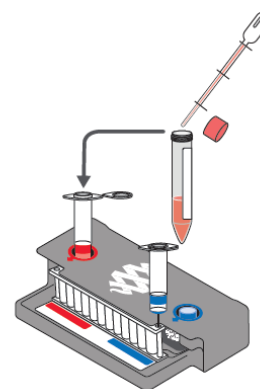
- Mocno ścisnąć fakturowaną zawleczkę z tworzywa sztucznego, znajdująca się z boku ampulki, do momentu rozszczelnienia.
- Odwrócić ampulkę nad **Sample Injection Vial (Strzykawką z próbką)** z czerwonym korkiem i dozować Sample Buffer (Bufor próbki) poprzez powolne i mocne ściśnięcie, a następnie drugie ściśnięcie.



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

**OSTRZEŻENIE:** Sample Buffer (Bufor próbki) jest szkodliwy po połknięciu, powoduje ciężkie uszkodzenie oczu i podrażnienie skóry.

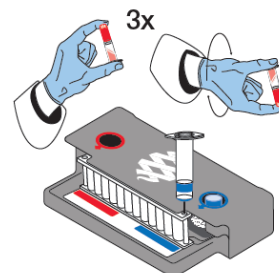
- Dokładnie wymieszać próbkę NPS na mieszadle wibracyjnym lub przez odwracanie.
- Użyć Transfer Pipette (Pipety transferowej) dołączonej do zestawu testowego i pobrać próbkę do trzeciej kreski tej pipety (około 0,3 ml).
- Dodać próbkę do Sample Buffer (Bufora próbki) znajdującego się w **Sample Injection Vial (Strzykawce z próbką)**.
- Zamknąć szczelnie pokrywkę **Sample Injection Vial (Strzykawki z próbką)** i wyrzucić Transfer Pipette (Pipetę transferową) do pojemnika na odpady stanowiącego zagrożenie biologiczne.





**UWAGA: NIE UŻYWAĆ Transfer Pipette (Pipety transferowej) do mieszania próbki po dodaniu jej do strzykawki Sample Injection Vial (Strzykawka z próbką).**

- Wyjąć **Sample Injection Vial (Strzykawkę z próbką)** z Pouch Loading Station (Stacji ładowania saszetek) i co najmniej trzykrotnie ją odwrócić, aby wymieszać zawartość.
- Ponownie umieścić **Sample Injection Vial (Strzykawkę z próbką)** w **czerwonej studzience** Pouch Loading Station (Stacji ładowania saszetek).



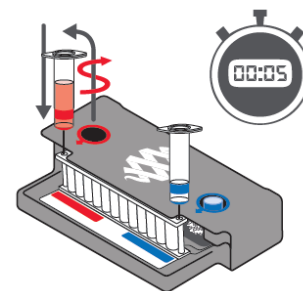
## Etap 4: Wprowadzanie mieszaniny próbki

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



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

- Podnieść **Sample Injection Vial (Strzykawkę z próbką)**, pozostawiając czerwony korek w studzience Pouch Loading Station (Stacji ładowania saszetek) i umieścić końcówkę kaniuli **Sample Injection Vial (Strzykawki z próbką)** w **porcie próbki saszetki** znajdującym się bezpośrednio pod czerwoną strzałką Pouch Loading Station (Stacji ładowania saszetek).
- Pewnym, szybkim ruchem wcisnąć mocno, aby przebić uszczelnienie (da się słyszeć ciche pstryknięcie); próbka zostanie zassana do saszetki przez próżnię.
- Upewnić się, że próbka została wprowadzona.
  - Obrócić etykietę kodu kreskowego do dołu i sprawdzić, czy płyn został wprowadzony do studzienki na odczytnik obok portu ładowania próbki.
  - Jeśli saszetka nie zaciągnie próbki ze **Sample Injection Vial (Strzykawki z próbką)**, należy odrzucić saszetkę. Przygotować nową saszetkę i powtórzyć czynności od *Etapu 1: Przygotowanie saszetki*.
- Wyrzucić **Sample Injection Vial (Strzykawkę z próbką)** i **Hydration Injection Vial (Strzykawkę z roztworem uwadniającym)** do odpowiedniego pojemnika na odpady ostre stanowiące zagrożenie biologiczne.
- Zapisać identyfikator Sample ID (ID próbki) w przeznaczonym do tego celu miejscu na etykiecie saszetki lub przykleić identyfikator Sample ID (ID próbki) z kodem kreskowym i wyjąć saszetkę ze stacji Pouch Loading Station (Stacją ładowania saszetek) FilmArray.



## Etap 5: Wykonywanie cyklu saszetki

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

### BioFire FilmArray 2.0

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



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

 **UWAGA: Przy ręcznym wyborze Pouch Type (Typu saszetki) należy upewnić się, że Pouch Type (Typ saszetki) jest zgodny z etykietą saszetki BioFire RP2.1plus.**

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. W razie potrzeby wybrać protokół odpowiedni dla badanego typu próbki z listy rozwijanej Protocol (Protokół) i potwierdzić wybór. W przypadku BioFire RP2.1plus dostępny do wyboru z listy rozwijanej jest tylko jeden protokół.
6. Wprowadzić nazwę użytkownika i hasło w polach Name (Nazwa) i Password (Hasło).

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

7. 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 słyszalny dźwięk o wysokiej częstotliwości.**

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

## BioFire FilmArray Torch

1. Upewnić się, że system jest włączony.
2. Na ekranie dotykowym wybrać dostępny moduł lub zeskanować kod kreskowy na saszetce czytnikiem kodów kreskowych.
3. Informacje umożliwiające identyfikację saszetki (Lot Number (Numer partii) i Serial Number (Numer seryjny)), Pouch Type (Typ saszetki) i Protocol (Protokół) zostaną wprowadzone automatycznie po zeskanowaniu kodu kreskowego. Jeśli zeskanowanie kodu kreskowego jest niemożliwe, dane saszetki, takie jak Lot Number (Numer partii), Serial Number (Numer seryjny), Pouch Type (Typ saszetki) oraz Protocol (Protokół) można wprowadzić ręcznie, korzystając z informacji podanych na etykiecie saszetki i wprowadzając je w odpowiednie pola. W celu zredukowania liczby błędów przy wprowadzaniu danych zdecydowanie zaleca się wprowadzanie informacji dotyczących saszetki poprzez zeskanowanie kodu kreskowego.

 **UWAGA: Przy ręcznym wyborze Pouch Type (Typu saszetki) należy upewnić się, że Pouch Type (Typ saszetki) jest zgodny z etykietą saszetki BioFire RP2.1.**

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 dostępnego modułu.
  - Upewnić się, że etykieta mocowania saszetki leży płasko na górze saszetki i nie uległa zagięciu. Po włożeniu saszetki moduł chwyci ją i wciągnie do komory.
6. W razie potrzeby wybrać protokół odpowiedni dla badanego typu próbki z listy rozwijanej Protocol (Protokół) i potwierdzić wybór. W przypadku BioFire RP2.1 *plus* dostępny do wyboru z listy rozwijanej jest tylko jeden 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 moduł oraz liczba minut pozostałych do zakończenia cyklu.

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

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

# KONTROLA JAKOŚCI

## Kontrole procesowe

Każda saszetka posiada zintegrowane dwie kontrole procesowe:

### 1. Kontrola procesowa RNA

Sekwencją docelową dla oznaczenia RNA Process Control (Kontrola procesowa RNA) jest transkrypt RNA z drożdży *Schizosaccharomyces pombe*. Drożdże znajdują się w saszetce w postaci liofilizowanej. Ich uwodnienie następuje podczas wprowadzania próbki. Materiał kontrolny przechodzi wszystkie etapy procedury testu, w tym lizę, oczyszczanie kwasu nukleinowego, odwrotną transkrypcję, PCR1, rozcieńczanie, PCR2 oraz ocenę krzywej topnienia DNA. Dodatni wynik kontroli wskazuje, że wszystkie etapy przeprowadzone w saszetce BioFire RP2.1*plus* odbyły się prawidłowo.

### 2. Kontrola PCR2

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

Wyniki obu oznaczeń kontrolnych muszą być dodatnie, aby cykl został uznany za zakończony powodzeniem. Jeśli oznaczenie kontroli zakończy się niepowodzeniem, próbkę należy zbadać ponownie z wykorzystaniem nowej saszetki.

## Monitorowanie działania systemu testowego

Oprogramowanie automatycznie uznaje cykl za nieprawidłowy, jeśli temperatura topnienia ( $T_m$ ) dla którejkolwiek kontroli, RNA Process Control (Kontroli procesowej RNA) lub PCR2 Control (Kontroli PCR2) przekroczy dopuszczalny zakres: 80,3–84,3°C w przypadku RNA Process Control (Kontroli procesowej RNA) i 73,8–77,8°C w przypadku PCR2 Control (Kontroli PCR2). Jeśli jest to wymagane przez wytyczne lokalne, krajowe lub ustalone przez organizację akredytującą, 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<sup>56,57</sup>. Instrukcje dotyczące uzyskiwania wartości  $T_m$  dla oznaczeń kontroli zawiera odpowiedni podręcznik operatora BioFire FilmArray. Oznaczenie PCR2 Control (Kontrola PCR2) jest używane we kilku typach saszetek (np. RP2.1, BCID2, GI i ME), dlatego może być stosowane do monitorowania systemu, gdy w tym samym systemie FilmArray używa się wielu typów saszetek.

## Kontrole zewnętrzne

Kontroli zewnętrznych należy używać zgodnie z protokołami procedur laboratoryjnych i wymogami odpowiednich organizacji akredytujących, w przypadkach gdy ma to zastosowanie. Jako zewnętrznej kontroli ujemnej można użyć podłoża transportowego. Jako zewnętrznych kontroli dodatnich można użyć uprzednio oznaczonych próbek dodatnich lub próbek ujemnych, do których dodano ściśle określone drobnoustroje. Dostępne są komercyjnie materiały kontrolne różnych producentów; należy ich używać zgodnie z załączonymi instrukcjami i wymogami odpowiednich organizacji akredytujących, jeśli ma to zastosowanie.

# INTERPRETACJA WYNIKÓW

## Interpretacja wyników oznaczenia

Po zakończeniu reakcji PCR2 urządzenie wykonuje analizę topnienia DNA produktów reakcji PCR w wysokiej rozdzielczości i mierzy sygnał fluorescencji w poszczególnych studzienkach (dalsze informacje można znaleźć w podręczniku operatora urządzenia BioFire FilmArray System). Oprogramowanie BioFire FilmArray wykonuje wówczas kilka analiz i wyświetla ostateczny wynik oznaczenia. Poniżej opisano etapy tych analiz.

**Analiza krzywych topnienia.** Oprogramowanie BioFire FilmArray ocenia krzywą topnienia DNA dla każdej studzienki macierzy PCR2 w celu ustalenia, czy produkt reakcji PCR był obecny w danej studzienke. Jeśli profil topnienia wskazuje na obecność produktu reakcji PCR, oprogramowanie do analizy oblicza temperaturę topnienia ( $T_m$ ) krzywej i porównuje ją z oczekiwanym zakresem temperatury topnienia ( $T_m$ ) dla oznaczenia. Jeśli oprogramowanie ustali, że wartość  $T_m$  przypada w charakterystycznym dla oznaczenia zakresie, krzywa nazywana jest krzywą dodatnią. Jeśli oprogramowanie ustali, że krzywa topnienia nie przypada w odpowiednim zakresie wartości  $T_m$ , krzywa nazywana jest krzywą ujemną.

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

## Interpretacja drobnoustroju

W przypadku większości drobnoustrojów wykrywanych w teście BioFire RP2.1*plus* wynik jest zgłaszany jako Detected (Wykryto), jeśli dodatni jest wynik jednego, odpowiadającego mu oznaczenia. Na przykład raport z testu ludzki metapneumowirus Detected (Wykryto) zostanie wygenerowany, jeśli oznaczenie ludzkiego metapneumowirusa (hMPV) da wynik dodatni (co najmniej dwa z trzech powtórzeń tego oznaczenia będą miały podobne piki temperatury topnienia do wartości  $T_m$  w charakterystycznym dla oznaczenia zakresie). Wyniki testów w kierunku adenowirusów, wirusów grypy typu A, MERS-CoV i SARS-CoV-2 zależą od interpretacji wyników więcej niż jednego oznaczenia. Poniżej przedstawiono interpretację wyników testów, składających się z wielu oznaczeń.

### Adenowirus

Saszetka BioFire RP2.1*plus* zawiera pięć oznaczeń (Adeno2, Adeno3, Adeno6, Adeno7.1 i Adeno8) do wykrywania adenowirusów. Oprogramowanie BioFire FilmArray interpretuje każde z tych oznaczeń niezależnie (jak opisano powyżej) i scala wyniki w celu uzyskania ostatecznego wyniku testu dla tego wirusa. Jeśli wynik jednego z oznaczeń lub ich dowolnej kombinacji jest dodatni, zostanie wygenerowany raport z testu Adenowirus Detected (Wykryto). Jeśli wyniki wszystkich oznaczeń są ujemne, zostanie wygenerowany raport z testu Adenowirus Not Detected (Nie wykryto).

### Wirus grypy typu A

Oznaczenia testu BioFire RP2.1*plus* zostały opracowane tak, aby nie tylko wykrywać wirusa grypy typu A, ale również rozróżniać pospolite podtypy według genu hemaglutyniny. W tym celu test BioFire RP2.1*plus* zawiera dwa oznaczenia wirusa grypy typu A (FluA-pan-1 i FluA-pan-2) oraz trzy oznaczenia do rozróżniania podtypów według genu hemaglutyniny (FluA-H1-2, FluA-H1-2009 i FluA-H3). Każde z oznaczeń jest interpretowane niezależnie (jak opisano powyżej) a wynik zgłaszany dla wirusa grypy typu A zależy od scalonych wyników pięciu oznaczeń, jak ukazuje Tab. 2. Próbkę z wynikiem Equivocal (Niejednoznaczny) lub z wieloma podtypami grypy A należy oznaczyć jeszcze raz.

Tab. 2. Możliwe wyniki oznaczenia wirusa grypy typu A i ich interpretacja

Wynik	Oznaczenie	Oznaczenia FluA-pan (n=2)	FluA-H1-2	FluA-H1-2009	FluA-H3	Działania
Wirus grypy typu A Not Detected (Nie wykryto)		Negative (Ujemny)	Negative (Ujemny)	Negative (Ujemny)	Negative (Ujemny)	Brak
Wirus grypy typu A H1		≥ 1 Positive (Dodatni)	Positive (Dodatni)	Negative (Ujemny)	Negative (Ujemny)	
Wirus grypy typu A H3		≥ 1 Positive (Dodatni)	Negative (Ujemny)	Negative (Ujemny)	Positive (Dodatni)	
Wirus grypy typu A H1-2009		≥ 1 Positive (Dodatni)	Dowolny wynik	Positive (Dodatni)	Negative (Ujemny)	
Wirus grypy typu A H1 Wirus grypy typu A H3		≥ 1 Positive (Dodatni)	Dodatni	Negative (Ujemny)	Positive (Dodatni)	Zakażenia wieloma wirusami są możliwe lecz rzadkie <sup>a</sup> ; wykonać test ponownie, aby potwierdzić wynik <sup>b</sup>
Wirus grypy typu A H1-2009 Wirus grypy typu A H3		≥ 1 Positive (Dodatni)	Dowolny wynik	Positive (Dodatni)	Positive (Dodatni)	
Wirus grypy typu A (nie wykryto podtypu)		2 Positive (Dodatnie)	Negative (Ujemny)	Negative (Ujemny)	Negative (Ujemny)	Powtórzyć test (patrz poniżej)
Wirus grypy typu A Equivocal (Niejednoznaczny)		1 Positive (Dodatni)	Negative (Ujemny)	Negative (Ujemny)	Negative (Ujemny)	Powtórzyć jednokrotnie (dalsze instrukcje znajdują się w części Results Summary (Podsumowanie wyników) poniżej).
Wirus grypy typu A H1 Equivocal (Niejednoznaczny)		Negative (Ujemny)	Positive (Dodatni)	Negative (Ujemny)	Negative (Ujemny)	
Wirus grypy typu A H3 Equivocal (Niejednoznaczny)		Negative (Ujemny)	Negative (Ujemny)	Negative (Ujemny)	Positive (Dodatni)	
Wirus grypy typu A H1-2009 Equivocal (Niejednoznaczny)		Negative (Ujemny)	Dowolny wynik	Positive (Dodatni)	Negative (Ujemny)	

<sup>a</sup> Test BioFire RP2.1<sup>plus</sup> umożliwia jednoczesne wykrywanie kilku wirusów grypy zawartych w szczepionkach skojarzonych (patrz Ograniczenia).

<sup>b</sup> Powtórnie uzyskany wynik dodatni dla więcej niż jednego podtypu należy potwierdzić innym, zatwierdzonym testem do rozróżniania podtypów wirusa grypy.

## Wirus grypy typu A (nie wykryto podtypu)

Jeśli oba oznaczenia FluA-pan dają wynik dodatni, lecz żadne z oznaczeń podtypu według genu hemaglutyniny nie jest dodatnie, wynik jest interpretowany jako Wirus grypy typu A (nie wykryto podtypu). Taki wynik może wystąpić, jeśli miano wirusa w próbce jest niskie i nie zostanie on wykryty podczas rozróżniania podtypów. Taki wynik może też wskazywać na obecność nowego szczepu wirusa grypy typu A. W obu przypadkach należy poddać próbkę ponownemu testowi. Jeśli uzyska się inny wynik, należy wykonać test po raz trzeci, aby go potwierdzić. Jeśli uzyska się taki sam wynik, należy sprawdzić, czy saszетка BioFire RP2.1 działa prawidłowo, wykonując test na odpowiednim zewnętrznym materiale kontrolnym (próbki o znanym dodatnim wyniku wobec wirusa grypy typu A H1, A H3 i A H1-2009) oraz kontrolę ujemną, aby upewnić się, że nie doszło do zanieczyszczenia produktów PCR. Jeśli test BioFire RP2.1<sup>plus</sup> da prawidłowe wyniki oznaczenia kontroli zewnętrznej i ujemnej, należy skontaktować się z organami zdrowia publicznego, aby wykonać badania potwierdzające.

## MERS-CoV

Saszетка BioFire RP2.1<sup>plus</sup> zawiera dwa różne oznaczenia do wykrywania MERS-CoV. Jedno oznaczenie dotyczy genu białka otoczkowego (M) (oznaczenie MERS1), a drugie genu otoczki (E) (oznaczenie MERS2). Oprogramowanie BioFire interpretuje każde z tych oznaczeń niezależnie i scala wyniki w celu uzyskania ostatecznego wyniku testu dla tego wirusa. Wyniki obu oznaczeń muszą być dodatnie, aby został wygenerowany raport z testu Detected (Wykryto). Jeśli tylko jedno



oznaczenie ma wynik dodatni, wygenerowany zostanie wynik Equivocal (Niejednoznaczny) i próbkę należy zbadać ponownie. Jeśli wyniki obu oznaczeń są ujemne, wygenerowany zostanie raport z testu Not Detected (Nie wykryto).

## SARS-CoV-2

Saszetka BioFire RP2.1*plus* zawiera dwa różne oznaczenia do wykrywania SARS-CoV-2. Sekwencją docelową jednego oznaczenia jest gen Spike Protein (S) (oznaczenie SARSCoV2-1), a drugiego — gen Membrane Protein (M) (oznaczenie SARSCoV2-2). Oprogramowanie BioFire interpretuje każde z tych oznaczeń niezależnie i jeśli jeden lub oba dadzą wynik dodatni, z testu w kierunku koronawirusa 2 — zespołu ostrej ciężkiej niewydolności oddechowej (SARS-CoV-2) — wygenerowany zostanie raport Detected (Wykryto). Jeśli oba oznaczenia dadzą wynik ujemny, z testu w kierunku koronawirusa 2 — zespołu ostrej ciężkiej niewydolności oddechowej (SARS-CoV-2) — wygenerowany zostanie raport Not Detected (Nie wykryto).

## Raport z testu BioFire RP2.1*plus*

Raport z testu BioFire RP2.1*plus* jest automatycznie wyświetlany po zakończeniu cyklu. Można go wydrukować lub zapisać jako plik PDF. Każdy raport ma następujące części: Run Summary (Podsumowanie cyklu), Result Summary (Podsumowanie wyników) i Run Details (Szczegóły cyklu).

BioFire® Respiratory Panel 2.1 <i>plus</i>		BIO FIRE www.BioFireDx.com	
<b>Run Summary</b>			
Sample ID:	Example Report	Run Date:	08 Dec 2015 12:00 AM
Detected:	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)	Controls:	Passed
Equivocal:	• Influenza A		
<b>Result Summary</b>			
<b>Viruses</b>			
Not Detected	Adenovirus		
Not Detected	Coronavirus 229E		
Not Detected	Coronavirus HKU1		
Not Detected	Coronavirus NL63		
Not Detected	Coronavirus OC43		
Not Detected	Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV)		
✓ Detected	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)		
Not Detected	Human Metapneumovirus		
Not Detected	Human Rhinovirus/Enterovirus		
• Equivocal	Influenza A		
Not Detected	Influenza B		
Not Detected	Parainfluenza Virus 1		
Not Detected	Parainfluenza Virus 2		
Not Detected	Parainfluenza Virus 3		
Not Detected	Parainfluenza Virus 4		
Not Detected	Respiratory Syncytial Virus		
<b>Bacteria</b>			
Not Detected	<i>Bordetella parapertussis</i> (IS1001)		
Not Detected	<i>Bordetella pertussis</i> (ptxP)		
Not Detected	<i>Chlamydia pneumoniae</i>		
Not Detected	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>		
<b>Run Details</b>			
Pouch:	RP2.1 <i>plus</i> v1.0	Protocol:	NPS2 v3.2
Run Status:	Completed	Operator:	Anonymous
Serial No.:	01234567	Instrument:	FA0000
Lot No.:	012345		

## Run Summary (Podsumowanie cyklu)

Część **Run Summary (Podsumowanie cyklu)** raportu z testu zawiera Sample ID (ID próbki), datę i godzinę cyklu, wyniki uzyskane dla kontroli i ogólne podsumowanie wyników testu. Każdy drobnoustrój, dla którego uzyskano wynik Detected (Wykryto) jest wymieniony w odpowiednim polu podsumowania. Jeśli dla wszystkich oznaczeń drobnoustrójów uzyskano wynik ujemny, w polu Detected (Wykryto) wyświetlony zostanie komunikat None (Brak). W polu Controls (Kontrole) wyświetlany jest komunikat Passed (Powodzenie), Failed (Niepowodzenie) lub Invalid (Nieprawidłowy). Tab. 3 zawiera dodatkowe informacje na temat każdego z możliwych wyników w polu Controls (Kontrole).

Tab. 3. Interpretacja komunikatu w polu Controls (Kontrole) w raporcie z testu BioFire RP2.1plus

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

## Result Summary (Podsumowanie wyników)

Część **Results Summary (Podsumowanie wyników)** raportu z testu zawiera wynik dla każdego docelowego drobnoustroju przetestowanego za pomocą panelu. Możliwe wyniki dla każdego drobnoustroju to: Detected (Wykryto), Not Detected (Nie wykryto) i Invalid (Nieprawidłowy) (wynik Equivocal (Niejednoznaczny) jest również możliwy, ale tylko w przypadku wirusa grypy typu A i MERS-CoV). Tab. 4 zawiera objaśnienie poszczególnych interpretacji i działań niezbędnych do uzyskania ostatecznego wyniku.

Tab. 4. Raportowanie wyników i wymagane działania

Wynik	Objaśnienie	Działania
Detected (Wykryto) <sup>a</sup>	Cykl został zakończony z powodzeniem ORAZ Analiza obu kontroli saszetki zakończyła się powodzeniem (Passed (Powodzenie)) ORAZ Wyniki oznaczeń dla drobnoustroju były DODATNIE (tj. spełniły wymogi dla wyniku dodatniego, opisane w części Interpretacja wyników oznaczenia powyżej)	Wyniki można przekazać.
Not Detected (Nie wykryto)	Cykl został zakończony z powodzeniem ORAZ Analiza obu kontroli saszetki zakończyła się powodzeniem (Passed (Powodzenie)) ORAZ Wyniki oznaczeń dla drobnoustroju były UJEMNE (tj. nie spełniły wymogów dla wyniku dodatniego, opisanych w części Interpretacja wyników oznaczenia powyżej)	Wyniki można przekazać.

Wynik	Objaśnienie	Działania
Equivocal (Niejednoznaczny)  (tylko wirus grypy typu A i MERS-CoV)	Cykl został zakończony z powodzeniem ORAZ Analiza obu kontroli saszetki zakończyła się powodzeniem (Passed (Powodzenie)) ORAZ Połączenie dodatniego i ujemnego wyniku oznaczenia wirusa grypy typu A (patrz Tab. 2) i/lub MERS-CoV było nierozstrzygające	Ponownie oznaczyć oryginalną próbkę i uzyskać raport z wynikami. Jeśli wynikiem powtórzonego testu jest ponownie Equivocal (Niejednoznaczny), za ostateczny wynik należy uznać Detected (Wykryto).
Invalid (Nieprawidłowy)	Analiza obu kontroli saszetki zakończyła się niepowodzeniem (Failed (Niepowodzenie)). LUB Cykl nie został zakończony powodzeniem (wyświetla się następujący Run Status (Status cyklu): Aborted (Przerwany), Incomplete (Niezakończony), Instrument Error (Błąd urządzenia) lub Software Error (Błąd oprogramowania))	Instrukcje zawiera Tab. 3, Interpretacja wyników w polu Control (Kontrola) raportu z testu FilmArray.

<sup>a</sup> Jeśli w próbce wykryte zostaną cztery rodzaje drobnoustrojów lub więcej, zaleca się ponowne przeprowadzenie testu w celu potwierdzenia wyniku wskazującego na obecność wielu rodzajów drobnoustrojów.

## Run Details (Szczegóły cyklu)

Część **Run Details (Szczegóły cyklu)** zawiera dodatkowe informacje o cyklu, w tym: informacje o saszetce (typ, numer partii i numer seryjny), Run Status (Status cyklu): Completed (Zakończony), Incomplete (Niezakończony), Aborted (Przerwany), Instrument Error (Błąd urządzenia) lub Software Error (Błąd oprogramowania), protokół wykorzystany do przeprowadzenia testu, tożsamość operatora, który przeprowadził test oraz urządzenie używane do przeprowadzenia testu.

## Change Summary (Podsumowanie zmian)

Po zakończeniu cyklu można edytować Sample ID (ID próbki). W takim przypadku do raportu z testu dodana zostanie dodatkowa część — **Change Summary (Podsumowanie zmian)**. W części Change Summary (Podsumowanie zmian) znajduje się zmienione pole wraz z zapisem pierwotnym, zapisem zmienionym oraz informacją o operatorze, który wprowadził zmianę i datą jej wprowadzenia. Identyfikator Sample ID (ID próbki) to jedyne pole raportu, które można zmienić.

Change Summary				
Field	Changed To	Changed From	Operator	Date
Sample ID	New Example Id	Old Example Id	Anonymous	06 Apr 2020

## OGRANICZENIA

1. Wyłącznie do użytku profesjonalnego.
2. Skuteczność oznaczenia BioFire RP2.1*plus* określono wyłącznie dla systemów BioFire FilmArray 2.0 oraz BioFire FilmArray Torch.
3. BioFire RP2.1*plus* jest testem jakościowym i nie dostarcza informacji o ilości drobnoustrojów wykrytych w próbce.
4. Wyniki uzyskane z badania należy zestawić z wywiadem medycznym pacjenta, danymi epidemiologicznymi (np. historia podróży lub kontakt z przypuszczalnym lub potwierdzonym przypadkiem, np. MERS-CoV) i innymi danymi, dostępnymi dla pracownika służby zdrowia, który ocenia stan zdrowia pacjenta.
5. Działanie testu BioFire RP2.1*plus* oceniano wyłącznie na próbkach pochodzących od ludzi.
6. Testu BioFire RP2.1*plus* nie zatwierdzono do stosowania w oznaczaniu próbek innych niż wymaz nosowo-gardłowy (NPS) w podłożu transportowym.
7. Nie określono skuteczności testu BioFire RP2.1*plus* w oznaczaniu próbek od pacjentów bez objawów przedmiotowych i/lub podmiotowych zakażenia układu oddechowego.
8. Nie określono oddzielnie skuteczności testu BioFire RP2.1*plus* w oznaczaniu próbek NPS od pacjentów o obniżonej odporności.
9. Nie ustalono wpływu leczenia antybiotykami na skuteczność testu.
10. Nie określono skuteczności testu BioFire RP2.1*plus* w oznaczaniu próbek od pacjentów stosujących leki przeciwko grypie lub wirusom przeziębienia, które mogłyby potencjalnie zakłócać wynik. Oceniono wyłącznie wpływ substancji zakłócających podanych w części *Zakłócenia*. Zakłócenia ze strony substancji innych niż oceniane mogą również prowadzić do uzyskania błędnych wyników.
11. Nie ustalono skuteczności testu BioFire RP2.1*plus* w monitorowaniu leczenia zakażenia którymkolwiek z drobnoustrojów oznaczanych za pomocą tego panelu.
12. Nie określono skuteczności testu BioFire RP2.1*plus* w badaniach przesiewowych krwi lub produktów krwiopochodnych.
13. Fałszywe dodatnie i fałszywie ujemne wyniki mogą mieć różne przyczyny, dlatego należy koniecznie analizować te wyniki jednocześnie z innymi danymi klinicznymi, epidemiologicznymi i laboratoryjnymi.
14. Wykrycie kwasu nukleinowego bakterii lub wirusa zależy od prawidłowego pobrania, transportu, przechowywania i przygotowania próbki oraz właściwego postępowania z nią. Nieprzestrzeganie odpowiednich zaleceń dotyczących procedury na którymkolwiek z tych etapów może prowadzić do uzyskania nieprawidłowych wyników. Nieprawidłowe pobranie lub transport próbek, bądź niewłaściwe postępowanie z nimi stwarza ryzyko uzyskania wartości fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych.
15. Ujemny wynik testu BioFire RP2.1*plus* nie wyklucza możliwości istnienia zakażenia wirusowego lub bakteryjnego. Wartości fałszywie ujemne mogą wynikać z odmiennych wariantów (lub mutacji) sekwencji w regionach docelowych oznaczenia, występowania inhibitorów w próbkach, błędu technicznego, pomylenia próbki, zakażenia drobnoustrojem niewykrywanym przez test lub zakażenia dolnych dróg oddechowych, którego nie można wykryć na podstawie wymazu nosowo-gardłowego. Na wyniki testu może też wpływać prowadzone równocześnie leczenie przeciwwirusowe lub przeciwbakteryjne albo zawartość drobnoustrojów w próbce poniżej granicy wykrywalności testu. Ujemny wynik testu nie może stanowić wyłącznej podstawy do postawienia rozpoznania, wdrożenia leczenia czy podejmowania innych decyzji dotyczących postępowania terapeutycznego.
16. Jeśli w próbce wykryte zostaną cztery rodzaje drobnoustrojów lub więcej, zaleca się ponowne przeprowadzenie testu w celu potwierdzenia wyniku wskazującego na obecność wielu rodzajów drobnoustrojów.

17. Kwas nukleinowy wirusów i bakterii może się utrzymywać *in vivo* niezależnie od żywotności drobnoustroju. Wykrycie docelowych drobnoustrojów nie jest równoznaczne z tym, że stanowią one czynnik zakaźny lub powodujący objawy kliniczne.
18. Dodatnie i ujemne wartości predykcyjne w dużej mierze zależą od rozpowszechnienia. Wyniki fałszywie ujemne są bardziej prawdopodobne w przypadku aktywności szczytowej, gdy rozpowszechnienie choroby jest duże. Natomiast wyniki fałszywie dodatnie są bardziej prawdopodobne, gdy rozpowszechnienie choroby jest umiarkowane lub niskie.
19. Skuteczność w wykrywaniu wirusów grypy typu A określano, gdy wirusy grypy typu A H1-2009, A H1 i A H3 stanowiły dominujący typ wirusa grypy A w obiegu. Skuteczność w wykrywaniu wirusów grypy typu A może być niespójna, jeśli w obiegu występują inne wirusy grypy typu A lub pojawi się nowy wirus z tej grupy.
20. Ze względu na niewielką liczbę próbek dodatnich zebranych pod kątem określonych drobnoustrojów w trakcie prospektywnego badania klinicznego, skuteczność testu w kierunku *Bordetella parapertussis*, *Bordetella pertussis*, *Chlamydia pneumoniae*, koronawirusa 229E, wirusa grypy typu A H1, wirusa grypy typu A H3, wirusa grypy typu B, wirusa paragrypy 1 i wirusa paragrypy 4 ustalono, używając również próbek zebranych w ramach retrospektywnego badania klinicznego. Skuteczność wobec wirusów grypy typu A H1 i MERS-CoV określano głównie na spreparowanych próbkach klinicznych.
21. Prospektywne dane dotyczące skuteczności klinicznej uzyskano z populacji, w której nie krążył wirus MERS-CoV.
22. BioFire RP2.1*plus* umożliwia rozróżniania podtypów wirusa grypy typu A wyłącznie według genu hemaglutyniny (H). BioFire RP2.1*plus* nie umożliwia rozróżniania podtypów wirusa grypy typu A według genu neuraminidazy (N).
23. BioFire RP2.1*plus* może nie umożliwiać rozróżniania między aktualnymi szczepami wirusa a nowo powstającymi wariantami. Na przykład BioFire RP2.1*plus* pozwala wykryć wirusa grypy typu A H3N2v (wyodrębnionego w sierpniu 2011 roku), lecz nie umożliwia rozróżnienia tego wariantu od sezonowego wirusa grypy typu A H3N2. Jeśli lekarz podejrzewa zakażenie alternatywnym wariantem wirusa, powinien skontaktować się z krajowymi lub lokalnymi władzami odpowiedzialnymi za ochronę zdrowia, umówić się na przesłanie próbki i zwrócić się o pilne rozpoznanie w krajowym laboratorium ds. zdrowia publicznego.
24. Podanie szczepionki donosowej na grypę (np. FluMist) w krótkim odstępie czasu przed pobraniem próbki NPS może spowodować, że test BioFire RP2.1*plus* wykryje wirusa zawartego w szczepionce, który jednak nie stanowi czynnika etiologicznego zakażenia.
25. Z powodu podobieństwa genetycznego między ludzkim rinowirusem i enterowirusem test BioFire RP2.1*plus* nie umożliwia ich wiarygodnego rozróżnienia. Po uzyskaniu w teście BioFire RP2.1*plus* wyniku Detected (Wykryto) wobec rinowirusa/enterowirusa należy zastosować alternatywną metodę (np. hodowlę komórek lub analizę sekwencji), jeśli wymagane jest rozróżnienie między tymi wirusami.
26. BioFire RP2.1*plus* wykrywa pojedynczą kopię sekwencji docelowej promotora genu toksyny krztuścowej (*ptxP*, po jednej kopii na komórkę) w *B. pertussis*. Inne testy PCR w kierunku *B. pertussis* są skierowane wobec sekwencji insercyjnej IS481, występującej w wielu kopiach (zarówno w *B. pertussis*, jak i *B. holmesii*), przez co umożliwiają wykrywanie niższego miana *B. pertussis* (są bardziej czułe).
  - Nie należy stosować testu BioFire RP2.1*plus*, jeśli podejrzewa się zakażenie *B. pertussis*. Należy zamiast tego wykonać test molekularny zatwierdzony do stosowania u pacjentów, u których podejrzewa się zakażenie dróg oddechowych wywołane *B. pertussis*.
  - Z powodu mniejszej czułości oznaczenie BioFire RP2.1*plus* *B. pertussis* jest mniej wrażliwe od testów w kierunku IS481 na wykrywanie materiału szczepionki wobec *B. pertussis*, stanowiącego zanieczyszczenie. Należy jednak zawsze zachowywać ostrożność i unikać zanieczyszczenia próbek materiałem szczepionki, ponieważ bardziej znaczące zanieczyszczenie może prowadzić do fałszywie dodatnich wyników również w teście BioFire RP2.1*plus* (patrz wytyczne zapobiegania zanieczyszczeniom).



- Sekwencja IS481 występuje też w *B. holmesii* i w mniejszym stopniu w *B. bronchiseptica*, a oznaczenie BioFire RP2.1*plus* (*ptxP*) zostało opracowane tak, aby wykrywać specyficznie *B. pertussis*. W oznaczeniu BioFire RP2.1*plus* *Bordetella pertussis* (*ptxP*) może jednak nastąpić namnażanie sekwencji pseudogenu toksyny krztuścowej, jeśli występuje w *B. bronchiseptica* lub *B. parapertussis*. Reaktywność krzyżową obserwowano tylko przy dużych mianach mikroorganizmów (np.  $\geq 1,2E+09$  CFU/ml).
27. Zakażenie krzyżowe drobnoustrojami, ich kwasami nukleinowymi, produktami ich namnażania lub materiałem szczepionek stwarza ryzyko uzyskania wartości fałszywie dodatnich. Należy zwracać szczególną uwagę na przestrzeganie *Środki ostrożności dotyczące laboratorium* zawartych w punkcie *Ostrzeżenia i środki ostrożności*.
  28. Niespecyficzne namnażanie i reakcje krzyżowe z drobnoustrojami dróg oddechowych również stwarzają ryzyko uzyskania wartości fałszywie dodatnich. Obserwowaną i przewidywaną reaktywność krzyżową testu BioFire RP2.1*plus* opisano w punkcie *Specyficzność analityczna (reaktywność krzyżowa)*. Możliwe jest też uzyskanie błędnych wyników z powodu reakcji krzyżowych z drobnoustrojami, które nie były oceniane lub nowo powstałych wariantów.
  29. Sekwencje starterów do obu oznaczeń BioFire RP2.1*plus* w kierunku SARS-CoV-2 są w znaczącym stopniu homologiczne z koronawirusem nietoperza RaTG13 (nr sekwencji: MN996532), dlatego przewiduje się reaktywność krzyżową z tą blisko spokrewnioną sekwencją wirusową. Ponadto test SARSCoV2-2 może wchodzić w reakcję krzyżową z koronawirusem łuskowca (nr sekwencji: MT084071) oraz dwiema innymi sekwencjami koronawirusa nietoperzy przypominającego SARS (nr sekwencji: MG772933 i MG772934). Jest mało prawdopodobne, aby wirusy te zostały wykryte w klinicznym wymazie z nosowo-gardłowym człowieka; ale jeśli są obecne, produkty reakcji krzyżowej w oznaczeniu BioFire RP2.1*plus* zostaną zgłoszone jako koronawirus 2 zespołu ostrej ciężkiej niewydolności oddechowej (SARS-CoV-2) (patrz punkt *Specyficzność analityczna (reaktywność krzyżowa)*).
  30. Niektóre szczepy *B. bronchiseptica* (rzadko izolowane od ludzi) zawierają identyczne sekwencje insercyjne IS 1001 co większość szczepów *B. parapertussis*. Te sekwencje ulegną namnożeniu w oznaczeniu IS1001 i zostaną zgłoszone w teście BioFire RP2.1*plus* jako *Bordetella parapertussis* (IS 1001).
  31. W oznaczeniu BioFire RP2.1*plus* w kierunku ludzkiego rinowirusa/enterowirusa może dojść do namnożenia sekwencji niedocelowych, występujących w szczepach *B. pertussis*, *B. bronchiseptica* i *B. parapertussis*. Reaktywność krzyżową z *B. pertussis* zaobserwowano w stężeniach  $\geq 4,5E+07$  CFU/ml.

## BIOFIRE RP2.1PLUS I BIOFIRE RP2PLUS

BioFire RP2.1plus (nr ref.: 423740) został opracowany poprzez dodanie odczynników potrzebnych do wykrywania celów SARS-CoV-2 do panelu BioFire FilmArray Respiratory Panel 2 plus (RP2plus) (nr ref.: RFIT-ASY-0136, RFIT-ASY-0137). Oznaczenia wszystkich analitów wspólnych dla obu paneli oraz warunki reakcji testu BioFire RP2plus pozostały niezmienione. Przeprowadzono badania mające na celu wykazanie skuteczności nowych testów SARS-CoV-2 oraz wykazanie, że modyfikacja panelu nie ma wpływu na charakterystykę działania testu BioFire RP2plus. Wyniki wcześniejszych badań działania testu BioFire RP2plus mają zastosowanie również do testu BioFire RP2.1plus.

## WARTOŚCI OCZEKIWANE

W prospektywnym badaniu klinicznym, mającym na celu ocenę wcześniejszego testu BioFire RP2plus, pobrano 1612 kwalifikujących się próbek (NPS), w tym 918 prospektywnych próbek świeżych (kategoria I) i 694 prospektywne próbki archiwalne/zamrożone (kategoria II). Probki te przetestowano w trzech ośrodkach na terenie Stanów Zjednoczonych w okresie około sześciu miesięcy (styczeń–marzec i wrzesień–listopad 2016). Tab. 5 i Tab. 6 przedstawiają wartości oczekiwane (określone w teście BioFire RP2plus) odpowiednio dla próbek kategorii I i II, uporządkowane według ośrodków, w których pobrano próbki.



**UWAGA:** Wartości oczekiwane dla SARS-CoV-2 nie zostały określone.

Tab. 5. Podsumowanie wartości oczekiwanych (ustalonych w teście BioFire RP2plus) według ośrodka pobrania próbki (prospektywne próbki świeże, kategoria I) na potrzeby prospektywnej oceny klinicznej testu BioFire RP2plus (wrzesień–listopad 2016)

	Razem (n=918)		Ośrodek 1 (n=331) Salt Lake City, UT, USA		Ośrodek 2 (n=284) Chicago, IL, USA		Ośrodek 3 (n=303) Columbus, OH, USA	
	Liczba	Wartości oczekiwane (%)	Liczba	Wartości oczekiwane (%)	Liczba	Wartości oczekiwane (%)	Liczba	Wartości oczekiwane (%)
<b>Wirusy</b>								
Adenowirus	66	7,2%	25	7,6%	7	2,5%	34	11,2%
Koronawirus 229E	9	1,0%	4	1,2%	5	1,8%	0	0%
Koronawirus HKU1	1	0,1%	0	0%	1	0,4%	0	0%
Koronawirus NL63	1	0,1%	0	0%	0	0%	1	0,3%
Koronawirus OC43	12	1,3%	4	1,2%	1	0,4%	7	2,3%
hMPV	5	0,5%	2	0,6%	2	0,7%	1	0,3%
HRV/EV	378	41,2%	146	44,1%	69	24,3%	163	53,8%
Wirus grypy typu A	3	0,3%	2	0,6%	0	0%	1	0,3%
Wirus grypy typu A H1	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
Wirus grypy typu A 2009-H1	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
Wirus grypy typu A H3	3	0,3%	2	0,6%	0	0%	1	0,3%
Wirus grypy typu B	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
Koronawirus bliskowschodniego zespołu niewydolności oddechowej (MERS-CoV)	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
Wirus paragrypy 1	5	0,5%	3	0,9%	2	0,7%	0	0%
Wirus paragrypy 2	54	5,9%	8	2,4%	13	4,6%	33	10,9%
Wirus paragrypy 3	49	5,3%	20	6,0%	13	4,6%	16	5,3%
Wirus paragrypy 4	8	0,9%	3	0,9%	1	0,4%	4	1,3%
RSV	50	5,4%	9	2,7%	5	1,8%	36	11,9%
<b>Bakterie</b>								
Bordetella parapertussis (IS1001)	4	0,4%	0	0%	0	0%	4	1,3%
Bordetella pertussis (ptxP)	3	0,3%	1	0,3%	0	0%	2	0,7%
Chlamydia pneumoniae	3	0,3%	1	0,3%	0	0%	2	0,7%
Mycoplasma pneumoniae	21	2,3%	2	0,6%	7	2,5%	12	4,0%

Tab. 6. Podsumowanie wartości oczekiwanych (ustalonych w teście BioFire RP2plus) według ośrodka pobrania próbki (prospektywne próbki archiwalne, kategoria II) na potrzeby prospektywnej oceny klinicznej testu BioFire RP2plus (styczeń–marzec 2016)

	Razem (n=694)		Ośrodek 1 (n=250) Salt Lake City, UT, USA		Ośrodek 2 (n=243) Chicago, IL, USA		Ośrodek 3 (n=201) Columbus, OH, USA	
	Liczba	Wartości oczekiwane (%)	Liczba	Wartości oczekiwane (%)	Liczba	Wartości oczekiwane (%)	Liczba	Wartości oczekiwane (%)
<b>Wirusy</b>								
Adenowirus	52	7,5%	18	7,2%	20	8,2%	14	7,0%
Koronawirus 229E	7	1,0%	2	0,8%	3	1,2%	2	1,0%
Koronawirus HKU1	54	7,8%	28	11,2%	16	6,6%	10	5,0%
Koronawirus NL63	49	7,1%	24	9,6%	17	7,0%	8	4,0%
Koronawirus OC43	26	3,7%	8	3,2%	10	4,1%	8	4,0%
hMPV	76	11,0%	26	10,4%	25	10,3%	25	12,4%
HRV/EV	124	17,9%	43	17,2%	44	18,1%	37	18,4%
Wirus grypy typu A	75	10,8%	9	3,6%	27	11,1%	38	18,9%
Wirus grypy typu A H1	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
Wirus grypy typu A 2009-H1	74	10,7%	9	3,6%	27	11,1%	38	18,9%
Wirus grypy typu A H3	1	0,1%	0	0%	0	0%	1	0,5%
Wirus grypy typu B	16	2,3%	3	1,2%	7	2,9%	6	3,0%
Koronawirus bliskowschodniego zespołu niewydolności oddechowej (MERS-CoV)	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
Wirus paragrypy 1	5	0,7%	2	0,8%	2	0,8%	1	0,5%
Wirus paragrypy 2	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
Wirus paragrypy 3	4	0,6%	2	0,8%	0	0%	2	1,0%
Wirus paragrypy 4	8	1,2%	4	1,6%	2	0,8%	2	1,0%
RSV	149	21,5%	59	23,6%	51	21,0%	39	19,4%
<b>Bakterie</b>								
<i>Bordetella parapertussis</i> (IS1001)	2	0,3%	1	0,4%	1	0,4%	0	0%
<i>Bordetella pertussis</i> (ptxP)	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	3	0,4%	0	0%	2	0,8%	1	0,5%
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	7	1,0%	3	1,2%	4	1,6%	0	0%

Tab. 7 przedstawia wartości oczekiwane (ustalone w teście BioFire RP2plus) według grup wiekowych (prospektywne próbki z kategorii I i II łącznie) na potrzeby prospektywnej oceny klinicznej testu BioFire RP2plus (styczeń–marzec i wrzesień–listopad 2016).

Tab. 7. Podsumowanie wartości oczekiwanych (ustalonych w teście BioFire RP2plus) według grup wiekowych (prospektywne próbki z kategorii I i II łącznie) na potrzeby prospektywnej oceny klinicznej testu BioFire RP2plus (styczeń–marzec i wrzesień–listopad 2016)

	Razem (N=1612)		≤ 5 lat (N=885)		6–21 lat (N=331)		22–49 lat (N=128)		50+ lat (N=268)	
Wirusy										
Adenowirus	118	7,3%	96	10,8%	18	5,4%	2	1,6%	2	0,7%
Koronawirus 229E	16	1,0%	3	0,3%	7	2,1%	1	0,8%	5	1,9%
Koronawirus HKU1	55	3,4%	37	4,2%	9	2,7%	2	1,6%	7	2,6%
Koronawirus NL63	50	3,1%	41	4,6%	6	1,8%	2	1,6%	1	0,4%
Koronawirus OC43	38	2,4%	28	3,2%	7	2,1%	0	0%	3	1,1%
hMPV	81	5,0%	60	6,8%	12	3,6%	3	2,3%	6	2,2%
HRV/EV	502	31,1%	379	42,8%	88	26,6%	16	12,5%	19	7,1%
Wirus grypy typu A	78	4,8%	29	3,3%	20	6,0%	13	10,2%	16	6,0%
Wirus grypy typu A H1	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
Wirus grypy typu A 2009-H1	74	4,6%	26	2,9%	19	5,7%	13	10,2%	16	6,0%
Wirus grypy typu A H3	4	0,2%	3	0,3%	1	0,3%	0	0%	0	0%
Wirus grypy typu B	16	1,0%	7	0,8%	7	2,1%	1	0,8%	1	0,4%

	Razem (N=1612)		≤ 5 lat (N=885)		6–21 lat (N=331)		22–49 lat (N=128)		50+ lat (N=268)	
<b>Koronawirus bliskowschodniego zespolu niewydolnosci oddechowej (MERS-CoV)</b>	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
<b>Wirus paragrypy 1</b>	10	0,6%	9	1,0%	0	0%	1	0,8%	0	0%
<b>Wirus paragrypy 2</b>	54	3,3%	39	4,4%	10	3,0%	1	0,8%	4	1,5%
<b>Wirus paragrypy 3</b>	53	3,3%	44	5,0%	6	1,8%	2	1,6%	1	0,4%
<b>Wirus paragrypy 4</b>	16	1,0%	13	1,5%	1	0,3%	0	0%	2	0,7%
<b>RSV</b>	199	12,3%	168	19,0%	10	3,0%	8	6,3%	13	4,9%
<b>Bakterie</b>										
<b><i>Bordetella parapertussis</i> (IS1001)</b>	6	0,4%	4	0,5%	2	0,6%	0	0%	0	0%
<b><i>Bordetella pertussis</i> (ptxP)</b>	3	0,2%	0	0%	3	0,9%	0	0%	0	0%
<b><i>Chlamydia pneumoniae</i></b>	6	0,4%	1	0,1%	4	1,2%	1	0,8%	0	0%
<b><i>Mycoplasma pneumoniae</i></b>	28	1,7%	10	1,1%	14	4,2%	3	2,3%	1	0,4%

Ponadto Tab. 8 przedstawia drobnoustroje czesto wspolwystepujace (jak ustalono w tescie BioFire RP2plus) podczas prospektywnej oceny klinicznej testu BioFire RP2plus (prospektywne probki z kategorii I i II laczenie) (styczen-marzec i wrzesien-listopad 2016) wedlug grup wiekowych. Laczenie za pomoca testu BioFire RP2plus wykryto co najmniej jeden drobnoustroj w 1020 oznaczanych probkach (odsetek wynikow dodatnich 63,3%; 1020/1612). Wykryto za pomoca testu BioFire RP2plus co najmniej dwa drobnoustroje w 24,0% probek dodatnich (245/1020; 15,2% wszystkich probek badanych, 245/1612).

Tab. 8. Podsumowanie wartosci oczekiwanych (drobnoustroje wspolistniajace z ≥ 5 pojawieniami na podstawie testu BioFire RP2plus) wedlug grup wiekowych na potrzeby prospektywnej oceny klinicznej (styczen-marzec oraz wrzesien-listopad 2016)

Drobnoustroje wspolistniajace	Razem (N=1612)	≤ 5 lat (N=885)	6–21 lat (N=331)	22–49 lat (N=128)	50+ lat (N=268)
Adenowirus + HRV/EV	30 (1,9%)	27 (3,1%)	3 (0,9%)	0 (0%)	0 (0%)
HRV/EV + RSV	22 (1,4%)	22 (2,5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Koronawirus HKU1 + RSV	13 (0,8%)	12 (1,4%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0,4%)
Koronawirus NL63 + RSV	13 (0,8%)	12 (1,4%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0,4%)
HRV/EV + PIV2	11 (0,7%)	9 (1,0%)	1 (0,3%)	0 (0%)	1 (0,4%)
HRV/EV + PIV3	11 (0,7%)	10 (1,1%)	1 (0,3%)	0 (0%)	0 (0%)
Adenowirus + RSV	10 (0,6%)	8 (0,9%)	2 (0,6%)	0 (0%)	0 (0%)
Adenowirus + HRV/EV + RSV	9 (0,6%)	9 (1,0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Koronawirus NL63 + HRV/EV	8 (0,5%)	7 (0,8%)	1 (0,3%)	0 (0%)	0 (0%)
Koronawirus HKU1 + HRV/EV	5 (0,3%)	3 (0,3%)	2 (0,6%)	0 (0%)	0 (0%)
Koronawirus OC43 + HRV/EV	5 (0,3%)	5 (0,6%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
hMPV + HRV/EV	5 (0,3%)	5 (0,6%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

# CHARAKTERYSTYKA SKUTECZNOŚCI

## Skuteczność kliniczna oznaczenia BioFire RP2.1plus SARS-CoV-2 i porównanie z oznaczeniem BioFire RP2plus

Przeprowadzono badanie kliniczne w trzech grupach w celu oceny skuteczności nowych oznaczeń BioFire RP2.1plus w kierunku SARS-CoV-2 oraz wykazania równoważnej skuteczności wszystkich innych oznaczeń z wcześniejszą wersją oznaczenia BioFire RP2plus w testowaniu próbek klinicznych.

W pierwszej grupie oznaczono 50 naturalnych, retrospektywnych (archiwalnych) próbek NPS, które wcześniej uzyskały dodatni wynik różnych testów EUA w kierunku SARS-CoV-2. próbki pobrane z trzech laboratoriów z różnych regionów USA (Tab. 9) zostały pozyskane w marcu i kwietniu 2020 roku.

Tab. 9. Archiwalne źródła i metody identyfikacji

Ośrodek	Lokalizacja	Oznaczone próbki dodatnie	Metoda identyfikacji próbki
Ośrodek 1	Salt Lake City, Utah	15	Panther Fusion® SARS-CoV-2 (Hologic, Inc.; EUA)
Ośrodek 2	Seattle, Waszyngton	15	Test opracowany przez laboratorium (LDT) w oparciu o testy CDC N1 i N2 EUA (stan Waszyngton, EUA)
Ośrodek 3	Omaha, Nebraska	20	cobas® SARS-CoV-2 (Roche Molecular Systems; EUA)

Próbki dodatnie zostały poddane randomizacji i oznaczone wraz z 50 próbkami NPS pobranymi przed grudniem 2019 r., a więc oczekiwano, że będą ujemne w kierunku SARS-CoV-2. Procentową zgodność wyników dodatnich (PPA) określono poprzez porównanie obserwowanego wyniku testu z oczekiwanym wynikiem testu w oparciu o wcześniejsze badania laboratoryjne, a procentową zgodność wyników ujemnych (NPA) określono poprzez porównanie obserwowanego wyniku oznaczenia próbek ujemnych wobec SARS-CoV-2 z oczekiwanym wynikiem Not Detected (Nie wykryto). W trakcie badań dwie próbki (jedna dodatnia i jedna ujemna) zostały wykluczone z powodu błędów urządzenia. Wyniki dla pozostałych 98 próbek przedstawia Tab. 10. PPA zarchiwizowanych próbek SARS-CoV-2 wynosiła 98% (48/49), a NPA: 100%.

Tab. 10. Podsumowanie NPS oznaczenia zarchiwizowanych próbek SARS-CoV-2 testem BioFire RP2.1plus

Zgodność ze znanym składem analitu						
Metoda porównawcza	PPA: TP / (TP + FN)	%	95% CI	NPA: TN / (TN + FP)	%	95% CI
Panther Fusion® SARS-CoV-2 (Hologic, Inc.)	14/15 <sup>1</sup>	93,3	[70,2–98,8%]	Nd.	Nd.	Nd.
LDT w oparciu o testy CDC N1 i N2 EUA	15/15	100	[79,6–100%]	Nd.	Nd.	Nd.
cobas® SARS-CoV-2 (Roche Molecular Systems)	20/20	100	[83,9–100%]	Nd.	Nd.	Nd.
Próbki ujemne	Nd.	Nd.	Nd.	49/49	100	[92,7–100%]
<b>Zgodność ogólna</b>	<b>48/49<sup>1</sup></b>	<b>98</b>	<b>[89,3–99,6%]</b>	<b>49/49</b>	<b>100</b>	<b>[92,7–100%]</b>

<sup>1</sup> Jedna próbka FN po ponownym badaniu dała wynik dodatni

Godny uwagi jest fakt, że spośród 48 próbek, w których wykryto SARS-CoV-2, 10,4% (5/48) zawierało inne anality identyfikowane przez BioFire RP2.1plus (Tab. 11).

Tab. 11. Dodatkowe anality zidentyfikowane przez BioFire RP2.1plus w 48 próbkach z wykrytym SARS-CoV-2

Dodatkowe anality	Liczba obserwowanych (%)
Adenowirus	1 (2,1%)
HRV/EV	4 (8,3%)



Badania archiwalnych próbek klinicznych uzupełniono badaniem 50 próbek klinicznych z dodatkiem inaktywowanego izolatu SARS-CoV-2 USA-WA1/2020 w różnych wielokrotnościach LoD (25 próbek 2x LoD, 15 próbek 3x LoD i 10 próbek 5x LoD) i randomizowanych 10 próbek bez dodatku wirusa. Każda próbka była odrębnym, naturalnym wymazem NPS, pobranym przed grudniem 2019 r., a więc oczekiwano, że będzie ujemna w kierunku SARS-CoV-2. PPA określono poprzez porównanie obserwowanych wyników oznaczeń próbek klinicznych z dodatkiem wirusa z oczekiwanymi wynikami Detected (Wykryto). Wartości PPA i NPA pokazuje Tab. 12. Zarówno PPA, jak i NPA spreparowanych próbek wirusa SARS-CoV-2 wynosiła 100%.

Tab. 12. Oznaczenia spreparowanych próbek wirusa SARS-CoV-2 z użyciem testu BioFireRP2.1plus

	Zgodność ze znanym składem analitu			
	PPA: TP / (TP + FN)	%	NPA: TN / (TN + FP)	%
Zgodność ogólna	50/50	100%	10/10	100%
95% CI	[92,9–100%]		[72,2–100%]	

W ostatniej grupie przeprowadzono kliniczne badanie porównujące BioFire RP2plus ze zmodyfikowanym BioFire RP2.1plus na podstawie 220 naturalnych, retrospektywnych (archiwalnych) próbek klinicznych. Archiwalne próbki wybierano wyłącznie na podstawie zawartości analitu. Jeśli znany był poziom analitu, nie uwzględniano go w doborze próbek. Próbki były dzielone, aby każdy test wykonać jednocześnie w dwóch powtórzeniach. To porównanie zarchiwizowanych próbek wykazuje równoważność testów BioFire RP2plus i BioFire RP2.1plus dla tego samego analitu z 97,6% PPA i 99,8% NPA ogółem (Tab. 13).

Tab. 13. Porównanie działania zmodyfikowanego systemu BioFire RP2.1plus z wcześniejszym systemem BioFire RP2plus na podstawie zarchiwizowanych próbek

Analit	RP2.1+ RP2+	RP2.1- RP2+	PPA	RP2.1- RP2-	RP2.1+ RP2-	NPA
Wirusy						
Adenowirus	14	1	93,3%	203	2	99%
Koronawirus 229E	10	1	90,9%	209	0	100%
Koronawirus HKU1	10	0	100%	208	2	99%
Koronawirus NL63	10	0	100%	210	0	100%
Koronawirus OC43	10	0	100%	210	0	100%
Ludzki metapneumowirus	12	0	100%	208	0	100%
Ludzki rinowirus/enterowirus	19	3	86,4%	195	3	98,5%
Wirus grypy typu A	30	0	100%	180	0	100%
Wirus grypy typu A H1	5	0	100%	215	0	100%
Wirus grypy typu A H1-2009	12	0	100%	208	0	100%
Wirus grypy typu A H3	13	0	100%	207	0	100%
Wirus grypy typu B	10	0	100%	210	0	100%
Koronawirus bliskowschodniego zespołu niewydolności oddechowej (MERS-CoV) <sup>a</sup>	10	0	100%	210	0	100%
Wirus paragrypy 1	9	0	100%	211	0	100%
Wirus paragrypy 2	11	0	100%	209	0	100%
Wirus paragrypy 3	10	1	90,9%	208	1	99,5%
Wirus paragrypy 4	11	0	100%	209	0	100%
Syncytialny wirus oddechowy	10	0	100%	210	0	100%

Analit	RP2.1+ RP2+	RP2.1- RP2+	PPA	RP2.1- RP2-	RP2.1+ RP2-	NPA
Bakterie						
<i>Bordetella parapertussis</i> (IS1001)	10	0	100%	210	0	100%
<i>Bordetella pertussis</i> (ptxP)	10	0	100%	210	0	100%
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	10	0	100%	210	0	100%
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	10	0	100%	210	0	100%
<b>Razem</b>	<b>246</b>	<b>6</b>	<b>97,6%</b>	<b>4350</b>	<b>8</b>	<b>99,8%</b>

<sup>a</sup> MERS-CoV zostal oznaczony w probkach z dodatkiem inaktywowanego wirusa.

Wszystkie 220 probek porownywanych w badaniu klinicznym pobrano przed grudniem 2019 r. i wykorzystano do okreslenia specyficznosci wzgledem SARS-CoV-2. Dane te podsumowuje Tab. 13 wraz z wartosciami specyficznosci z innych badan. Ogolna NPA (specyficznosć) we wszystkich trzech badaniach pojedynczych, naturalnych probek klinicznych wynosila 279/279 (100%; Tab. 14).

Tab. 14. Ogolna specyficznosć (NPA) testu BioFire RP2.1plus w kierunku SARS-CoV-2

	NPA: TN / (TN + FP)	%	95% CI
Próbki archiwalne	49/49	100%	[92,7–100%]
Próbki spreparowane	10/10	100%	[72,2–100%]
Próbki porownawcze	220/220	100%	[98,3–100%]
<b>Razem</b>	<b>279/279</b>	<b>100%</b>	<b>[98,6–100%]</b>

## Kliniczna skutecznosc testu BioFire RP2plus (oznaczenia zachowane w BioFire RP2.1plus)

### Perspektywiczna ocena kliniczna testu BioFire RP2

Skuteczność kliniczną wcześniejszego testu BioFire RP2plus określono podczas wieloośrodkowego badania przeprowadzonego w trzech ośrodkach badawczych na terenie Stanów Zjednoczonych, położonych w odległych od siebie miejscach, w sezonach 2015–2016 i 2016–2017 chorób układu oddechowego. Na potrzeby prospektywnego badania klinicznego pozyskano łącznie 1635 próbek rezydualnych NPS w wirusowym podłożu transportowym (VTM). Między styczniem i marcem 2016 roku pobrano prospektywnie próbki od wszystkich uczestników spełniających kryteria badania i natychmiast zamrożono (N=695 próbek) do późniejszego oznaczenia jako prospektywne próbki archiwalne/zamrożone (kategoria II). Między wrześniem i listopadem 2016 roku pobrano prospektywnie próbki od wszystkich uczestników spełniających kryteria badania i oznaczono świeże (N=940 próbek) jako prospektywne próbki świeże (kategoria I). Próbki kategorii II przekazywano do ośrodków badawczych od września 2016. W tym samym czasie ośrodki rozpoczęły też oznaczanie próbek kategorii I. W każdym z ośrodków próbki kategorii II zostały rozmrożone i oznaczone zgodnie z procedurą badania w ciągu pozostałego czasu trwania badania w danym ośrodku klinicznym. Łącznie 23 prospektywne próbki (kategorii I i II) zostały wyłączone z końcowej analizy danych skuteczności z powodu niezgodności z protokołem badania. Najczęstszą przyczyną wykluczenia próbek było nieprzeprowadzenie ważnej kontroli zewnętrznej w dniu oznaczenia, wykonanie oznaczenia po upływie 3 dni przechowywania w lodówce lub uznanie, że próbki nie spełniają kryteriów kwalifikacyjnych po włączeniu do badania. Ostateczny zestaw danych obejmował 1612 próbek prospektywnych. Tab. 15 przedstawia podsumowanie danych demograficznych dotyczących 1612 próbek uwzględnionych w badaniu prospektywnym.

Tab. 15. Podsumowanie danych demograficznych na potrzeby prospektywnej oceny klinicznej testu BioFire RP2plus

		Razem	Ośrodek 1	Ośrodek 2	Ośrodek 3
Płeć	Męska	867 (54%)	331 (57%)	271 (51%)	265 (53%)
	Żeńska	745 (46%)	250 (43%)	256 (49%)	239 (47%)
Wiek	≤ 5 lat	885 (55%)	379 (65%)	170 (32%)	336 (67%)
	6–21 lat	331 (21%)	132 (23%)	89 (17%)	110 (22%)
	22–49 lat	128 (8%)	27 (5%)	79 (15%)	22 (4%)
	50+ lat	268 (17%)	43 (7%)	189 (36%)	36 (7%)
Status	Pacjenci ambulatoryjni	329 (20%)	77 (13%)	66 (13%)	186 (37%)
	Pacjenci hospitalizowani	640 (40%)	229 (39%)	197 (37%)	214 (42%)
	Pacjenci oddziału ratunkowego	643 (40%)	275 (47%)	264 (50%)	104 (21%)
Łącznie		1612	581	527	504

Działanie testu BioFire RP2plus oceniano poprzez porównanie wyników testu BioFire RP2plus z wynikami zatwierdzonego przez FDA złożonego panelu patogenów układu oddechowego (główna metoda porównawcza) oraz wynikami dwóch zatwierdzonych analitycznie oznaczeń PCR i dwukierunkowego sekwencjonowania *B. paraptussis* (ten analiz nie był wykrywany w zatwierdzonym przez FDA złożonym panelu patogenów układu oddechowego). Oznaczenie porównawcze dla *B. paraptussis* zostało opracowane tak, aby namnażać inną sekwencję niż BioFire RP2. Jako dodatnią uznawano każdą próbkę, dla której wyniki dwukierunkowego sekwencjonowania spełniały określone wcześniej jakościowe kryteria akceptacji dopasowania do specyficznej dla drobnoustroju sekwencji w bazie danych NCBI GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) przy akceptowalnych wartościach E. Każda próbka, której wynik był ujemny w obu oznaczeniach porównawczych była uznawana za ujemną.

Procentową zgodność wyników dodatnich (PPA), obliczono ze wzoru  $100\% \times (TP / (TP + FN))$ . Wyniki prawdziwie dodatnie (TP) wskazują, że zarówno w teście BioFire RP2plus, jak i metodzie referencyjnej/porównawczej uzyskano wynik dodatni dla określonego analitu, natomiast wyniki fałszywie ujemne (FN) wskazują, że wynik testu BioFire RP2plus był ujemny, natomiast wynik uzyskany metodą porównawczą był dodatni. Procentową zgodność wyników ujemnych (NPA) obliczono ze wzoru  $100\% \times (TN / (TN + FP))$ . Wyniki prawdziwie ujemne (TN) wskazują, że zarówno w teście BioFire RP2plus, jak i metodzie referencyjnej/porównawczej uzyskano wynik ujemny, natomiast wyniki fałszywie dodatnie (FP) wskazują, że wynik testu BioFire RP2plus był dodatni, natomiast wynik uzyskany za pomocą metody porównawczej był ujemny. Obliczono dokładny dwumianowy dwustronny przedział ufności 95%. Próbki o wynikach fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych (tj. niezgodnych) uzyskanych podczas porównania testu BioFire RP2plus z metodą porównawczą zostały poddane dalszym badaniom. Badania rozbieżności prowadzono głównie poprzez wykonywanie oznaczeń niezależnymi metodami molekularnymi z użyciem starterów innych niż te stosowane w teście BioFire RP2plus i metodzie porównawczej. Perspektywiczne wyniki badań klinicznych podsumowuje Tab. 16.

Tab. 16. Podsumowanie prospektywnego badania skuteczności klinicznej testu BioFire RP2plus

Analit		Procentowa zgodność wyników dodatnich			Procentowa zgodność wyników ujemnych		
		TP / (TP + FN)	%	95%CI (przedział ufności)	TN / (TN + FP)	%	95%CI (przedział ufności)
Wirusy							
Adenowirus <sup>a</sup>	Świeże	36/38	94,7	82,7–98,5	850/880	96,6	95,2–97,6
	Zamrożone	34/36	94,4	81,9–98,5	640/658	97,3	95,7–98,3
	Razem	70/74	94,6	86,9–97,9	1490/1538	96,9	95,9–97,6

Analit		Procentowa zgodnosć wynikow dodatnich			Procentowa zgodnosć wynikow ujemnych		
		TP / (TP + FN)	%	95%CI (przedzial ufnosci)	TN / (TN + FP)	%	95%CI (przedzial ufnosci)
Koronawirus 229E <sup>b</sup>	Swieze	5/5	100	56,6–100	909/913	99,6	98,9–99,8
	Zamrozone	6/7	85,7	48,7–97,4	686/687	99,9	99,2–100
	<b>Razem</b>	<b>11/12</b>	<b>91,7</b>	<b>64,6–98,5</b>	<b>1595/1600</b>	<b>99,7</b>	<b>99,3–99,9</b>
Koronawirus HKU1 <sup>c</sup>	Swieze	1/1	100	—	917/917	100	99,6–100
	Zamrozone	42/42	100	91,6–100	640/652	98,2	96,8–98,9
	<b>Razem</b>	<b>43/43</b>	<b>100</b>	<b>91,8–100</b>	<b>1557/1569</b>	<b>99,2</b>	<b>98,7–99,6</b>
Koronawirus NL63 <sup>d</sup>	Swieze	0/0	—	—	917/918	99,9	99,4–100
	Zamrozone	40/40	100	91,2–100	645/654	98,6	97,4–99,3
	<b>Razem</b>	<b>40/40</b>	<b>100</b>	<b>91,2–100</b>	<b>1562/1572</b>	<b>99,4</b>	<b>98,8–99,7</b>
Koronawirus OC43 <sup>e</sup>	Swieze	11/13	84,6	57,8–95,7	904/905	99,9	99,4–100
	Zamrozone	22/28	78,6	60,5–89,8	662/666	99,4	98,5–99,8
	<b>Razem</b>	<b>33/41</b>	<b>80,5</b>	<b>66,0–89,8</b>	<b>1566/1571</b>	<b>99,7</b>	<b>99,3–99,9</b>
hMPV <sup>f</sup>	Swieze	5/5	100	56,6–100	913/913	100	99,6–100
	Zamrozone	68/70	97,1	90,2–99,2	616/624	98,7	97,5–99,3
	<b>Razem</b>	<b>73/75</b>	<b>97,3</b>	<b>90,8–99,3</b>	<b>1529/1537</b>	<b>99,5</b>	<b>99,0–99,7</b>
HRV/EV <sup>g</sup>	Swieze	320/328	97,6	95,3–98,8	532/590	90,2	87,5–92,3
	Zamrozone	105/108	97,2	92,1–99,1	567/586	96,8	95,0–97,9
	<b>Razem</b>	<b>425/436</b>	<b>97,5</b>	<b>95,5–98,6</b>	<b>1099/1176</b>	<b>93,5</b>	<b>91,9–94,7</b>
FluA <sup>h</sup>	Swieze	3/3	100	43,9–100	915/915	100	99,6–100
	Zamrozone	75/75	100	95,1–100	616/616	100	99,4–100
	<b>Razem</b>	<b>78/78</b>	<b>100</b>	<b>95,3–100</b>	<b>1531/1531</b>	<b>100</b>	<b>99,7–100</b>
FluA H1	Swieze	0/0	—	—	918/918	100	99,6–100
	Zamrozone	0/0	—	—	691/691	100	99,4–100
	<b>Razem</b>	<b>0/0</b>	<b>—</b>	<b>—</b>	<b>1609/1609</b>	<b>100</b>	<b>99,8–100</b>
FluA H1-2009	Swieze	0/0	—	—	918/918	100	99,6–100
	Zamrozone	74/74	100	95,1–100	617/617	100	99,4–100
	<b>Razem</b>	<b>74/74</b>	<b>100</b>	<b>95,1–100</b>	<b>1535/1535</b>	<b>100</b>	<b>99,8–100</b>
FluA H3	Swieze	3/3	100	43,9–100	915/915	100	99,6–100
	Zamrozone	1/1	100	—	690/690	100	99,4–100
	<b>Razem</b>	<b>4/4</b>	<b>100</b>	<b>51,0–100</b>	<b>1605/1605</b>	<b>100</b>	<b>99,8–100</b>
FluB <sup>i</sup>	Swieze	0/0	—	—	918/918	100	99,6–100
	Zamrozone	14/14	100	78,5–100	678/680	99,7	98,9–99,9
	<b>Razem</b>	<b>14/14</b>	<b>100</b>	<b>78,5–100</b>	<b>1596/1598</b>	<b>99,9</b>	<b>99,5–100</b>
MERS-CoV	Swieze	0/0	—	—	918/918	100	99,6–100
	Zamrozone	0/0	—	—	691/691	100	99,4–100
	<b>Razem</b>	<b>0/0</b>	<b>—</b>	<b>—</b>	<b>1609/1609</b>	<b>100</b>	<b>99,8–100</b>
PIV1 <sup>j</sup>	Swieze	5/5	100	56,6–100	913/913	100	99,6–100
	Zamrozone	4/4	100	51,0–100	689/690	99,9	99,2–100
	<b>Razem</b>	<b>9/9</b>	<b>100</b>	<b>70,1–100</b>	<b>1602/1603</b>	<b>99,9</b>	<b>99,6–100</b>
PIV2 <sup>k</sup>	Swieze	46/47	97,9	88,9–99,6	863/871	99,1	98,2–99,5
	Zamrozone	0/0	—	—	694/694	100	99,4–100
	<b>Razem</b>	<b>46/47</b>	<b>97,9</b>	<b>88,9–99,6</b>	<b>1557/1565</b>	<b>99,5</b>	<b>99,0–99,7</b>

Analit		Procentowa zgodność wyników dodatnich			Procentowa zgodność wyników ujemnych		
		TP / (TP + FN)	%	95%CI (przedział ufności)	TN / (TN + FP)	%	95%CI (przedział ufności)
PIV3 <sup>i</sup>	Świeże	40/42	95,2	84,2–98,7	867/876	99,0	98,1–99,5
	Zamrożone	3/3	100	43,9–100	690/691	99,9	99,2–100
	<b>Razem</b>	<b>43/45</b>	<b>95,6</b>	<b>85,2–98,8</b>	<b>1557/1567</b>	<b>99,4</b>	<b>98,8–99,7</b>
PIV4 <sup>m</sup>	Świeże	6/6	100	61,0–100	910/912	99,8	99,2–99,9
	Zamrożone	3/3	100	43,9–100	686/691	99,3	98,3–99,7
	<b>Razem</b>	<b>9/9</b>	<b>100</b>	<b>70,1–100</b>	<b>1596/1603</b>	<b>99,6</b>	<b>99,1–99,8</b>
RSV <sup>n</sup>	Świeże	44/45	97,8	88,4–99,6	867/873	99,3	98,5–99,7
	Zamrożone	131/131	100	97,2–100	545/563	96,8	95,0–98,0
	<b>Razem</b>	<b>175/176</b>	<b>99,4</b>	<b>96,9–99,9</b>	<b>1412/1436</b>	<b>98,3</b>	<b>97,5–98,9</b>
<b>Bakterie</b>							
<i>B. paraptussis</i> (IS1001) <sup>o</sup>	Świeże	4/5	80,0	37,6–96,4	913/913	100	99,6–100
	Zamrożone	2/2	100	34,2–100	692/692	100	99,4–100
	<b>Razem</b>	<b>6/7</b>	<b>85,7</b>	<b>48,7–97,4</b>	<b>1605/1605</b>	<b>100</b>	<b>99,8–100</b>
<i>B. pertussis</i> (ptxP) <sup>p</sup>	Świeże	2/2	100	34,2–100	915/916	99,9	99,4–100
	Zamrożone	0/1	0,0	—	693/693	100	99,4–100
	<b>Razem</b>	<b>2/3</b>	<b>66,7</b>	<b>20,8–93,9</b>	<b>1608/1609</b>	<b>99,9</b>	<b>99,6–100</b>
<i>C. pneumoniae</i> <sup>q</sup>	Świeże	2/2	100	34,2–100	915/916	99,9	99,4–100
	Zamrożone	3/3	100	43,9–100	691/691	100	99,4–100
	<b>Razem</b>	<b>5/5</b>	<b>100</b>	<b>56,6–100</b>	<b>1606/1607</b>	<b>99,9</b>	<b>99,6–100</b>
<i>M. pneumoniae</i> <sup>r</sup>	Świeże	17/17	100	81,6–100	897/901	99,6	98,9–99,8
	Zamrożone	6/7	85,7	48,7–97,4	686/687	99,9	99,2–100
	<b>Razem</b>	<b>23/24</b>	<b>95,8</b>	<b>79,8–99,3</b>	<b>1583/1588</b>	<b>99,7</b>	<b>99,3–99,9</b>

<sup>a</sup> Adenowirus wykryto w 3/4 próbek FN za pomocą niezależnego oznaczenia molekularnego. Adenowirus wykryto w 38/48 próbek FP za pomocą niezależnego oznaczenia molekularnego; o dodatkowych dwóch próbkach wiadomo, że zostały pobrane od pacjentów z ostrym zakażeniem adenowirusami w wywiadzie.

<sup>b</sup> Pojedyncza próbka FN była ujemna pod względem koronawirusa 229E w niezależnym oznaczeniu molekularnym. Wszystkie pięć próbek FP było ujemne pod względem koronawirusa 229E w niezależnym oznaczeniu molekularnym.

<sup>c</sup> Koronawirus HKU1 wykryto w 3/12 próbek FP niezależną metodą porównawczą.

<sup>d</sup> Koronawirus NL63 wykryto w 3/10 próbek FP podczas badania rozbieżności; w dwóch wykryto go niezależną metodą molekularną, a w jednej — w powtórzeniu oznaczenia metodą porównawczą.

<sup>e</sup> Sześć z ośmiu próbek FN było TP wobec koronawirusa HKU1. Potwierdzono, że błąd wynikał ze znanej reaktywności krzyżowej metody porównawczej z koronawirusem HKU1; wszystkie sześć próbek było ujemne wobec koronawirusa OC43 w dwóch niezależnych oznaczeniach PCR; pozostałe dwie próbki FN były ujemne wobec koronawirusa OC43 w niezależnym oznaczeniu molekularnym. Koronawirus OC43 wykryto w 2/5 próbek FP w powtórzeniu oznaczenia metodą porównawczą.

<sup>f</sup> hMPV wykryto w 6/8 próbek FP podczas badania rozbieżności; w jednej wykryto go niezależną metodą molekularną, a w pięciu — w powtórzeniu oznaczenia metodą porównawczą.

<sup>g</sup> HRV/EV wykryto w 5/11 próbek FN podczas badania rozbieżności; w jednej wykryto go niezależną metodą molekularną, a w czterech — w powtórzeniu oznaczenia testem BioFire RP2plus. HRV/EV wykryto w 33/77 próbek FP podczas badania rozbieżności; w czterech wykryto go niezależną metodą molekularną, a w 29 — w powtórzeniu oznaczenia metodą porównawczą.

<sup>h</sup> Trzy próbki wykluczono z analizy wirusa grypy typu A: jedna dała wynik Wirus grypy typu A (nie wykryto podtypu) metodą porównawczą, a dwie dały wynik Wirus grypy typu A Equivocal (Niejednoznaczny) w teście BioFire RP2plus.

<sup>i</sup> FluB wykryto w obu próbkach FP podczas badania rozbieżności; w jednej wykryto go niezależną metodą molekularną, a w drugiej — w powtórzeniu oznaczenia metodą porównawczą.

<sup>j</sup> Pojedyncza próbka FP była ujemna pod względem PIV1 w niezależnym oznaczeniu molekularnym.

<sup>k</sup> Pojedyncza próbka FN była ujemna pod względem PIV2 w niezależnym oznaczeniu molekularnym. PIV2 wykryto w 5/8 próbek FP podczas badania rozbieżności; w jednej wykryto go niezależną metodą molekularną, a w czterech — w powtórzeniu oznaczenia metodą porównawczą.

<sup>l</sup> PIV3 wykryto w obu próbkach FN podczas badania rozbieżności; w jednej wykryto go niezależną metodą molekularną, a w drugiej — w powtórzeniu oznaczenia testem BioFire RP2plus. PIV3 wykryto w 4/10 próbek FP podczas badania rozbieżności; w dwóch wykryto go niezależną metodą molekularną, a w dwóch innych — w powtórzeniu oznaczenia metodą porównawczą.

<sup>m</sup> PIV4 wykryto w 1/7 próbek FP za pomocą niezależnego oznaczenia molekularnego.

<sup>n</sup> Pojedyncza próbka FN była ujemna pod względem RSV w niezależnym oznaczeniu molekularnym. RSV wykryto w 8/24 próbek FP podczas badania rozbieżności; w trzech wykryto go niezależną metodą molekularną, a w pięciu — w powtórzeniu oznaczenia metodą porównawczą.

<sup>o</sup> *B. paraptussis* wykryto w jednej próbce FN w powtórzeniu oznaczenia testem BioFire RP2plus.

<sup>p</sup> *B. pertussis* wykryto w próbkach FN i FP za pomocą niezależnego oznaczenia molekularnego.



<sup>q</sup> *C. pneumoniae* wykryto w jednej próbce FP za pomocą niezależnego oznaczenia molekularnego.

<sup>r</sup> *M. pneumoniae* wykryto w jednej próbce FN w powtórzeniu oznaczenia testem BioFire RP2plus. *M. pneumoniae* wykryto we wszystkich pięciu próbkach FP podczas badania rozbieżności; w trzech wykryto go niezależną metodą molekularną, a w dwóch — w powtórzeniu oznaczenia metodą porównawczą.

W teście BioFire RP2plus zgłoszono łącznie 245 próbek, w których wykryto wiele rozróżnialnych drobnoustrojów (15,2% wszystkich próbek, 245/1612; oraz 24,0% próbek dodatnich, 245/1020; Tab. 17). Większość przypadków wykrycia drobnoustrojów współistniejących dotyczyła dwóch drobnoustrojów (190/245; 77,6%), w 20,0% przypadków (49/245) były to trzy drobnoustroje, w 1,6% (4/245) — cztery drobnoustroje, w 0,4% (1/245) — pięć drobnoustrojów i w 0,4% (1/245) — sześć drobnoustrojów. Wyniki dla 124 z 245 próbek z więcej niż jednym drobnoustrojem (50,6%; 124/245) były zgodne z wynikami uzyskanymi metodą porównawczą. Natomiast 121 próbek (49,4%; 121/245) zawierało co najmniej jeden drobnoustroj, który nie został wykryty metodami porównawczymi (tj. stanowił wynik fałszywie dodatni).

Trzy drobnoustroje, które najczęściej wykrywano w próbkach jednocześnie, były też trzema najczęściej wykrywanymi drobnoustrojami w całym badaniu (tj. HRV/EV, RSV i adenowirus). Najczęściej wykrywane drobnoustroje współistniejących (≥ 5 przypadków) podsumowuje Tab. 18.

**Tab. 17. Częstość wykrywania drobnoustrojów współistniejących w teście BioFire RP2plus**

Analit	Częstość w próbkach z wieloma drobnoustrojami (N=245)	
<b>Wirusy</b>		
Adenowirus	85	34,7%
Koronawirus 229E	6	2,4%
Koronawirus HKU1	41	16,7%
Koronawirus NL63	31	12,7%
Koronawirus OC43	19	7,8%
hMPV	33	13,5%
HRV/EV	150	61,2%
FluA H1	0	0%
FluA H1-2009	9	3,7%
FluA H3	2	0,8%
FluB	6	2,4%
MERS-CoV	0	0%
PIV1	5	2,0%
PIV2	15	6,1%
PIV3	21	8,6%
PIV4	12	4,9%
RSV	105	42,9%
<b>Bakterie</b>		
<i>B. paraptussis</i> (IS 1001)	6	2,4%
<i>B. pertussis</i> (ptxP)	0	0%
<i>C. pneumoniae</i>	1	0,4%
<i>M. pneumoniae</i>	7	2,9%

Najczęściej wykrywanymi jednocześnie drobnoustrojami były adenowirusy z HRV/EV (1,9% wszystkich próbek; 30/1612) oraz HRV/EV z RSV (1,4% wszystkich próbek; 22/1612); jak podano powyżej, było to jednocześnie najczęściej wykrywane drobnoustroje w całym badaniu.

Tab. 18. Drobnoustroje współistniejące (≥ 5 przypadków) na podstawie testu BioFire RP2plus

Rozróżnialne kombinacje wielu drobnoustrojów			Drobnoustroje współistniejące łącznie	Liczba próbek z fałszywie dodatnimi wynikami detekcji	Fałszywie dodatnie analizy <sup>a</sup>
Analit 1	Analit 2	Analit 3			
Adenowirus	HRV/EV		30	15	Adenowirus (15), HRV/EV (1)
HRV/EV	RSV		22	7	HRV/EV (3), RSV (4)
Koronawirus HKU1	RSV		13	7	Koronawirus HKU1 (4), RSV (3)
Koronawirus NL63	RSV		13	3	Koronawirus NL63 (2), RSV (1)
HRV/EV	PIV2		11	7	HRV/EV (6), PIV2 (2)
HRV/EV	PIV3		11	6	HRV/EV (3), PIV3 (4)
Adenowirus	RSV		10	5	Adenowirus (4), RSV (1)
Adenowirus	HRV/EV	RSV	9	5	Adenowirus (2), HRV/EV (3), RSV (1)
Koronawirus NL63	HRV/EV		8	2	Koronawirus NL63 (2)
Koronawirus HKU1	HRV/EV		5	2	Koronawirus HKU1 (1), HRV/EV (1)
Koronawirus OC43	HRV/EV		5	3	HRV/EV (3)
hMPV	HRV/EV		5	1	HRV/EV

<sup>a</sup> Spośród 67 niezgodnych analizów (na 293 wszystkich analizów) 32 (47,8%) zaobserwowano w próbkach podczas badania rozbieżności; 22/67 (32,8%) wykryto niezależną metodą molekularną, a 13/67 (19,4%) — w powtórzeniu oznaczenia metodą porównawczą.

Łączny wskaźnik powodzenia pierwszego oznaczenia próbki w badaniu prospektywnym wyniósł 99,3% (1611/1623) (95% CI: 98,7%–99,6%); 12 testów nie powiodło się (jeden z powodu niezakończenia testu, jeden z powodu błędu urządzenia i 10 z powodu niepowodzenia kontroli). Dwa testy (2/1623; 0,1%) nie zostały zakończone w początkowym cyklu, przekładając się na wskaźnik powodzenia urządzenia wynoszący 99,9% (1621/1623) (95% CI: 99,6%–100%) w początkowych testach próbki. Obie próbki przetestowano ponownie z powodzeniem, uzyskując ważne wyniki po pierwszym powtórzeniu testu. W przypadku 10 testów (10/1621; 0,6%) kontrole saszetki były nieważne, przekładając się na wskaźnik powodzenia kontroli saszetki wynoszący 99,4% (1611/1621) (95% CI: 98,9%–99,7%) dla zakończonych cykli w początkowych testach próbki. Przeprowadzono pomyślnie ponowne oznaczenie 9 z 10 nieprawidłowych próbek i uzyskano ważne wyniki kontroli po pierwszym powtórzeniu testu. Powtórzenie testu w przypadku jednej próbki było niemożliwe z powodu jej niewystarczającej objętości.

## Badanie wstępnie wybranych zarchiwizowanych próbek z zastosowaniem wcześniejszego testu BioFire RP2plus

Niektóre analizy były rzadko wykrywane w teście BioFire RP2plus i nie uzyskano wystarczającej ich liczby podczas badania prospektywnego, aby wiarygodnie wykazać działanie systemu. W celu uzupełnienia wyników prospektywnego badania klinicznego przeprowadzono w BioFire retrospektywną ocenę wstępnie wybranych próbek archiwalnych. Były to archiwalne próbki NPS w VTM, dobrane na podstawie wcześniejszego dodatniego wyniku testu wobec jednego z następujących analizów: koronawirusa 229E, wirusów grypy typu A H1 i H3, wirus grypy typu B, wirusów paragrypy 1 i 4, *Bordetella parapertussis*, *B. pertussis* i *Chlamydia pneumoniae*. Oczekiwano też, że rzadko wykrywane będą wirusy paragrypy 2. i 3. oraz *Mycoplasma pneumoniae* na podstawie danych zebranych przez BioFire w sezonie 2015–2016 chorób układu oddechowego, dlatego też przeprowadzono testy na próbkach archiwalnych również w kierunku tych analizów i włączono wyniki do badania (mimo że ostatecznie występowanie tych analizów w prospektywnym badaniu klinicznym okazało się duże).

**UWAGA:** Testy próbek archiwalnych w kierunku MERS-CoV opisano osobno. Wyniki testów próbek archiwalnych w kierunku MERS-CoV zawiera Tab. 22.

Na potrzeby tego badania retrospektywnego otrzymano początkowo 217 wstępnie wybranych, archiwalnych próbek retrospektywnych do testów. Przed oznaczeniem testem BioFire RP2*plus* potwierdzono skład/integralność próbek zatwierdzonymi metodami molekularnymi (PCR z dwukierunkowym sekwencjonowaniem w kierunku *B. parapertussis* lub zatwierdzonym przez FDA złożonym panelem patogenów układu oddechowego).

Próbki podzielono na dwie różne grupy do testów na podstawie metody przeprowadzanego testu potwierdzającego: wszystkie próbki z analitami zawartymi w zatwierdzonym przez FDA złożonym panelu patogenów układu oddechowego, będącym metodą porównawczą, przetestowano jako Grupę 1, a próbki zawierające *B. parapertussis* przetestowano jako Grupę 2. Do każdej grupy włączono też ujemne próbki NPS do testów.

Zatwierdzonym przez FDA złożonym panelem patogenów układu oddechowego, będącym metodą porównawczą, przetestowano tylko 197 z 217 wstępnie wybranych, archiwalnych próbek retrospektywnych (Grupę 1). Jedna z 197 próbek została wyłączona z analizy działania z powodu nieprawidłowego cyklu testu BioFire RP2*plus* i niewystarczającej objętości do ponowienia tego testu. Dodatkowo dwie z 197 próbek zostały wyłączone z analizy działania, ponieważ nie uzyskano wyniku w zatwierdzonym przez FDA złożonym panelu patogenów układu oddechowego, będącym metodą porównawczą, a objętość próbki była niewystarczająca do ponowienia tego testu: jeden cykl oznaczenia metodą porównawczą był niezakończony, a w drugim miał miejsce błąd kontroli. Uzyskano ważne wyniki oznaczenia metodą porównawczą i testem BioFire RP2*plus* dla 194 z 197 próbek archiwalnych (Grupy 1).

Oznaczenie PCR z dwukierunkowym sekwencjonowaniem w kierunku *B. parapertussis* wykonano tylko na 20 z 217 wstępnie wybranych, archiwalnych próbkach retrospektywnych (Grupie 2). Próbek z Grupy 2 nie oznaczano zatwierdzonym przez FDA złożonym panelem patogenów układu oddechowego, będącym metodą porównawczą. Uzyskano ważne wyniki oznaczenia metodą porównawczą i testem BioFire RP2*plus* dla 20 z 20 próbek archiwalnych.

Podsumowanie dostępnych danych demograficznych, dotyczących tych 214 ważnych próbek archiwalnych, zawiera Tab. 19.

**Tab. 19. Podsumowanie dostępnych danych demograficznych dotyczących wszystkich ważnych próbek archiwalnych**

Wszystkie próbki		214
<b>Płeć</b>	Kobiety (%)	75 (35%)
	Mężczyźni (%)	81 (38%)
	Nieznana	58 (27%)
<b>Zakres wieku</b>	≤ 5 lat	78 (36%)
	6–21 lat	46 (21%)
	22–49 lat	13 (6%)
	50+ lat	19 (9%)
	Nieznana	58 (27%)

Wszystkie dodatnie próbki archiwalne z Grupy 1 i Grupy 2 (zgodnie z wynikami uzyskanymi w laboratorium pochodzenia), których status nie został potwierdzony odnośną metodą porównawczą, zostały wykluczone z dalszej analizy działania wobec każdego z odnośnych analitów.

Dane z badania retrospektywnego działania BioFire RP2*plus* oraz zastosowanej metody porównawczej uporządkowane według analitu podsumowuje Tab. 20.

Tab. 20. Podsumowanie danych dotyczacych skuteczności badania próbek archiwalnych za pomoca testu BioFire RP2plus

Analit	Procentowa zgodność wyników dodatnich			Procentowa zgodność wyników ujemnych		
	TP / (TP + FN)	%	95% CI	TN / (TN + FP)	%	95% CI
Wirusy						
Adenowirus	0/0	0	Nd.	189/194	97,4	94,1–98,9
CoV-229E <sup>a</sup>	15/15	100	79,6–100	175/175	100	97,9–100
Koronawirus HKU1	0/0	0	Nd.	194/194	100	98,1–100
Koronawirus NL63	2/2	100	34,2–100	192/192	100	98,0–100
Koronawirus OC43	0/0	0	Nd.	194/194	100	98,1–100
hMPV	1/1	100	20,7–100	192/193	99,5	97,1–99,9
HRV/EV	18/19	94,7	75,4–99,1	168/175	96,0	92,0–98,0
Wirus grypy typu A	22/22	100	85,1–100	172/172	100	97,8–100
Wirus grypy typu A H1	3/3	100	43,9–100	191/191	100	98,0–100
Wirus grypy typu A 2009-H1	1/1	100	20,7–100	193/193	100	98,0–100
Wirus grypy typu A H3	18/18	100	82,4–100	176/176	100	97,9–100
Wirus grypy typu B <sup>b</sup>	16/16	100	80,6–100	177/177	100	97,9–100
Koronawirus bliskowschodniego zespołu niewydolności oddechowej (MERS-CoV)	0/0	0	Nd.	177/177	100	97,9–100
Wirus paragrypy 1	16/16	100	80,6–100	178/178	100	97,9–100
Wirus paragrypy 2 <sup>c</sup>	16/16	100	80,6–100	177/177	100	97,9–100
Wirus paragrypy 3	17/17	100	81,6–100	175/177	98,9	96,0–99,7
Wirus paragrypy 4	17/17	100	81,6–100	174/177	98,3	95,1–99,4
RSV	2/2	100	34,2–100	191/192	99,5	97,1–99,9
Bakterie						
<i>Bordetella parapertussis</i> (IS 1001) <sup>d</sup>	16/16	100	80,6–100	4/4	100	51,0–100
<i>Bordetella pertussis</i> (ptxP) <sup>e</sup>	25/26	96,2	81,1–99,3	160/162	98,8	95,6–99,7
<i>Chlamydia pneumoniae</i> <sup>f</sup>	17/17	100	81,6–100	176/176	100	97,9–100
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> <sup>g</sup>	16/16	100	80,6–100	171/173	98,8	95,9–99,7

<sup>a</sup> Cztery z 19 dodatnich pod wzgledem koronawirusa 229E próbek archiwalnych (wg laboratorium pochodzenia), których status nie został potwierdzony odnośną metodą porównawczą, zostały wykluczone z dalszej analizy działania wobec koronawirusa 229E.

<sup>b</sup> Jedna z 17 dodatnich pod wzgledem wirusa grypy typu B próbek archiwalnych (wg laboratorium pochodzenia), której status nie został potwierdzony odnośną metodą porównawczą, została wykluczona z dalszej analizy działania wobec wirusa grypy typu B.

<sup>c</sup> Jedna z 17 dodatnich pod wzgledem wirusa paragrypy 2 próbek archiwalnych (wg laboratorium pochodzenia), której status nie został potwierdzony odnośną metodą porównawczą, została wykluczona z dalszej analizy działania wobec wirusa paragrypy 2.

<sup>d</sup> Porównawcze oznaczenie PCR z sekwencjonowaniem w kierunku *B. parapertussis* wykonano tylko na 20 archiwalnych próbkach (Grupie 2). Nie oznaczano tych 20 próbek metodą porównawczą w kierunku innych analitów.

<sup>e</sup> Sześć z 31 dodatnich pod wzgledem *B. pertussis* próbek archiwalnych (wg laboratorium pochodzenia), których status nie został potwierdzony odnośną metodą porównawczą, zostało wykluczonych z dalszej analizy działania wobec *B. pertussis*.

<sup>f</sup> Jedna z 17 dodatnich pod wzgledem *C. pneumoniae* próbek archiwalnych (wg laboratorium pochodzenia), której status nie został potwierdzony odnośną metodą porównawczą, została wykluczona z dalszej analizy działania wobec *C. pneumoniae*.

<sup>g</sup> Pięć z 21 dodatnich pod wzgledem *M. pneumoniae* próbek archiwalnych (wg laboratorium pochodzenia), których status nie został potwierdzony odnośną metodą porównawczą, zostało wykluczonych z dalszej analizy działania wobec *M. pneumoniae*.

W teście BioFire RP2plus oznaczono archiwalne próbki NPS od trzech potwierdzonych przypadków zakażenia MERS-CoV. Próbki początkowo oznaczono jako dodatnie wzgledem MERS-CoV dwoma testami rRT-PCR, skierowanymi wobec sekwencji upE i ORF1A podczas ogniska choroby MERS-CoV w 2015 roku w Korei Południowej. Procentowa zgodność wyników dodatnich (PPA) testu BioFire RP2plus z wynikami wcześniej zastosowanych metod wynosiła 100%.

Tab. 21. Podsumowanie skuteczności badania próbek archiwalnych w kierunku MERS-CoV za pomocą testu BioFire RP2 $plus$ 

Analit	PPA		
	TP / (TP + FN)	%	95% CI
MERS-CoV	3/3	100	43,8–100

## Badanie spreparowanych próbek z zastosowaniem wcześniejszego testu BioFire RP2 $plus$

Wirus grypy typu A H1 i wirus MERS-CoV są tak rzadkie, że zarówno badanie prospektywne, jak i z wykorzystaniem próbek archiwalnych nie było wystarczające, aby wykazać skuteczność systemu. Aby uzupełnić dane prospektywne i retrospektywne, przeprowadzono ocenę próbek spreparowanych. Zastosowano spreparowane próbki kliniczne na bazie próbek NPS, które dały wcześniej ujemny wynik w zatwierdzonym przez FDA złożonym panelu patogenów układu oddechowego (tj. tej samej metodzie porównawczej, którą zastosowano w prospektywnej i retrospektywnej ocenie klinicznej) w laboratorium, w którym pozyskano próbki. Do próbek dodano wirusa grypy typu A H1 i inaktywowanego wirusa MERS-CoV w realistycznych klinicznie ilościach (odpowiednio od 2x do 1000x LoD i od 0,2 do 1000x LoD) i randomizowano je wraz z próbkami ujemnymi (bez dodatku analitu) w taki sposób, że status analitu każdej spreparowanej próbki był nieznany osobom wykonującym test. Wyniki uzyskane za pomocą testu FilmArray RP2 $plus$  przedstawia Tab. 22.

Tab. 22. Skuteczność testu FilmArray RP2 $plus$  oceniona przy użyciu próbek spreparowanych

Analit	Czułość/PPA			Specyficzność/NPA		
	TP / (TP + FN)	%	95% CI	TN / (TN + FP)	%	95% CI
Wirus grypy typu A H1	47/48 <sup>a</sup>	97,9	89,1–99,6	50/50	100	92,9–100
MERS-CoV <sup>b</sup>	50/50	100	92,9–100	50/50	100	92,9–100

<sup>a</sup> Do próbki FN dodano wirusa grypy typu A/Weiss/43; szczep ten wykryto we wszystkich innych stężeniach. Dwie próbki (również z dodanym wirusem grypy typu A/Weiss/43) dały wynik Wirus grypy typu A Equivocal (Niejednoznaczny) lub Wirus grypy typu A H1 Equivocal (Niejednoznaczny) i zostały wykluczone z analizy skuteczności.

<sup>b</sup> Zasoby BEI, NIAID, NIH: koronawirus bliskowschodniego zespołu niewydolności oddechowej (MERS-CoV), EMC/2012, inaktywowany termicznie, NR-50171.

## Granica wykrywalności

Granice wykrywalności (LoD) analitów w oznaczeniu BioFire RP2.1 $plus$  oszacowano badając seryjne rozcieńczenia mikroorganizmów o znanych stężeniach w pulowanych próbkach z klinicznych NPS lub podłożu transportowym. Oszacowane stężenia LoD potwierdzono wykonując oznaczenia w 20 powtórzeniach na systemach FilmArray 2.0 i FilmArray Torch, przy czym wymagano, aby oznaczenie BioFire RP2.1 $plus$  wykryło analit w co najmniej 19 z 20 powtórzeń ( $\geq 95\%$ ). Potwierdzone stężenia LoD oznaczenia BioFire RP2.1 $plus$  wymienia Tab. 23 w liczbie kopii kwasu nukleinowego/ml i/lub w jednostkach żywotnych/infekcyjnych (np. CFU/ml lub TCID<sub>50</sub>/ml). Liczbę kopii kwasu nukleinowego/ml oznaczano metodą ilościowej PCR w czasie rzeczywistym lub PCR emulsyjno-kropelkowej (ddPCR).

Tab. 23. Granica wykrywalności (LoD) dla testu BioFire RP2.1 $plus$ 

Analit	Izolat	Stężenie LoD	Wykryte/wszystkie (%)
<b>Wirusy</b>			
Adenowirus	Gatunek C, serotyp 2 Międzynarodowa norma WHO NIBSC 16/324	3,0E+03 IU/ml <sup>a</sup> (3,0E+03 kopii/ml) <sup>b</sup>	20/20 100%
Koronawirus 229E	ATCC VR-740	6,5E+01 kopii/ml (4,0E-01 TCID <sub>50</sub> /ml)	20/20 100%
Koronawirus HKU1	Próbka kliniczna	2,0E+03 RNA kopii/ml	19/20 95,0%
Koronawirus NL63	BEI NR-470	5,4E+01 kopii/ml (2,5E+01 TCID <sub>50</sub> /ml)	20/20 100%
Koronawirus OC43	ATCC VR-759	5,6E+02 kopii/ml (3,0E+01 TCID <sub>50</sub> /ml)	20/20 100%
Koronawirus bliskowschodniego zespołu niewydolności oddechowej (MERS-CoV)	EMC/2012 BEI NR-50171 (inaktywowany termicznie)	1,3E+02 kopii/ml 2,0E+00 TCID <sub>50</sub> /ml	20/20 100%



Analit	Izolat		Stężenie LoD	Wykryte/wszystkie (%)
Koronawirus SARS 2 — zespół ostrej ciężkiej niewydolności oddechowej (SARS-CoV-2)	USA-WA1/2020	Wirus inaktywowany termicznie ATCC VR-1986HK	5,0E+02 kopii/ml <sup>c</sup> (6,9E-02 TCID <sub>50</sub> /ml)	20/20 100%
		Wirus zakaźny <sup>d</sup>	1,6E+02 kopii/ml <sup>d</sup> (1,1E-02 TCID <sub>50</sub> /ml)	20/20 100%
Ludzki metapneumowirus	16, typ A1 IA10-2003 Zeptomatrix 0810161CF		1,0E+01 TCID <sub>50</sub> /ml <sup>e</sup>	20/20 100%
Ludzki rinowirus/enterowirus	Ludzki rinowirus Typ 1A Zeptomatrix 0810012CFN		3,8E+01 kopii/ml	19/20 95,0%
	Enterowirus D68 ATCC VR-1823		2,6E+01 kopii/ml (3,0E+02 TCID <sub>50</sub> /ml)	20/20 100%
Wirus grypy typu A H1	Wirus grypy A H1N1 A/Nowa Kaledonia/20/99 Zeptomatrix 0810036CF		1,4E+02 kopii/ml (1,0E+03 TCID <sub>50</sub> /ml)	20/20 100%
Wirus grypy typu A H1-2009	Wirus grypy A H1N1pdm09 A/świnia/NY/03/2009 Zeptomatrix 0810249CF		3,3E+02 kopii/ml (5,0E-01 TCID <sub>50</sub> /ml)	20/20 100%
Wirus grypy typu A H3	Wirus grypy typu H3N2 A/Port Chalmers/1/73 ATCC VR-810		2,1E+01 kopii/ml (1,0E-01 TCID <sub>50</sub> /ml)	20/20 100%
Wirus grypy typu B	B/FL/04/06 Zeptomatrix 0810255CF		3,4E+01 kopii/ml (5,0E+00 TCID <sub>50</sub> /ml)	20/20 100%
Wirus paragrypy 1	Typ 1 Zeptomatrix 0810014CF		1,0E+03 kopii/ml (5,0E+00 TCID <sub>50</sub> /ml)	20/20 100%
Wirus paragrypy 2	Typ 2 Zeptomatrix 0810015CF		3,0E+01 kopii/ml (5,0E-01 TCID <sub>50</sub> /ml)	19/20 95,0%
Wirus paragrypy 3	Typ 3 Zeptomatrix 0810016CF		3,8E+01 kopii/ml (2,5E+00 TCID <sub>50</sub> /ml)	20/20 100%
Wirus paragrypy 4	Typ 4a Zeptomatrix 0810060CF		1,6E+03 kopii/ml (5,0E+01 TCID <sub>50</sub> /ml)	19/20 95,0%
Syncytialny wirus oddechowy	Typ A Zeptomatrix 0810040ACF		9,0E+00 kopii/ml (2,0E-02 TCID <sub>50</sub> /ml)	20/20 100%
Bakterie				
Bordetella parapertussis (IS1001)	A747 Zeptomatrix 0801461		6,0E+01 IS1001 kopii/ml (4,1E+01 CFU/ml) <sup>f</sup>	20/20 100%
Bordetella pertussis (ptxP)	A639 Zeptomatrix 0801459		1,0E+03 CFU/ml	19/20 95,0%
Chlamydia pneumoniae	TW183 ATCC VR-2282		1,3E+02 kopii/ml <sup>g</sup>	20/20 100%
Mycoplasma pneumoniae	M129 Zeptomatrix 0801579		4,6E+02 kopii/ml	20/20 100%

<sup>a</sup> IU = jednostki międzynarodowe.

<sup>b</sup> BioFire Diagnostics oceniła ilościowo normę międzynarodową WHO metodą ilościowej PCR w czasie rzeczywistym, aby wykazać, że 3,0E+03 IU/ml=3,0E+03 kopii/ml. Wykrycie w ≥ 95% z 20 powtórzeń potwierdzono dla dwóch innych serotypów adenowirusa (B7 i F41) w stężeniach zbliżonych do LoD ustalonej z zastosowaniem normy międzynarodowej (odpowiednio 8,7E+02 kopii/ml i 1,1E+03 kopii/ml).

<sup>c</sup> Stężenie RNA wirusa oznaczono techniką ddPCR, co potwierdza Świadectwo analizy od ATCC.

<sup>d</sup> Wirusy zakaźne uzyskano od Światowego Ośrodka Referencyjnego ds. Nowych Wirusów i Arbowirusów (WRCEVA; współpracująca z amerykańską agencją Centers for Disease Control (CDC)). Wirus był hodowany, oznaczony ilościowo i przetestowany w laboratorium 3. poziomu bezpieczeństwa biologicznego. Stężenie wirusowego RNA oznaczono metodą ilościowej PCR w czasie rzeczywistym przy użyciu sondy i starterów z genu E, zgodnie z opisem na stronie internetowej Światowej Organizacji Zdrowia (WHO): <https://www.who.int/docs/default-source/coronavirus/protocol-v2-1.pdf>.

<sup>e</sup> Nie oznaczono stężenia hodowli w kopiach/ml przy użyciu testu BioFire RP2.1plus, ale wiadomo, że odpowiadające mu stężenie LoD BioFire RP2plus dla metapneumowirusa ludzkiego wynosi 1,2E+03 kopii/ml (na podstawie badania innej hodowli z tego samego izolatu).

<sup>f</sup> Sekwencje IS1001 mogą występować w komórce w większej niż jedna liczbie kopii, dlatego zależność między CFU/ml a liczbą kopii/ml może różnić się w poszczególnych szczepach i hodowlach. Wartość LoD określano na podstawie oznaczeń ilościowych IS1001 metodą ilościowej reakcji RT-PCR w czasie rzeczywistym.

<sup>g</sup> Stężenie LoD w kopiach/ml dla Chlamydia pneumoniae jest 2-krotnie wyższe niż stężenie LoD w kopiach/ml dla BioFire RP2plus.



**UWAGA:** Stężenia LoD hodowanych wirusów podano w jednostkach TCID<sub>50</sub> (50% dawki zakaźnej dla hodowli komórek) i nie przekłada się ono bezpośrednio na miano wirusów lub komórek, lecz stanowi pośrednią miarę stężenia wirusów na podstawie zakaźności i cytotoksyczności. Zależy więc w dużym stopniu od technik i metod (w tym od typu komórek, podłoża hodowlanego, warunków hodowli, cytotoksyczności wirusa itd.). Nie należy więc oceniać względnej czułości różnych oznaczeń molekularnych na podstawie wartości LoD podanych w TCID<sub>50</sub>/ml. Stężenia LoD zostały też podane w liczbie kopii/ml na podstawie oznaczenia ilościowego PCR (qPCR) w czasie rzeczywistym. Na dokładność qPCR mogą mieć wpływ warunki wykonywania oznaczenia i zmienność sekwencji między szczepami.

## Reaktywność analityczna (zakres testu)

Reaktywność analityczną (zakres testu) oznaczeń BioFire RP2.1*plus* oceniano *in silico* i w testach 180 różnych izolatów lub próbek wirusowych i bakteryjnych. Badane izolaty reprezentują istotne gatunki, szczepy, serotypy lub genotypy, a także zróżnicowanie czasowe i geograficzne dla każdego z analizów. Każdy izolat badano w trzech powtórzeniach w stężeniu zbliżonym do LoD za pomocą testu BioFire RP2.1*plus* lub BioFire RP2*plus*. Wszystkie izolaty wykryto w stężeniach do 10x LoD (Tab. 24-Tab. 35).

Wykorzystano analizę *in silico* danych sekwencji do prognozowania reaktywności wszystkich oznaczeń i podano wyniki analizy *in silico* dla rzadszych szczepów lub serotypów, których nie badano i/lub scharakteryzowane izolaty nie były dostępne do badań (np. SARS-CoV-2, Tab. 36).

**UWAGA:** Oznaczenie BioFire RP2.1*plus* wobec wirusa grypy typu A reaguje w różny sposób na wirusy grypy typu A niepochozące od człowieka lub rzadko spotykane podtypy inne niż H1, H1-2009 lub H3, dając ogólnie wynik *Wirus grypy typu A Equivocal (Niejednoznaczny)* lub *Wirus grypy typu A (nie wykryto podtypu)*.

**UWAGA:** Oczekuje się, że oznaczenia wirusa grypy typu A (z podtypami) i B w teście BioFire RP2.1*plus* będą reagować na atenuowane wirusy w szczepionkach. Przewiduje się, że oznaczenie w kierunku ludzkiego rinowirusa/enterowirusa będzie reagować z kwasami nukleinowymi w szczepionkach przeciw poliovirusom, a oznaczenie w kierunku *Bordetella pertussis* (ptxP) będzie reagować z kwasami nukleinowymi w szczepionkach przeciwko krztuścowi.

Tab. 24. Reaktywność oznaczenia adenowirusów (izolaty oznaczone i wykryte)

Gatunek	Serotyp <sup>a</sup>	ID izolatu/źródło	[szczep/miejsce/rok]	Wykryta xLoD <sup>b</sup>	Wynik
A	12	ATCC VR-863	[Huie/Massachusetts]	3 x	Adenowirus Detected (Wykryto)
	18	ATCC VR-19	[Washington DC/1954]	3 x	
	31	Zeptomatrix 0810073CF	—	3 x	
B	3	Zeptomatrix 0810062CF	—	3 x	
	7A	Zeptomatrix 0810021CF	—	< 1x	
	7d/d2	Fundacja Univ of Iowa Research Foundation	[Iowa/2001]	3 x	
	7h	Fundacja Univ of Iowa Research Foundation	[Iowa/1999]	3 x	
	11	ATCC VR-12	[Slobitski]	3 x	
	14	ATCC VR-15	[De Wit/Niderlandy/1955]	3 x	
	16	ATCC VR-17	[CH.79/Arabia Saudyjska/1955]	3 x	
	21	ATCC VR-1833	[128/Arabia Saudyjska/1956]	3 x	
	34	ATCC VR-716	[Compton/1972]	3 x	
	35	ATCC VR-718	[Holden]	3 x	
	50	ATCC VR-1602	[Wan/Amsterdam/1988]	3 x	
C	1	Zeptomatrix 0810050CF	—	3 x	
	2	ATCC VR-846	[Adenoid 6]	3 x	
		NIBSC 16/324	—	1 x	
	5	Zeptomatrix 0810020CF	—	3 x	
	6	ATCC VR-6	[Tonsil 99/Washington DC]	3 x	
D	8	Zeptomatrix 0810069CF	—	3 x	
	20	Zeptomatrix 0810115CF	—	3 x	
	37	Zeptomatrix 0810119CF	—	3 x	
E	4a	Fundacja Univ of Iowa Research Foundation	[Karolina Pld./2004]	3 x	
	4	Zeptomatrix 0810070CF	—	3 x	
F	40	Zeptomatrix 0810084CF	—	3 x	
		NCPV 0101141v	—	3 x	
		ATCC VR-930	[Tak/73-3544/Holandia/1973]	< 1x	
	41	Zeptomatrix 0810085CF	—	3 x	

<sup>a</sup> Na podstawie analizy *in silico* dostępnych sekwencji przewiduje się, że oznaczenie adenowirusów BioFire RP2.1*plus* będzie również reagować ze szczepami adenowirusa B55, C57, serotypami gatunku D i G52.

<sup>b</sup> Wszystkie izolaty adenowirusa oznaczone w testach BioFire RP2.1*plus* na poziomie 3 x wartości LoD ustalonej z zastosowaniem normy międzynarodowej WHO (3,0E+03 IU lub kopii/ml) lub mniejszym.

Tab. 25. Reaktywność oznaczenia koronawirusów (izolaty/próbki oznaczone i wykryte)

Typ koronawirusa	ID izolatu/źródło	[miejsce/rok]	Wykryta xLoD <sup>a</sup>	Wynik
229E	ATCC VR-740	—	1 x	Koronawirus 229E
	Zeptomatrix 0810229CF	—	3 x	
HKU1	Próbka kliniczna	[Utah/2015]	1 x	Koronawirus HKU1
	Próbka kliniczna	[Utah/2015]	3 x	
	Próbka kliniczna	[Utah/2015]	3 x	
	Próbka kliniczna	[Karolina Pld./2010]	3 x	
	Próbka kliniczna	[Detroit/2010]	3 x	
NL63	BEI NR-470	[Amsterdam/2003]	1 x	Koronawirus NL63
	Zeptomatrix 0810228CF	—	3 x	
OC43	ATCC VR-759 <sup>b</sup>	—	1 x	Koronawirus OC43
	Zeptomatrix 0810024CF	—	3 x	
MERS-CoV	BEI NR-50171 (inaktywowany termicznie)	EMC/2012 [Arabia Saudyjska/2012]	1 x	Koronawirus bliskowschodniego zespołu niewydolności oddechowej (MERS-CoV)
	Zeptomatrix 0810575CFHI (inaktywowany termicznie)	Floryda/USA-2_ Arabia Saudyjska_2014	3x <sup>c</sup>	
SARS-CoV-2 <sup>d</sup>	ATCC VR-1986 HK (inaktywowany termicznie)	[USA-WA1/2020]	1 x	Koronawirus SARS-2 zespołu ostrej ciężkiej niewydolności oddechowej (SARS-CoV-2)

<sup>a</sup> Próbki 1x LoD oznaczano i wykrywano z użyciem testu BioFire RP2.1plus.

<sup>b</sup> Wycofany numer części; patrz ATCC VR-1558.

<sup>c</sup> Próbka 3x LoD oznaczona i wykryta z użyciem testu BioFire RP2.1plus.

<sup>d</sup> Dalsze prognozowane wyniki reaktywności SARS-CoV-2 na podstawie analizy *in silico* zawiera Tab. 36.

Tab. 26. Reaktywność oznaczenia ludzkiego metapneumowirusa (izolaty przebadane i wykryte)

Genotyp	Serotyp	ID izolatu/źródło	[miejsce/rok]	Wykryta xLoD <sup>a</sup>	Wynik
A1	16	Zeptomatrix 0810161CF	[Iowa10/2003]	1 x	Ludzki metapneumowirus
	9	Zeptomatrix 0810160CF	[Iowa3/2002]	3 x	
A2	20	Zeptomatrix 0810163CF	[Iowa14/2003]	3 x	
	27	Zeptomatrix 0810164CF	[Iowa27/2004]	3 x	
B1	3	Zeptomatrix 0810156CF	[Peru2/2002]	3 x	
	5	Zeptomatrix 0810158CF	[Peru3/2003]	3 x	
	13	Fundacja Univ of Iowa Research Foundation	[Iowa7/2003]	3 x	
B2	4	Zeptomatrix 0810157CF	[Peru1/2002]	3 x	
	8	Zeptomatrix 0810159CF	[Peru6/2003]	3 x	
	18	Zeptomatrix 0810162CF	[Iowa18/2003]	3 x	
	22	Fundacja Univ of Iowa Research Foundation	[Iowa16/2003]	3 x	

<sup>a</sup> Próbkę 1x LoD oznaczano i wykrywano z użyciem testu BioFire RP2.1plus.

Tab. 27. Reaktywność oznaczenia ludzkiego rinowirusa i enterowirusa (izolaty przebadane i wykryte)<sup>a</sup>

Gatunek	Serotyp	ID izolatu/źródło	[szczep/miejsce/rok]	Wykryta xLoD <sup>b</sup>	Wynik
Ludzki rinowirus					
A	1	Zeptomatrix 0810012CFN	[1A]	1 x	Ludzki rinowirus/ enterowirus
	2	ATCC VR-482	[HGP]	3 x	
	7	ATCC VR-1601	[68-CV11]	3 x	
	16	ATCC VR-283	[11757/Washington DC/1960]	3 x	
	34	ATCC VR-507 <sup>c</sup>	[137-3]	3 x	
	57	ATCC VR-1600	[Ch47]	3 x	
	77	ATCC VR-1187	[130-63]	3 x	
	85	ATCC VR-1195	[50-525-CV54]	3 x	
B	3	ATCC VR-483	[FEB]	3 x	
	14	ATCC VR-284	[1059/Karolina Pld./1959]	3 x	
	17	ATCC VR-1663	[33342/Karolina Pld./1959]	3 x	
	27	ATCC VR-1137	[5870]	3 x	
	42	ATCC VR-338	[56822]	3 x	
	83	ATCC VR-1193	[Baylor 7]	3 x	

Gatunek	Serotyp	ID izolatu/źródło	[szczep/miejsce/rok]	Wykryta xLoD <sup>b</sup>	Wynik
<b>Enterowirus</b>					
A	Wirus Coxsackie 10	ATCC VR-168	[NY/1950]	3 x	Ludzki rinowirus/ enterowirus
	Enterowirus 71	ATCC VR-1432	[H]	3 x	
B	Wirus Coxsackie A9	Zeptomatrix 0810017CF	—	3 x	
	Wirus Coxsackie B3	Zeptomatrix 0810074CF	—	3 x	
	Wirus Coxsackie B4	Zeptomatrix 0810075CF	—	3 x	
	Echowirus 6	Zeptomatrix 0810076CF	—	3 x	
	Echowirus 9	Zeptomatrix 0810077CF	—	3 x	
	Echowirus 11	Zeptomatrix 0810023CF	—	3 x	
C	Wirus Coxsackie A21	ATCC VR-850	[Kuykendall/Kalifornia/1952]	3 x	
	Wirus Coxsackie A24	ATCC VR-583	[DN-19/Teksas/1963]	3 x	
D	68	ATCC VR-1823	[US/MO/2014-18947]	1 x	

<sup>a</sup> Na podstawie analizy sekwencji przewiduje się, że oznaczenie w kierunku HRV/EV będzie reagować z kwasami nukleinowymi w szczepionkach przeciw polioowirusom.

<sup>b</sup> Próbkę 1x LoD oznaczano i wykrywano z użyciem testu BioFire RP2.1*plus*.

<sup>c</sup> Wycofany numer części; patrz ATCC VR-1365.

**Tab. 28. Reaktywność oznaczenia wirusów grypy typu A i A H1/H1-2009/H3 (izolaty przebadane i wykryte)**

Typ	ID izolatu/źródło		[szczep/miejsce/rok]	Wykryta xLoD <sup>a</sup>	Wynik
H1N1	Człowiek	Zeptomatrix 0810036CF	[Nowa Kaledonia/20/1999]	1 x	Wirus grypy typu A H1
		ATCC VR-219	[NWS/1933]	3 x	
		ATCC VR-95	[PR/8/1934]	10x <sup>b</sup>	
		ATCC VR-96	[Weiss/1943]	3 x	
		ATCC VR-97	[FM/1/1947]	3 x	
		ATCC VR-98	[Mal/302/1954]	3 x	
		ATCC VR-546	[Denver/1/1957]	3 x	
		Zeptomatrix 0810036CFN	[Wyspy Salomona/03/2006]	3 x	
	Świnia	Zeptomatrix 0810244CF	[Brisbane/59/2007]	3 x	
		ATCC VR-333	[A/świnia/Iowa/15/1930]	3 x	
ATCC VR-99		[A/świnia/1976/1931]	3 x		
ATCC VR-897	[A/New Jersey/8/76 (Hsw1N1)]	10x <sup>b</sup>			
H1N2	Rekombinowany	BEI NR-9677 <sup>c</sup>	[Kilbourne F63, A/NWS/1934 (HA) x A/Rockefeller Institute/5/1957 (NA)]	3 x	
H1N1 pdm09	Człowiek	Zeptomatrix 0810249CFN	[A/świnia/NY/03/2009]	1 x	Wirus grypy typu A H1-2009
		Zeptomatrix 0810248CFN	[A/świnia/NY/01/2009]	3 x	
		Zeptomatrix 0810109CFN	[A/świnia/NY/02/2009]	3 x	
		Zeptomatrix 0810109CFJ	[Kanada/6294/2009]	3 x	
		Zeptomatrix 0810165CF	[Kalifornia/07/2009]	3 x	
		Zeptomatrix 0810166CF	[Meksyk/4108/2009]	3 x	
		BEI NR-19823	[Holandia/2629/2009]	3 x	
		BEI NR-44345	[Hong Kong/H090-761-V1(0)/2009]	10x <sup>d</sup>	
BEI NR-42938	[Georgia/F32551/2012]	3 x			
H3N2	Człowiek	ATCC VR-810	[Port Chalmers/1/1973]	1 x	Wirus grypy typu A H3
		ATCC VR-776	[Alice (żywa atenuowana szczepionka)]	3 x	
		Zeptomatrix 0810238CF	[Teksas/50/2012]	3 x	
		ATCC VR-547	[Aichi/2/1968]	3 x	
		ATCC VR-544	[Hong Kong/8/1968]	3 x	
		ATCC VR-822	[Victoria/3/1975]	3 x	
		Zeptomatrix 0810252CF	[Wisconsin/67/2005]	3 x	
	Zeptomatrix 0810138CF	[Brisbane/10/2007]	3 x		
	Rekombinowany	ATCC VR-777	[MCR2(A/Anglia/42/72xA/PR8/34)]	3 x	
H3N2v <sup>e</sup>	Człowiek	Próbka kliniczna	[Ohio/2012]	3 x	
H2N2	Człowiek	BEI NR-2775 <sup>f</sup>	[Japonia/305/1957]	10x <sup>d</sup>	Wirus grypy typu A (nie wykryto podtypu)
	Rekombinowany	BEI NR-9679 <sup>g</sup>	[Korea/426/1968xPuerto Rico/8/1934]	10x <sup>d</sup>	
H2N3	Ptasia	MRI Global <sup>h</sup>	[Kaczka krzyżówka/Alberta/79/2003]	3 x	Wirus grypy typu A Equivocal (Niejednoznaczny)
H5N1		MRI Global <sup>h</sup>	[A/kurczak/Iowa/1251/2003]	3 x	Wirus grypy typu A (nie wykryto podtypu)
H5N2		MRI Global <sup>h</sup>	[A/rożeniec/Iowa/40964/2014]	3 x	
H5N3		BEI NR-9682 <sup>i</sup>	[A/kaczka/Singapur/645/1997]	3 x	
H5N8		MRI Global <sup>h</sup>	[Białozór/Washington/41088-6/2014]	3 x	
H7N7		MRI Global <sup>h</sup>	[A/Holandia/219/2003]	3 x	
H7N9		MRI Global <sup>h</sup>	[A/Anhui/01/2013]	3 x	
H10N7			BEI NR-2765 <sup>j</sup>	[Kurczak/Niemcy/N/49]	3 x

<sup>a</sup> Próbkę 1x LoD oznaczano i wykrywano z użyciem testu BioFire RP2.1*plus*.

<sup>b</sup> Zgłoszono Wirus grypy typu A (nie wykryto podtypu) przy 3x LoD.

<sup>c</sup> RNA genomowy uzyskany z zasobów BEI Resources NAID, NIH: Kilbourne F63: A/NWS/1934 (HA) x A/Rockefeller Institute/5/1957 (NA) (H1N2), Reassortant NWS-F, NR-9677.

<sup>d</sup> Zgłoszono wynik Wirus grypy typu A Equivocal (Niejednoznaczny) lub Wirus grypy typu A (nie wykryto podtypu) przy 3x LoD.

<sup>e</sup> Niedawny wariant wirusa świńskiego H3N2 wyizolowany od człowieka.

<sup>f</sup> RNA genomowy uzyskany z zasobów BEI Resources, NIAID, NIH: RNA genomowy wirusa grypy typu A, A/Japonia/305/1957 (H2N2), NR-2775.

<sup>g</sup> RNA genomowy z zasobów BEI, NIAID, NIH: RNA genomowy z Kilbourne F38: A/Korea/426/1968 (HA, NA) x A/Puerto Rico/8/1934 (H2N2), NR-9679.

<sup>h</sup> Izolat dostarczony i przebadany przez MRI Global, Kansas City, MO.

<sup>i</sup> RNA genomowy uzyskany z zasobów BEI Resources, NIAID, NIH: RNA genomowy z Kilbourne F181: A/kaczka/Singapur/645/1997 (H5N3), typ dziki, NR-9682.

<sup>j</sup> RNA genomowy z zasobów BEI, NIAID, NIH: RNA genomowy wirusa grypy typu A, A/kurczak/Niemcy/N/1949 (H10N7), NR-2765.

**Tab. 29. Reaktywność oznaczenia wirusa grypy typu B (izolaty przebadane i wykryte)**

Linia	ID izolatu/źródło	[szczep/miejsce/rok]	Wykryta xLoD <sup>a</sup>	Wynik
Nd.	ATCC VR-101	[Lee/1940]	3 x	Wirus grypy typu B
	ATCC VR-102	[Allen/1945]	3 x	
	ATCC VR-103	[GL/1739/1954]	3 x	
	ATCC VR-296	[1/Maryland/1959]	3 x	
	ATCC VR-295	[2/Tajwan/1962]	3 x	
	ATCC VR-786	[Brigit/Rosja/1969]	3 x	
Victoria	ATCC VR-823	[5/Hong Kong/1972]	3 x	
	Zeptomatrix 0810258CF	[2506/Malezja/2004]	3 x	
	CDC 2005743348	[1/Ohio/2005]	3 x	
Yamagata	Zeptomatrix 0810256CF	[07/Floryda/2004]	3 x	
	Zeptomatrix 0810255CF	[04/Floryda/2006]	1 x	
	Zeptomatrix 0810241CF	[1/Wisconsin/2010]	3 x	
	Zeptomatrix 0810239CF	[2/Massachusetts/2012]	3 x	

<sup>a</sup> Próbkę 1x LoD oznaczano i wykrywano z użyciem testu BioFire RP2.1*plus*.

**Tab. 30. Reaktywność oznaczenia wirusa paragrypy (izolaty oznaczone i wykryte)**

Typ	Podtyp	ID izolatu/źródło	[szczep/miejsce/rok]	Wykryta xLoD <sup>a</sup>	Wynik
1		Zeptomatrix 0810014CF	—	1 x	Wirus paragrypy 1
		ATCC VR-94	[C-35/Washington DC/1957]	3 x	
		BEI NR-3226 <sup>b</sup>	[C39]	3 x	
		BEI NR-48680	[FRA/29221106/2009]	3 x	
2		Zeptomatrix 0810015CF	—	1 x	Wirus paragrypy 2
		ATCC VR-92	[Greer/Ohio/1955]	3 x	
3		Zeptomatrix 0810016CF	—	1 x	Wirus paragrypy 3
		ATCC VR-93	[C-243/Washington DC/1957]	3 x	
		BEI NR-3233	[NIH 47885, Wash/47885/57]	3 x	
4	A	Zeptomatrix 0810060CF	—	1 x	Wirus paragrypy 4
		ATCC VR-1378	[M-25/1958]	3 x	
	B	Zeptomatrix 0810060BCF	—	3 x	
		ATCC VR-1377	[CH-19503/Washington DC/1962]	3 x	

<sup>a</sup> Próbkę 1x LoD oznaczano i wykrywano z użyciem testu BioFire RP2.1*plus*.

<sup>b</sup> Wycofany numer części.



Tab. 31. Reaktywność oznaczenia syncytialnego wirusa oddechowego (izolaty oznaczone i wykryte)

Typ	Źródło	[szczep/miejsce/rok]	Wykryta xLoD <sup>a</sup>	Wynik
A	Zeptomatrix 0810040ACF	[2006]	1 x	Syncytialny wirus oddechowy
	ATCC VR-26	[Long/Maryland/1956]	3 x	
	ATCC VR-1540	[A2/Melbourne/1961]	3 x	
B	Zeptomatrix 0810040CF	[Ch-93 (18)-18]	3 x	
	ATCC VR-1400	[WV/14617/1985]	3 x	
	ATCC VR-955	[9320/Massachusetts/1977]	3 x	
	ATCC VR-1580	[18537/Washington DC/1962]	10x	

<sup>a</sup> Próbkę 1x LoD oznaczano i wykrywano z użyciem testu BioFire RP2.1plus.

Tab. 32. Reaktywność oznaczenia *Bordetella parapertussis* (IS1001) (izolaty oznaczone i wykryte)

Gatunek	Źródło	[szczep/miejsce/rok]	Wykryta xLoD <sup>a</sup>	Wynik
<i>Bordetella parapertussis</i>	Zeptomatrix 0801461	[A747]	1 x	<i>Bordetella parapertussis</i> (IS1001)
	Zeptomatrix 0801462	[E595]	3 x	
	ATCC 15237	[NCTC 10853]	3 x	
	ATCC 15311	[NCTC 5952]	3 x	
	ATCC BAA-587	[12822/Niemcy/1993]	3 x	
<i>Bordetella bronchiseptica</i> <sup>b</sup> (zawierająca IS1001)	NRRL B-59909	[MBORD849/świnia/Niderlandy]	3 x	

<sup>a</sup> Próbkę 1x LoD oznaczano i wykrywano z użyciem testu BioFire RP2.1plus.

<sup>b</sup> Reaktywność wobec sekwencji IS1001 w *B. bronchiseptica* jest zgodna z przeznaczeniem oznaczenia, jednak analiz będzie błędnie zgłaszany jako *B. parapertussis*. Oznaczenie nie wykazuje reaktywności z podobnymi do IS1001 sekwencjami w *B. holmesii*.

Tab. 33. Reaktywność oznaczenia *Bordetella pertussis* (ptxP) (izolaty oznaczone i wykryte)<sup>a</sup>

ID izolatu/źródło	[Szczep]	Wykryta xLoD <sup>b</sup>	Wynik
Zeptomatrix 0801459	[A639]	1 x	<i>Bordetella pertussis</i> (ptxP)
Zeptomatrix 0801460	[E431]	3 x	
ATCC 8467	[F]	3 x	
ATCC 9340	[5,17921]	3 x	
ATCC 9797	[18323/NCTC 10739]	3 x	
ATCC 10380	[10-536]	3 x	
ATCC 51445	[CNCTC Hp 12/63,623]	3 x	
ATCC BAA-589	[Tohama]	3 x	
ATCC BAA-1335	[MN2531]	3 x	

<sup>a</sup> Oznaczenie ptxP może reagować z szczepionkami przeciwko krztuścowi.

<sup>b</sup> Próbkę 1x LoD oznaczano i wykrywano z użyciem testu BioFire RP2.1plus.

Tab. 34. Reaktywność oznaczenia *Chlamydia pneumoniae* (izolaty oznaczone i wykryte)

ID izolatu/źródło	[szczep/miejsce/rok]	Wykryta xLoD <sup>a</sup>	Wynik
ATCC VR-2282	[TW-183/Tajwan/1965]	1 x	<i>Chlamydia pneumoniae</i>
ATCC VR-1310	[CWL-029]	3 x	
ATCC VR-1360	[CM-1/Georgia]	3 x	
ATCC 53592	[AR-39/Seattle/1983]	3 x	

<sup>a</sup> Wszystkie izolaty *C. pneumoniae* oznaczano i wykrywano z użyciem testu BioFire RP2.1plus.

Tab. 35. Reaktywność oznaczenia *Mycoplasma pneumoniae* (izolaty oznaczone i wykryte)

Typ	ID izolatu/źródło	[Szczep]	Wykryta xLoD <sup>a</sup>	Wynik
1	Zeptomatrix 0801579	[M129]	1 x	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
	ATCC 29342	[M129-B7]	3 x	
	ATCC 29085	[PI 1428]	3 x	
2	ATCC 15531	[szczep FH czynnika Eaton [NCTC 10119]	3 x	
	ATCC 15492	[Mac]	3 x	
nieznany	ATCC 15293	[M52]	3 x	
	ATCC 15377	[Bru]	3 x	
	ATCC 39505	[Mutant 22]	3 x	
	ATCC 49894	[UTMB-10P]	3 x	

<sup>a</sup> Próbkę 1x LoD oznaczano i wykrywano z użyciem testu BioFire RP2.1plus.

## Przewidywania dotyczące reaktywności *in silico* koronawirusa 2 zespołu ostrej ciężkiej niewydolności oddechowej (SARS-CoV-2)

Ocena reaktywności analitycznej oznaczeń w kierunku SARS-CoV-2 testu BioFire RP2.1*plus* (SARSCoV2-1 i SARSCoV2-2) została oparta na analizie *in silico* wszystkich sekwencji z baz danych NCBI i GISAID dostępnych na dzień 3 maja 2020 roku. Sprawdzono zgodność łącznie 15 370 sekwencji z całego świata ze starterami oznaczeń i stwierdzono, że mniej niż 0,1% (16/15 370) ma niedopasowaną zasadę w obrębie połowy 3' co najmniej jednego startera, potencjalnie pogarszając namnażanie sekwencji w jednym z oznaczeń. Każda z szesnastu sekwencji z niedopasowaną zasadą po stronie 3' w jednym oznaczeniu wykazuje jednocześnie 100% identyczności ze wszystkimi starterami drugiego oznaczenia.

W tej analizie ustalono, że wszystkie oceniane sekwencje z baz danych zostaną namnożone w jednym lub obu oznaczeniach SARS-CoV-2 i przewiduje się, że wszystkie sekwencje (15 370/15 370; 100%) zostaną wykryte przez BioFire RP2.1*plus* (Tab. 36).

**Tab. 36. Przewidywane wykrywanie SARS-CoV-2 w oznaczeniach BioFire RP2.1*plus* na podstawie analizy *in silico***  
 +/- oznacza wykrycie przez oba oznaczenia bez zakłóceń, +/- oznacza wykrycie przez jedno oznaczenie bez zakłóceń i możliwość zakłóceń w drugim oznaczeniu, -/- oznacza możliwość zakłóceń wykrywania w obu oznaczeniach

Przewidywane wyniki oznaczenia		SARSCoV2-1		Przewidywana liczba (%) wykrytych sekwencji (jedno lub oba oznaczenia dodatnie)
Liczba sekwencji		+	—	
SARSCoV2-2	+	15 354	13	15 370/15 370 (100%)
	—	3	0	

## Specyficzność analityczna (reaktywność krzyżowa)

Możliwość niespecyficznej amplifikacji i niespecyficznego wykrywania przez oznaczenia BioFire RP2.1*plus* oceniono poprzez analizę *in silico* sekwencji i poprzez oznaczanie próbek z wysokim mianem drobnoustrojów. Oznaczano drobnoustroje z panelu, aby ocenić reaktywność krzyżową w jego obrębie oraz spoza panelu, aby ocenić jego specyficzność. Oznaczane drobnoustroje spoza panelu obejmowały prawidłową mikroflorę układu oddechowego i patogeny, które mogą być obecne w próbkach NPS, jak również gatunki blisko spokrewnione i genetycznie podobne do drobnoustrojów wykrywanych przez test BioFire RP2.1*plus*. Każdy drobnoustrój był badany w trzech powtórzeniach, przy czym bakterie i grzyby były zazwyczaj badane w stężeniu  $\geq 1,0E+07$  units/ml, a wirusy w stężeniu  $\geq 1,0E+05$  units/ml.

W testach i analizie *in silico* zidentyfikowano ryzyko reaktywności krzyżowej oznaczenia SARS-CoV-2 z kilkoma sekwencjami wirusów podobnych do SARS wyizolowanych od nietoperzy i łuskowców, jak również reaktywności krzyżowej z ujętymi w panelu gatunkami *Bordetella* i podtypami wirusa grypy typu A pochodzenia świńskiego. Podsumowanie potencjalnej reaktywności krzyżowej przedstawia Tab. 37, a zbadane izolaty z panelu i spoza niego oraz ich stężenia wymienia odpowiednio Tab. 38 i Tab. 39.

Tab. 37. Obserwowana i przewidywana reaktywność krzyżowa testu BioFire RP2.1*plus*

Drobnoustroje/sekwencje wykazujące reaktywność krzyżową	Wynik testu BioFire RP2.1 <i>plus</i>	Opis
<b>Koronawirus nietoperza RaTG13</b> (nr sekwencji: MN996532) <b>Koronawirus łuskowca</b> (nr sekwencji: MT084071) <b>Koronawirus nietoperzy przypominający SARS</b> (nr sekwencji: MG772933 i MG772934)	<b>Koronawirus SARS-2 zespołu ostrej ciężkiej niewydolności oddechowej (SARS-CoV-2)</b>	Oznaczenia SARS-CoV-2 mogą namnażać kilka sekwencji z blisko spokrewnionych sarbekowirusów izolowanych od nietoperzy i łuskowców. Przewiduje się, że oznaczenie SARSCoV2-2 będzie reagować krzyżowo ze wszystkimi czterema sekwencjami, podczas gdy oznaczenie SARSCoV2-1 prawdopodobnie będzie reagować krzyżowo tylko z koronawirusem nietoperzy RaTG13.
<b>Gatunki <i>Bordetella</i> inne niż <i>B. pertussis</i></b> (np. <i>Bordetella parapertussis</i> , <i>Bordetella bronchiseptica</i> <sup>a</sup> )	<b><i>Bordetella pertussis</i> (ptxP)<sup>b</sup></b>	W oznaczeniu <i>Bordetella pertussis</i> (ptxP) może nastąpić namnażanie sekwencji pseudogenu toksyny krztuścowej w <i>B. bronchiseptica</i> i <i>B. parapertussis</i> , głównie przy wysokich stężeniach ( $\geq 1,2E+09$ CFU/ml).
<b><i>Bordetella bronchiseptica</i><sup>a</sup></b> (z sekwencjami IS 1001)	<b><i>Bordetella parapertussis</i> (IS 1001)</b>	Niektóre szczepy <i>B. bronchiseptica</i> zawierają identyczne sekwencje insercyjne IS 1001 co <i>B. parapertussis</i> . Te sekwencje ulegną wydajnemu namnożeniu w oznaczeniu IS1001 i zostaną zgłoszone w teście BioFire RP2.1 jako <i>Bordetella parapertussis</i> (IS 1001).
<b><i>Bordetella pertussis</i></b> <b><i>Bordetella parapertussis</i><sup>c</sup></b> <b><i>Bordetella bronchiseptica</i><sup>c</sup></b>	<b>Ludzki rinowirus/enterowirus<sup>d</sup></b>	Oznaczenie wobec ludzkiego rinowirusa/enterowirusa może przy wyższych stężeniach namnażać sekwencje niedocelowe, występujące w szczepach <i>B. pertussis</i> , <i>B. bronchiseptica</i> , i <i>B. parapertussis</i> . Reaktywność krzyżową z <i>B. pertussis</i> zaobserwowano w stężeniach większych lub równych $4,5E+07$ CFU/ml.
<b>Wirus grypy A H1N1</b> (pochodzenia świńskiego)	<b>Wirus grypy typu A H1-2009<sup>e</sup></b>	Oznaczenie wirusa grypy typu A H1-2009 może reagować z sekwencją genu hemaglutyniny H1 wirusów pochodzenia świńskiego. BioFire RP2.1 <i>plus</i> zgłosi jako wynik albo Wirus grypy typu A H1 albo Wirus grypy typu A H1-2009, zależnie od szczepu i stężenia w próbce.

<sup>a</sup> Zakażenie *B. bronchiseptica* u ludzi występuje rzadko. Jest częstsze u zwierząt domowych („kaszel psiarniowy”).

<sup>b</sup> Reaktywność krzyżowa między *Bordetella pertussis* (ptxP) a *B. parapertussis* zostanie zgłoszona w teście jako wykrycie obu bakterii jednocześnie (*Bordetella parapertussis* (IS 1001) Detected (Wykryto) i *Bordetella pertussis* (ptxP) Detected (Wykryto)). Reaktywność krzyżowa między większością szczepów *B. bronchiseptica* (niezawierających IS 1001) zostanie zgłoszona tylko jako *Bordetella pertussis* (ptxP) Detected (Wykryto).

<sup>c</sup> Reaktywność krzyżową między *B. parapertussis* a *B. bronchiseptica* przewiduje się na podstawie analizy *in silico*, lecz nie obserwowano jej podczas oznaczeń w stężeniu  $> 2,0E+09$  CFU/ml.

<sup>d</sup> Reaktywność krzyżowa między ludzkim rinowirusem/enterowirusem z *B. pertussis* i *B. parapertussis* zostanie zgłoszona jako wykrycie dwóch drobnoustrojów jednocześnie (*Bordetella pertussis* (ptxP) Detected (Wykryto) i Ludzki Rinowirus/Enterowirus Detected (Wykryto) lub *Bordetella parapertussis* (IS 1001) Detected (Wykryto) i Ludzki Rinowirus/Enterowirus Detected (Wykryto)). Reaktywność krzyżowa między większością szczepów *B. bronchiseptica* (niezawierających IS1001) zostanie zgłoszona tylko jako Ludzki Rinowirus/Enterowirus Detected (Wykryto).

<sup>e</sup> Gen hemaglutyniny (HA) H1 wirusów grypy typu A H1N1 pochodzenia świńskiego (sprzed 2009 roku) ulegnie namnożeniu w oznaczeniu H1 Wirus grypy typu A H1 Detected (Wykryto). Jednakże niektóre szczepy/sekwencje pochodzenia świńskiego przy wysokim stężeniu ( $\geq 8,9E+06$  CEID<sub>50</sub>/ml) mogą być również namnażane przez oznaczenie H1-2009 (Wirus grypy typu A H1-2009 Detected (Wykryto)).

Tab. 38. Drobnoustroje z panelu testu BioFire RP2.1plus badane w celu oceny jego specyficzności analitycznej

Drobnoustrój		ID izolatu	Badane stężenie	Wykryto reaktywność krzyżową
Bakterie				
<i>Bordetella parapertussis</i>		Zeptomatrix 0801462	6,43E+09 CFU/ml	<i>Bordetella pertussis (ptxP)</i> <sup>a</sup>
<i>Bordetella pertussis</i>		ATCC 9797	5,50E+09 CFU/ml	Ludzki rinowirus/enterowirus <sup>b</sup>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>		ATCC 53592	1,93E+07 IFU/ml	Brak
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>		Zeptomatrix 0801579	2,65E+07 CCU/ml	Brak
Wirusy				
Adenowirus	7A (gatunek B)	Zeptomatrix 0810021CF	1,02E+07 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
	1 (gatunek C)	Zeptomatrix 0810050CF	2,26E+07 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
	4 (gatunek E)	ATCC VR-1572	1,58E+06 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Koronawirus 229E		Zeptomatrix 0810229CF	1,13E+05 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Koronawirus HKU1		Próbka kliniczna	8,94E+06 RNA kopii/ml	Brak
Koronawirus NL63		Zeptomatrix 0810228CF	2,34E+05 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Koronawirus OC43		Zeptomatrix 0810024CF	6,37E+06 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Koronawirus bliskowschodniego zespołu niewydolności oddechowej (MERS-CoV)		BEI NR-44260 EMC/2012	2,7E+09 kopii/ml	Brak
Koronawirus SARS-2 zespołu ostrej ciężkiej niewydolności oddechowej (SARS-CoV-2)		USA-WA1/2020	2,4E+09 kopii/ml	Brak
Ludzki metapneumowirus		Zeptomatrix 0810159CF	1,05E+06 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Ludzki rinowirus (Typ 1A)		Zeptomatrix 0810012CFN	8,40E+05 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Enterowirus (D68)		ATCC VR-1823	1,58E+07 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Wirus grypy A H1N1 (A1/FM/1/47)		ATCC VR-97	1,58E+08 CEID <sub>50</sub> /ml	Brak
Wirus grypy typu A Hsw N1 (A/NewJersey/8/76)		ATCC VR-897	8,89E+06 CEID <sub>50</sub> /ml	Wirus grypy typu A H1-2009 <sup>c</sup>
Wirus grypy typu A (H1N1) pdm09 (Michigan/45/15)		Zeptomatrix 0810538CF	9,40E+04 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Wirus grypy A H3N2 (A/Alice)		ATCC VR-776	3,33E+08 CEID <sub>50</sub> /ml	Brak
Wirus grypy typu B (Massachusetts/2/12)		Zeptomatrix 0810239CF	9,55E+05 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Wirus paragrypy 1		Zeptomatrix 0810014CF	6,80E+07 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Wirus paragrypy 2		Zeptomatrix 0810357CF	4,57E+06 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Wirus paragrypy 3		ATCC VR-93	6,80E+07 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Wirus paragrypy 4		ATCC VR-1377	4,17E+04 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Syncytialny wirus oddechowy		Zeptomatrix 0810040ACF	7,00E+05 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak

<sup>a</sup> Badania i analiza *in silico* potwierdzają, że przy wysokich stężeniach (> 1,2E+09 CFU/ml) może dojść do namnożenia sekwencji pseudogenu toksyny krztuscowej niektórych szczepów *B. parapertussis* w oznaczeniu *Bordetella pertussis (ptxP)*.

<sup>b</sup> Badania i analiza *in silico* potwierdzają, że przy stężeniach ≥ 4,5E+07 CFU/ml w oznaczeniu w kierunku ludzkiego rinowirusa/enterowirusa może dojść do namnożenia sekwencji niedocelowych, występujących w szczepach *Bordetella (B. pertussis, B. parapertussis i B. bronchiseptica)*.

<sup>c</sup> Oznaczenia tego szczepu przy stężeniu 8,89E+06 CEID<sub>50</sub>/ml dały wynik Wirus grypy typu A H1-2009 Detected (Wykryto) w 1/3 powtórzeń i Wirus grypy typu A H1 Detected (Wykryto) w 2/3 powtórzeń.

Tab. 39. Drobnoustroje spoza panelu testu BioFire RP2.1plus badane w celu oceny jego specyficzności analitycznej

Drobnoustrój		ID izolatu	Badane stężenie	Reakcja krzyżowa wykryta/przewidywana
Bakterie				
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>		ATCC 23055	5,15E+09 CFU/ml	Brak
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>		ATCC 9345	5,70E+09 CFU/ml	Brak
<i>Bacillus anthracis</i>		Oceniano <i>in silico</i>		Brak
<i>Bordetella avium</i>		ATCC 35086	1,88E+09 komórek/ml	Brak
<i>Bordetella bronchiseptica</i>		ATCC 10580	2,09E+09 komórek/ml	<i>Bordetella pertussis (ptxP)</i>
<i>Bordetella hinzii</i>		ATCC 51783	4,30E+06 CFU/ml	Brak
<i>Bordetella holmesii</i>		ATCC 700052	3,15E+07 CFU/ml	Brak
<i>Burkholderia cepacia</i>		ATCC 17762	5,04E+09 CFU/ml	Brak
<i>Chlamydia trachomatis</i>		Zeptomatrix 0801775	1,67E+08 IFU/ml	Brak
<i>Chlamydia psittaci</i>		Oceniano <i>in silico</i>		Brak
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>		Zeptomatrix 0801882	7,47E+08 CFU/ml	Brak
<i>Corynebacterium striatum</i>		ATCC BAA-1293	5,20E+09 CFU/ml	Brak
<i>Coxiella burnetii</i>		Oceniano <i>in silico</i>		Brak
<i>Escherichia coli</i>		AR Bank nr 0538	5,53E+09 CFU/ml	Brak
<i>Fusobacterium necrophorum</i>		ATCC 27852	1,33E+08 komórek/ml	Brak
<i>Haemophilus influenzae</i>		ATCC 33391	5,85E+09 CFU/ml	Brak
<i>Klebsiella (Enterobacter) aerogenes</i>		AR Bank nr 0074	6,83E+09 CFU/ml	Brak

Drobnoustroj	ID izolatu	Badane stężenie	Reakcja krzyżowa wykryta/przewidywana
<i>Klebsiella oxytoca</i>	JMI 7818	5,60E+09 CFU/ml	Brak
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 13465	1,75E+08 CFU/ml	Brak
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Zeptomatrix 0801540	1,60E+08 CFU/ml	Brak
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Zeptomatrix 0801507	1,20E+09 CFU/ml	Brak
<i>Legionella (Fluoribacter) bozemanae</i>	ATCC 33217	3,24E+09 komórek/ml	Brak
<i>Legionella (Fluoribacter) dumoffii</i>	ATCC 33279	2,65E+09 komórek/ml	Brak
<i>Legionella feeleeii</i>	ATCC 35849	1,49E+09 komórek/ml	Brak
<i>Legionella longbeachae</i>	Zeptomatrix 0801577	1,93E+08 CFU/ml	Brak
<i>Legionella (Tatlockia) micdadei</i>	Zeptomatrix 0801576	1,80E+09 CFU/ml	Brak
<i>Legionella pneumophila</i>	Zeptomatrix 0801530	1,75E+09 CFU/ml	Brak
<i>Leptospira interrogans</i>	ATCC BAA-1198D-5 (DNA genomowy)	7,89E+08 GE/ml	Brak
<i>Moraxella catarrhalis</i>	ATCC 8176	5,73E+09 CFU/ml	Brak
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Zeptomatrix 0801660 (szczep niewirulentny)	9,07E+06 CFU/ml	Brak
<i>Mycoplasma genitalium</i>	ATCC 33530D (DNA genomowy)	8,40E+07 GE/ml	Brak
<i>Mycoplasma hominis</i>	Zeptomatrix 0804011	2,11E+09 CCU/ml	Brak
<i>Mycoplasma orale</i>	ATCC 19524	1,00E+07 CCU/ml	Brak
<i>Neisseria elongata</i>	Zeptomatrix 0801510	1,99E+08 CFU/ml	Brak
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC 19424	2,31E+09 CFU/ml	Brak
<i>Neisseria meningitidis</i>	ATCC 13090	1,99E+09 CFU/ml	Brak
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 12453	5,60E+09 CFU/ml	Brak
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	4,33E+09 CFU/ml	Brak
<i>Serratia marcescens</i>	JMI 697	4,75E+09 CFU/ml	Brak
<i>Staphylococcus aureus (MRSA)</i>	ATCC 10832	1,88E+08 CFU/ml	Brak
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 29887	4,95E+09 CFU/ml	Brak
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	ATCC 700475	4,93E+09 CFU/ml	Brak
<i>Streptococcus agalactiae</i>	ATCC 13813	5,45E+09 CFU/ml	Brak
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	ATCC 43078	5,70E+09 CFU/ml	Brak
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC BAA-341	5,20E+09 CFU/ml	Brak
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615	5,46E+07 CFU/ml	Brak
<i>Streptococcus salivarius</i>	ATCC 13419	4,92E+09 CFU/ml	Brak
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	ATCC 27618	1,00E+08 CCU/ml	Brak
<b>Grzyby</b>			
<i>Aspergillus flavus</i>	Zeptomatrix 0801598	1,15E+08 CFU/ml	Brak
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Zeptomatrix 0801716	5,47E+07 CFU/ml	Brak
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	ATCC 26199D-2 (DNA genomowy)	7,05E+07 GE/ml	Brak
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	1,19E+06 CFU/ml	Brak
<i>Cryptococcus neoformans</i>	ATCC MYA-4564	6,00E+07 CFU/ml	Brak
<i>Histoplasma capsulatum</i>	Oceniano <i>in silico</i>		Brak
<i>Pneumocystis jirovecii (carinii)</i>	ATCC PRA-159	6,67E+07 jądra/ml	Brak
<b>Wirusy (koronawirusy spokrewnione z SARS-CoV-2)</b>			
Koronawirus nietoperzy przypominający SARS (rekombinowany)	BEI NR-44009	3,15E+06 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Koronawirus nietoperzy HKU5 przypominający SARS (rekombinowany)	BEI NR-48814	1,95E+06 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Koronawirus zespołu ostrej ciężkiej niewydolności oddechowej (SARS)	BEI NR-18925 Szczep Urbani	5,3E+09 kopii/ml	Brak
<b>Wirusy</b>			
Bokawirus	Próbka kliniczna	1,40E+08 kopii/ml	Brak
Cytomegalowirus (CMV)	Zeptomatrix 0810003CF	7,67E+06 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Wirus Epsteina-Barr (EBV)	Zeptomatrix 0810008CF	3,65E+07 kopii/ml	Brak
Wirus opryszczki pospolitej 1 (HSV1)	ATCC VR-1778	3,30E+08 kopii/ml	Brak
Wirus opryszczki pospolitej 2 (HSV2)	Zeptomatrix 0810217CF	1,30E+07 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Ludzki wirus opryszczki 6 (HHV6)	Zeptomatrix 0810072CF	4,11E+08 kopii/ml	Brak
Ludzki parechowirus (HPEV)	Zeptomatrix 0810147CF	2,26E+07 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Wirus grypy typu C	Oceniano <i>in silico</i>		Brak
Wirus odry	Zeptomatrix 0810025CF	1,63E+05 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak
Wirus świnki	Zeptomatrix 0810079CF	4,83E+05 units/ml	Brak



## Odtwarzalność

Badania odtwarzalności przeprowadzono na próbkach spreparowanych w trzech ośrodkach stosując połączenie systemów BioFire FilmArray 2.0 i BioFire FilmArray Torch. Wyniki ujemne dla wszystkich analitów zebrano z jednej lub większej liczby próbek bez dodatku analitu badanych za pomocą oznaczenia BioFire RP2.1. Wyniki dodatnie zebrano z próbek zawierających wybraną kombinację reprezentatywnych drobnoustrojów (wirusy RNA, wirusy DNA i bakterie) dodanych w stężeniu słabo dodatnim (1 x LoD) i umiarkowanie dodatnim (3 x LoD), testowanych za pomocą oznaczenia BioFire RP2.1 lub BioFire RP2. Badanie obejmowało szereg potencjalnych przyczyn zmienności zależnych od ośrodka, operatora (co najmniej dwa na ośrodek), systemu, urządzenia/modułu (co najmniej trzy na ośrodek/system) oraz partii zestawów (trzy). Zamrożone próbki przebadano w powtórzeniach w pięć różnych dni, uzyskując 120 punktów danych na próbkę (60 na system).

Podsumowanie wyników (zgodność procentowa (%) z oczekiwanym wynikiem Detected (Wykryto) i Not Detected (Nie wykryto)) dla każdego analitu (według ośrodka lub systemu) przedstawia Tab. 40.

Tab. 40. Odtwarzalność wyników w systemach FilmArray 2.0 i FilmArray Torch

Kursywą zaznaczono dane otrzymane podczas oceny odtwarzalności testu BioFire RP2.1plus. Wykonano oznaczenia jednej próbki w tej samej liczbie powtórzeń (120) z zastosowaniem BioFire RP2.1plus i BioFire RP2plus, w różnych kombinacjach testu, ośrodka i systemu.

Zgodność z oczekiwanym wynikiem											
Analit	Badane stężenie	Oczekiwany wynik	FilmArray 2.0				FilmArray Torch				Wszystkie ośrodki/systemy [95% przedział ufności]
			Ośrodek A	Ośrodek B	Ośrodek C	Łącznie dla systemu	Ośrodek A	Ośrodek B	Ośrodek C	Łącznie dla systemu	
Adenowirus (NIBSC 16/324) Międzynarodowa norma WHO	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]
	Umiarkowanie dodatni 3× LoD 9,0E+03 IU/ml	Detected (Wykryto)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]
	Niski dodatni 1× LoD 3,0E+03 IU/ml	Detected (Wykryto)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]
Koronawirus 229E	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	360/360 100% [99,0–100,0%]
Koronawirus HKU1	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	360/360 100% [99,0–100,0%]
Koronawirus NL63 (BEI NR-470)	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]
	Umiarkowanie dodatni 3× LoD7,5E-01 TCID <sub>50</sub> /ml 1,6E+02 kopii/ml	Detected (Wykryto)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]
	Niski dodatni 1× LoD2,5E-01 TCID <sub>50</sub> /ml 5,4E+01 kopii/ml	Detected (Wykryto)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]
Koronawirus OC43 (ATCC VR-759)	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	360/360 100% [99,0–100,0%]
	Umiarkowanie dodatni 3× LoD 9,0E+01 TCID <sub>50</sub> /ml	Detected (Wykryto)	—	29/30 (96,7%)	30/30 (100%)	59/60 (98,3%)	29/30 (96,7%)	—	29/30 (96,7%)	58/60 (96,7%)	117/120 97,5% [92,9–99,5%]

Analit	Badane stężenie	Oczekiwany wynik	Zgodność z oczekiwanym wynikiem									
			FilmArray 2.0					FilmArray Torch				Wszystkie ośrodki/systemy [95% przedział ufności]
			Ośrodek A	Ośrodek B	Ośrodek C	Łącznie dla systemu	Ośrodek A	Ośrodek B	Ośrodek C	Łącznie dla systemu		
	Niski dodatni 1× LoD 3,0E+01 TCID <sub>50</sub> /ml	Detected (Wykryto)	—	30/30 (100%)	27/30 (90,0%)	57/60 (95,0%)	30/30 (100%)	—	30/30 (100%)	60/60 (100%)	117/120 97,5% [92,9–99,5%]	
Koronawirus bliskowschodniego zespołu niewydolności oddechowej (MERS-CoV) (BEI NR-50171)	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]	
	Umiarkowanie dodatni 3× LoD 3,9E+02 kopii/ml	Detected (Wykryto)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]	
	Niski dodatni 1× LoD 1,3E+02 kopii/ml	Detected (Wykryto)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]	
Koronawirus SARS 2 — zespół ostrej ciężkiej niewydolności oddechowej (SARS-CoV-2) (ATCC VR-1986HK)	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]	
	Umiarkowanie dodatni 3× LoD 1,5E+03 kopii/ml	Detected (Wykryto)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]	
	Niski dodatni 1× LoD 5.0E+02 copies/mL	Detected (Wykryto)	20/20 (100%)	19/20 (95%)	19/20 (95%)	58/60 (96,7%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	118/120 98,3% [94,1–99,8%]	
Ludzki metapneumowirus (Zeptomatrix 0810161CF)	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	360/360 100% [99,0–100,0%]	
	Umiarkowanie dodatni 3× LoD 3,0E+ 01 TCID <sub>50</sub> /ml	Detected (Wykryto)	—	30/30 (100%)	30/30 (100%)	60/60 (100%)	30/30 (100%)	—	30/30 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]	
	Niski dodatni 1× LoD 1,0E+ 01 TCID <sub>50</sub> /ml	Detected (Wykryto)	—	28/30 (93,3%)	30/30 (100%)	58/60 (96,7%)	30/30 (100%)	—	30/30 (100%)	60/60 (100%)	118/120 98,3% [94,1–99,8%]	
Ludzki rinowirus/ Enterowirus Ludzki rinowirus (Zeptomatrix 0810012CFN)	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	360/360 100% [99,0–100,0%]	
	Umiarkowanie dodatni 3× LoD 3,0E-01 TCID <sub>50</sub> /ml	Detected (Wykryto)	—	28/30 (93,3%)	30/30 (100%)	58/60 (96,7%)	30/30 (100%)	—	30/30 (100%)	60/60 (100%)	118/120 98,3% [94,1–99,8%]	
	Niski dodatni 1× LoD 1,0E-01 TCID <sub>50</sub> /ml	Detected (Wykryto)	—	30/30 (100%)	30/30 (100%)	60/60 (100%)	30/30 (100%)	—	30/30 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]	
Wirus grypy typu A (Wirus grypy typu A H1)	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	360/360 100% [99,0–100,0%]	
Wirus grypy typu A	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]	

Analit	Badane stężenie	Oczekiwany wynik	Zgodność z oczekiwanym wynikiem									
			FilmArray 2.0					FilmArray Torch				Wszystkie ośrodki/systemy [95% przedział ufności]
			Ośrodek A	Ośrodek B	Ośrodek C	Łącznie dla systemu	Ośrodek A	Ośrodek B	Ośrodek C	Łącznie dla systemu		
H1-2009 (Zeptomatrix 0810109CFN)	Umiarkowanie dodatni 3x LoD 1,5E+00 TCID <sub>50</sub> /ml 1,0E+03 kopii/ml	Detected (Wykryto)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]	
	Niski dodatni 1x LoD 5,0E- 01 TCID <sub>50</sub> /ml 3,3E+02 kopii/ml	Detected (Wykryto)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]	
Wirus grypy typu A (Wirus grypy typu A H3) (ATCC VR-810)	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	360/360 100% [99,0–100,0%]	
	Umiarkowanie dodatni 3x LoD 3,0E-01 TCID <sub>50</sub> /ml	Detected (Wykryto)	—	29/30 (96,7%)	30/30 (100%)	59/60 (98,3%)	30/30 (100%)	—	30/30 (100%)	60/60 (100%)	119/120 99,2% [95,4–99,9%]	
	Niski dodatni 1x LoD 1,0E-01 TCID <sub>50</sub> /ml	Detected (Wykryto)	—	30/30 (100%)	30/30 (100%)	60/60 (100%)	30/30 (100%)	—	30/30 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]	
Wirus grypy typu B (Zeptomatrix 0810037CF)	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	360/360 100% [99,0–100,0%]	
	Umiarkowanie dodatni 3x LoD 1,5E+01 TCID <sub>50</sub> /ml	Detected (Wykryto)	—	30/30 (100%)	30/30 (100%)	60/60 (100%)	30/30 (100%)	—	30/30 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]	
	Niski dodatni 1x LoD 5,0E+00 TCID <sub>50</sub> /ml	Detected (Wykryto)	—	30/30 (100%)	30/30 (100%)	60/60 (100%)	30/30 (100%)	—	30/30 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]	
Wirus paragrypy 1	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	360/360 100% [99,0–100,0%]	
Wirus paragrypy 2 (Zeptomatrix 0810015CF)	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	360/360 100% [99,0–100,0%]	
	Umiarkowanie dodatni 3x LoD 1,5E+00 TCID <sub>50</sub> /ml	Detected (Wykryto)	—	29/30 (96,7%)	30/30 (100%)	59/60 (98,3%)	30/30 (100%)	—	29/30 (96,7%)	59/60 (98,3%)	118/120 98,3% [94,1–99,8%]	
	Niski dodatni 1x LoD 5,0E- 01 TCID <sub>50</sub> /ml	Detected (Wykryto)	—	30/30 (100%)	27/30 (90,0%)	57/60 (95,0%)	30/30 (100%)	—	29/30 (96,7%)	59/60 (98,3%)	116/120 96,7% [91,7–99,1%]	
Wirus paragrypy 3	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	360/360 100% [99,0–100,0%]	
Wirus paragrypy 4 (Zeptomatrix 0810060CF)	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	360/360 100% [99,0–100,0%]	

Analit	Badane stężenie	Oczekiwany wynik	Zgodność z oczekiwanym wynikiem								
			FilmArray 2.0					FilmArray Torch			Wszystkie ośrodki/systemy [95% przedział ufności]
			Ośrodek A	Ośrodek B	Ośrodek C	Łącznie dla systemu	Ośrodek A	Ośrodek B	Ośrodek C	Łącznie dla systemu	
	Umiarkowanie dodatni 3x LoD 1,5E+02 TCID <sub>50</sub> /ml	Detected (Wykryto)	—	30/30 (100%)	30/30 (100%)	60/60 (100%)	30/30 (100%)	—	30/30 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]
	Niski dodatni 1x LoD 5,0E+01 TCID <sub>50</sub> /ml	Detected (Wykryto)	—	29/30 (96,7%)	30/30 (100%)	59/60 (98,3%)	30/30 (100%)	—	29/30 (96,7%)	59/60 (98,3%)	118/120 98,3% [94,1–99,8%]
Syncytialny wirus oddechowy (Zeptomatrix 0810040ACF)	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97.0-100.0%]
	Umiarkowanie dodatni 3x LoD 6,0E-02 TCID <sub>50</sub> /ml 1,1E+02 kopii/ml	Detected (Wykryto)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]
	Niski dodatni 1x LoD 2.0E-02 TCID <sub>50</sub> /mL 3,6E+01 kopii/ml	Detected (Wykryto)	19/20 (95%)	20/20 (100%)	18/20 (90%)	57/60 (95%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	19/20 (95%)	59/60 (98,3%)	116/120 96,7% [91,7–99,1%]
Bordetella parapertussis (IS 1001) (Zeptomatrix 0801461)	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]
	Umiarkowanie dodatni 3x LoD 1,8E+02 IS 1001 kopii/ml	Detected (Wykryto)	19/20 (95%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	59/60 (98,3%)	19/20 (95%)	19/20 (95%)	20/20 (100%)	58/60 (96,7%)	117/120 97,5% [92,9–99,5%]
	Niski dodatni 1x LoD 6,0E+01 IS 1001 kopii/ml	Detected (Wykryto)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	20/20 (100%)	60/60 (100%)	20/20 (100%)	19/20 (95%)	20/20 (100%)	59/60 (98,3%)	119/120 99,2% [95,4–99,9%]
Bordetella pertussis (ptxP) (Zeptomatrix 0801459)	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	360/360 100% [99,0–100,0%]
	Umiarkowanie dodatni 3x LoD 3,0E+03 CFU/ml	Detected (Wykryto)	—	30/30 (100%)	30/30 (100%)	60/60 (100%)	30/30 (100%)	—	30/30 (100%)	60/60 (100%)	120/120 100% [97,0–100,0%]
	Niski dodatni 1x LoD 1,0E+03 CFU/ml	Detected (Wykryto)	—	30/30 (100%)	30/30 (100%)	60/60 (100%)	28/30 (93,3%)	—	30/30 (100%)	58/60 (96,7%)	118/120 98,3% [94,1–99,8%]
Chlamydia pneumoniae	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	360/360 100% [99,0–100,0%]
Mycoplasma pneumoniae	Ujemny (brak analitu)	Not Detected (Nie wykryto)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	60/60 (100%)	180/180 (100%)	360/360 100% [99,0–100,0%]

## Zakłócenia

Oceniono wpływ na działanie testu BioFire RP2.1*plus* substancji potencjalnie zakłócających, które mogą występować w próbkach NPS lub zostać do nich wprowadzone podczas pobierania lub testowania. Wyniki z próbek zawierających substancję badaną porównano z wynikami z próbek kontrolnych bez substancji badanej. Substancje te obejmują substancje endogenne, które mogą występować w próbkach w normalnym lub podwyższonym stężeniu (np. krew, śluz/mucyna, ludzki DNA genomowy), różne drobnoustroje komensalne lub zakaźne, leki, środki do płukania lub maści stosowane w jamie nosowej, różne podłoża transportowe i waciki do pobierania próbki oraz substancje stosowane do czyszczenia, odkażania lub dezynfekcji obszaru roboczego.

Każdą substancję dodano do próbek spreparowanych, zawierających reprezentatywne drobnoustroje objęte oznaczeniem w stężeniach zbliżonych do (2–3×) LoD. Stężenie substancji dodanych do próbek (Tab. 41) było równe ich najwyższemu przewidywanemu poziomowi w próbkach NPS lub wyższe od tego poziomu.

Nie wykazano zakłóceń działania testu BioFire RP2.1*plus* w obecności żadnej z tych substancji. Zaobserwowano jednak, że narażenie próbek na wybielacz przed oznaczeniem może uszkodzić drobnoustroje/kwasy nukleinowe w próbce, prowadząc do uzyskania błędnych wyników testu (analit nie zostanie wykryty). Wpływ wybielacza zależy od jego stężenia i czasu, przez jaki była na niego narażona próbka.

**Tab. 41. Ocena wpływu substancji potencjalnie zakłócających w próbkach NPS na wyniki testów BioFire RP2*plus* i BioFire RP2.1*plus***

Substancje zaznaczone **pogrubioną** czcionką badano za pomocą BioFire RP2.1*plus* w próbkach zawierających SARS-CoV-2 i inne anality w stężeniu zbliżonym do LoD.

Wszystkie pozostałe substancje przetestowano podczas badania zakłóceń testu BioFire RP2*plus*.

Badana substancja	Badane stężenie	Wynik
<b>Substancje endogenne</b>		
<b>Ludzka krew pełna</b>	<b>10% (v/v)</b>	<b>Brak zakłóceń</b>
Ludzki śluz	1 wacik/ml próbki	Brak zakłóceń
<b>Ludzki DNA genomowy</b>	<b>20 ng/μl</b>	<b>Brak zakłóceń</b>
<b>Komórki jednojądrzaste z ludzkiej krwi obwodowej (PBMC)</b>	<b>1,0E+03 komórek/μl</b>	<b>Brak zakłóceń</b>
<b>Konkurencyjne drobnoustroje</b>		
Koronawirus 229E	1,7E+04 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak zakłóceń
<b>Koronawirus OC43</b>	<b>9,6E+05 TCID<sub>50</sub>/ml</b>	<b>Brak zakłóceń</b>
Adenowirus A12	8,9E+05 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak zakłóceń
Wirus paragrypy 3	6,6E+05 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak zakłóceń
<i>Bordetella pertussis</i>	5,8E+08 CFU/ml	Brak zakłóceń
Enterowirus D68	1,6E+07 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak zakłóceń
Echowirus 6	1,0E+07 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak zakłóceń
Syncytialny wirus oddechowy	4,2E+04 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak zakłóceń
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,5E+07 CFU/ml	Brak zakłóceń
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,7E+07 CFU/ml	Brak zakłóceń
<b><i>Streptococcus salivarius</i></b>	<b>2,5E+09 CFU/ml</b>	<b>Brak zakłóceń</b>
<i>Haemophilus influenzae</i>	6,2E+07 CFU/ml	Brak zakłóceń
<i>Candida albicans</i>	1,0E+06 CFU/ml	Brak zakłóceń
Wirus opryszczki pospolitej 1	1,6E+06 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak zakłóceń
Cytomegalowirus (wirus cytomegalii)	1,2E+06 TCID <sub>50</sub> /ml	Brak zakłóceń
<b>Substancje egzogenne<sup>a</sup></b>		
Tobramycyna (antybiotyk układowy)	0,6 mg/ml	Brak zakłóceń
Mupirocyna (substancja czynna maści przeciwbakteryjnej)	2% (masowo)	Brak zakłóceń
Sól fizjologiczna w aerozolu donosowym z konserwantem (0,65% NaCl, fenylokarbinol, chlorek benzalkoniowy)	1% (obj.)	Brak zakłóceń
Odblokowujący aerozol donosowy (Oksymetazolina HCl 0,05%, chlorek benzalkoniowy, fosforan)	1% (obj.)	Brak zakłóceń
Maść znieczulająca (Vicks® VapoRub®)	1% (w/v)	Brak zakłóceń
Wazelina (Vaseline®)	1% (w/v)	Brak zakłóceń
Tabaka	1% (w/v)	Brak zakłóceń
<b>Substancje do czyszczenia lub dezynfekcji</b>		
Wybielacz	1% i 2% (obj.) [do 1024 ppm chloru]	Zakłócenia <sup>b</sup>
Chusteczki do dezynfekcji (chlorek amonu)	½ in <sup>2</sup>	Brak zakłóceń
Etanol	7% (obj.)	Brak zakłóceń
DNAZap (Ambion™ AM9891G & AM9892G)	1% (obj.)	Brak zakłóceń
RNaseZap (Ambion™ AM9782)	1% (obj.)	Brak zakłóceń



Badana substancja	Badane stężenie	Wynik
<b>Materiały do pobierania próbki</b>		
Wacik wiskozowy (Copan 168C)	Nd.	Brak zakłóceń
Wacik z flokowanego nylonu (Copan 553C)	Nd.	Brak zakłóceń
Wacik poliestrowy (Copan 175KS01)	Nd.	Brak zakłóceń
Wacik z alginianu wapnia (Puritan 25-801 A 50)	Nd.	Brak zakłóceń
Podłoże transportowe M4® (Remel)	100%	Brak zakłóceń
Podłoże transportowe M4-RT® (Remel)	100%	Brak zakłóceń
Podłoże transportowe M5® (Remel)	100%	Brak zakłóceń
Podłoże transportowe M6™ (Remel)	100%	Brak zakłóceń
Uniwersalne podłoże transportowe do wirusów (BD)	100%	Brak zakłóceń
<b>Molekularne podłoże transportowe (MTM) PrimeStore®</b>	<b>70% (v/v)</b>	<b>Brak zakłóceń</b>
System pobierania i transportowania próbek wirusów Sigma-Virocult™ (wacik i podłoże transportowe)	100%	Brak zakłóceń
System pobierania i dostarczania próbek wirusów Copan ESwab™ (wacik i ciekłe podłoże Amies)	100%	Brak zakłóceń

<sup>a</sup> Nie oceniano szczepionek donosowych na grypę (np. FluMist), lecz mogą zakłócać wynik testu w kierunku wirusa grypy typu A (z podtypami) i B.




















<sup>b</sup> Dla wielu analiz uzyskiwano wynik Not Detected (Nie wykryto) po inkubacji próbki z 2% roztworem wybielacza przez 10 minut lub przez noc. Wywnioskowano, że zakłócenia wynikają głównie z uszkodzenia drobnoustrojów / kwasów nukleinowych w próbce, a nie z hamowania lub zakłócenia działania saszetki.



**UWAGA: Nie oceniano zgodności oznaczenia BioFire RP2.1plus z próbką NPS w MTM PrimeStore® w warunkach użytkowania zgodnego z przeznaczeniem. MTM PrimeStore® i Sample Buffer (Bufor próbki) BioFire FilmArray zawierają sole guanidyny, które reagują z wybielaczem tworząc toksyczny gaz. W razie zastosowania wybielacza do dezynfekcji należy zachować ostrożność podczas pobierania lub oznaczania próbek NPS.**

# ZAŁĄCZNIK A

## Tabela Symboli

ISO 15223-1					
Wyroby medyczne — Symbole do stosowania na etykietach wyrobów medycznych, w ich oznakowaniu i w dostarczanych z nimi informacjach					
5.1.1 	Producent	5.1.2 	Autoryzowany przedstawiciel na terenie Wspólnoty Europejskiej	5.1.4 	Termin przydatności (RRRR-MM-DD)
5.1.5 	Kod serii (Numer partii)	5.1.6 	Numer katalogowy	5.1.7 	Numer seryjny
5.2.8 	Nie używać, jeśli opakowanie jest uszkodzone	5.3.2 	Przechowywać z dala od światła słonecznego	5.3.7 	Zakres temperatury
5.4.2 	Nie używać ponownie	5.4.3 	Zapoznać się z instrukcją obsługi	5.5.1 	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
5.5.5 	Zawartość wystarczająca do przeprowadzenia <n> testów				
Symbole stosowane na etykiecie — 81 FR 38911, wykaz nr (FDA-2013-N-0125)					
Rx Only	Wyłącznie do użytku profesjonalnego.				
Globalnie Zharmonizowany System Klasyfikacji i Oznakowania Chemikaliów (GHS) (ST/SG/AC.10/30)					
	Poważne uszkodzenie oczu, kat. 1		Toksyczność ostra, kat. 4 oraz podrażnienie skóry, kat. 2		Ostre zagrożenie dla środowiska wodnego kat.1 i & długoterminowe
Dyrektywa 98/79/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 27 października 1998 r. w sprawie wyrobów medycznych używanych do diagnozy in vitro oraz Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2017/746 z dnia 5 kwietnia 2017 r. w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro					
CE	Znak CE				
Symbole producenta (BioFire Diagnostics, LLC)					
	Symbol UWAGI oznacza porady dotyczące bardziej efektywnego stosowania testu BioFire RP2.1plus.				
	Zestaw BioFire RP2.1plus			Importer wyrobów do Unii Europejskiej	

## ZAŁĄCZNIK B

### Dane kontaktowe i prawne

Dział obsługi klienta i pomocy technicznej	
<p><b>Znajdź nas w Internecie</b></p> <p><a href="http://www.BioFireDX.com">http://www.BioFireDX.com</a></p> <p><b>Napisz do nas pocztą elektroniczną</b></p> <p><a href="mailto:support@BioFireDX.com">support@BioFireDX.com</a></p> <p><b>Napisz do nas pocztą tradycyjną</b></p> <p>515 Colorow Drive Salt Lake City, UT 84108 USA</p>	<p><b>Zadzwoń do nas</b></p> <p>1-800-735-6544 — numer bezpłatny (801) 736-6354 — Utah</p> <p><b>Prześlij faks</b></p> <p>(801) 588-0507</p>



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



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



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

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

© Copyright 2007–2020, BioFire Diagnostics, LLC. Wszelkie prawa zastrzeżone.

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

Oprogramowanie BioFire FilmArray, Detector oraz moduły oprogramowania Metacall © 2002–2020 BioFire Diagnostics, LLC.

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

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

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

### Informacje gwarancyjne

Informacje gwarancyjne dotyczące produktu są dostępne na stronie:

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

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

# ZALACZNIK C

## Bibliografia

1. Jones, M. S. *et al.* New adenovirus species found in a patient presenting with gastroenteritis. *J. Virol.* **81**, 5978–5984 (2007).
2. Lenaerts, L., De Clercq, E. & Naesens, L. Clinical features and treatment of adenovirus infections. *Rev. Med. Virol.* **18**, 357–374 (2008).
3. Centers for Disease Control and Prevention. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Immunization and Respiratory Diseases (NCIRD), Division of Viral Diseases (DVD) Web site. <http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/revb/respiratory/eadfeat.htm>.
4. Calder, J. A. M. *et al.* Adenovirus type 7 genomic-type variant, New York City, 1999. *Emerg. Infect. Dis.* **10**, 149–152 (2004).
5. Metzgar, D. *et al.* Abrupt emergence of diverse species B adenoviruses at US military recruit training centers. *J. Infect. Dis.* **196**, 1465–1473 (2007).
6. Russell, K. L. *et al.* Transmission dynamics and prospective environmental sampling of adenovirus in a military recruit setting. *J. Infect. Dis.* **194**, 877–885 (2006).
7. Corman, V. M., Muth, D., Niemeyer, D. & Drosten, C. Hosts and Sources of Endemic Human Coronaviruses. in *Advances in Virus Research* vol. Advances in Virus Research 163–188 (Elsevier, 2018).
8. Yang, Y. *et al.* The deadly coronaviruses: The 2003 SARS pandemic and the 2020 novel coronavirus epidemic in China. *J. Autoimmun.* **109**, 102434 (2020).
9. Zaki, A. M., Van Boheemen, S., Bestebroer, T. M., Osterhaus, A. D. & Fouchier, R. A. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N. Engl. J. Med.* **367**, 1814–1820 (2012).
10. Chan, J. F. *et al.* Middle East respiratory syndrome coronavirus: another zoonotic betacoronavirus causing SARS-like disease. *Clin. Microbiol. Rev.* **28**, 465–522 (2015).
11. Wu, Y. *et al.* SARS-CoV-2 is an appropriate name for the new coronavirus. *The Lancet* **395**, 949–950 (2020).
12. Cucinotta, D. & Vanelli, M. WHO Declares COVID-19 a Pandemic. *Acta Bio Medica Atenei Parm.* **91**, 157–160 (2020).
13. van der Hoek, L. *et al.* Croup is associated with the novel coronavirus NL63. *PLoS Med.* **2**, e240 (2005).
14. Kahn, J. S. & McIntosh, K. History and recent advances in coronavirus discovery. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **24**, S223–227, discussion S226 (2005).
15. Kuypers, J. *et al.* Clinical disease in children associated with newly described coronavirus subtypes. *Pediatrics* **119**, 70–76 (2007).
16. Yuen, K.-S., Ye, Z.-W., Fung, S.-Y., Chan, C.-P. & Jin, D.-Y. SARS-CoV-2 and COVID-19: The most important research questions. *Cell Biosci.* **10**, 40 (2020).
17. Petrosillo, N., Viceconte, G., Ergonul, O., Ippolito, G. & Petersen, E. COVID-19, SARS and MERS: are they closely related? *Clin. Microbiol. Infect.* S1198743X20301713 (2020) doi:10.1016/j.cmi.2020.03.026.
18. Eckerle, I., Müller, M. A., Kallies, S., Gotthardt, D. N. & Drosten, C. In-vitro renal epithelial cell infection reveals a viral kidney tropism as a potential mechanism for acute renal failure during Middle East Respiratory Syndrome (MERS) Coronavirus infection. *Virol J* **10**, 359 (2013).
19. Arabi, Y. M. *et al.* Clinical course and outcomes of critically ill patients with Middle East respiratory syndrome coronavirus infection. *Ann. Intern. Med.* **160**, 389–397 (2014).
20. Kahn, J. S. Epidemiology of human metapneumovirus. *Clin. Microbiol. Rev.* **19**, 546–557 (2006).
21. van den Hoogen, B. G. *et al.* A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med* **7**, 719–724 (2001).
22. Falsey, A. R., Erdman, D., Anderson, L. J. & Walsh, E. E. Human metapneumovirus infections in young and elderly adults. *J. Infect. Dis.* **187**, 785–790 (2003).
23. VAN DEN HOOGEN, B. G., OSTERHAUS, D. M. E. & FOUCHIER, R. A. M. Clinical impact and diagnosis of human metapneumovirus infection. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **23**, S25–S32 (2004).
24. Esper, F. *et al.* A 1-year experience with human metapneumovirus in children aged < 5 years. *J. Infect. Dis.* **189**, 1388–1396 (2004).
25. World Health Organization. WHO Fact Sheet No. 221, April, 2009. Influenza (Seasonal).
26. Bammer, L., Fukuda, A., Klimov, and N. Cox. Influenza. in *VPD Surveillance Manual* (2002).
27. Update: influenza activity - United States, August 30, 2009–March 27, 2010, and composition of the 2010–11 influenza vaccine. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **59**, 423–430 (2010).
28. Bammer, L., Fukuda, A., Klimov, and N. Cox. Influenza. in *VPD Surveillance Manual* (2002).
29. Morens, D. M., Taubenberger, J. K. & Fauci, A. S. Predominant role of bacterial pneumonia as a cause of death in pandemic influenza: implications for pandemic influenza preparedness. *J Infect Dis* **198**, 962–70 (2008).
30. Henrickson, K. J. Parainfluenza viruses. *Clin. Microbiol. Rev.* **16**, 242–264 (2003).

31. Senchi, K., Matsunaga, S., Hasegawa, H., Kimura, H. & Ryo, A. Development of oligomannose-coated liposome-based nasal vaccine against human parainfluenza virus type 3. *Front Microbiol* **4**, 346 (2013).
32. Lau, S. K. P. *et al.* Human parainfluenza virus 4 outbreak and the role of diagnostic tests. *J. Clin. Microbiol.* **43**, 4515–4521 (2005).
33. Fry, A. M. *et al.* Seasonal trends of human parainfluenza viral infections: United States, 1990–2004. *Clin. Infect. Dis.* **43**, 1016–1022 (2006).
34. Mohapatra, S. S. & Boyapalle, S. Epidemiologic, experimental, and clinical links between respiratory syncytial virus infection and asthma. *Clin. Microbiol. Rev.* **21**, 495–504 (2008).
35. Anderson, L. J., Hendry, R. M., Pierik, L. T., Tsou, C. & McIntosh, K. Multicenter study of strains of respiratory syncytial virus. *J. Infect. Dis.* **163**, 687–692 (1991).
36. Falsey, A. R. & Walsh, E. E. Respiratory syncytial virus infection in adults. *Clin. Microbiol. Rev.* **13**, 371–384 (2000).
37. Hall, C. B. Respiratory syncytial virus and parainfluenza virus. *N. Engl. J. Med.* **344**, 1917–1928 (2001).
38. Anzueto, A. & Niederman, M. S. Diagnosis and treatment of rhinovirus respiratory infections. *Chest* **123**, 1664–1672 (2003).
39. Jacques, J. *et al.* Epidemiological, molecular, and clinical features of enterovirus respiratory infections in French children between 1999 and 2005. *J. Clin. Microbiol.* **46**, 206–213 (2008).
40. Jacobs, S. E., Lamson, D. M., George, K. S. & Walsh, T. J. Human rhinoviruses. *Clin. Microbiol. Rev.* **26**, 135–162 (2013).
41. Sawyer, M. H. Enterovirus infections: diagnosis and treatment. *Curr. Opin. Pediatr.* **13**, 65–69 (2001).
42. Centers for Disease Control and Prevention. Centers for Disease Control and Prevention, Pertussis (Whooping Cough) Web Site.
43. World Health Organization. WHO Immunization, Vaccines, and Biologics; Pertussis Web Site.
44. Mattoo, S. & Cherry, J. D. Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to *Bordetella pertussis* and other *Bordetella* subspecies. *Clin. Microbiol. Rev.* **18**, 326–382 (2005).
45. Srugo, I. *et al.* Pertussis infection in fully vaccinated children in day-care centers, Israel. *Emerg. Infect. Dis.* **6**, 526–529 (2000).
46. Hahn, D. L., Azenabor, A. A., Beatty, W. L. & Byrne, G. I. Chlamydia pneumoniae as a respiratory pathogen. *Front. Biosci. J. Virtual Libr.* **7**, e66-76 (2002).
47. Grayston, J. T. Chlamydia pneumoniae, strain TWAR pneumonia. *Annu. Rev. Med.* **43**, 317–323 (1992).
48. Kuo, C. C., Jackson, L. A., Campbell, L. A. & Grayston, J. T. Chlamydia pneumoniae (TWAR). *Clin. Microbiol. Rev.* **8**, 451–461 (1995).
49. Peeling, R. W. & Brunham, R. C. Chlamydiae as pathogens: new species and new issues. *Emerg. Infect. Dis.* **2**, 307–319 (1996).
50. Outbreak of community-acquired pneumonia caused by *Mycoplasma pneumoniae*--Colorado, 2000. *Can. Commun. Dis. Rep. Relevé Mal. Transm. Au Can.* **27**, 104–107 (2001).
51. Klement, E. *et al.* Identification of risk factors for infection in an outbreak of *Mycoplasma pneumoniae* respiratory tract disease. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* **43**, 1239–1245 (2006).
52. Centers for Disease Control and Prevention. Centers for Disease Control and Prevention, Disease Listing: *Mycoplasma pneumoniae* Web Site.
53. Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions; NCCLS Approved Guideline. (2006).
54. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; NCCLS Approved Guideline. (2008).



## HISTORIA ZMIAN

Wersja	Data aktualizacji	Opis zmian(y)
01	Lipiec 2020 r	Wydanie pierwsze

# INDEKS

Zastosowanie .....	1
Przeznaczenie .....	1
Kompetencje użytkownika i środowisko użytkowania .....	2
Podsumowanie i objaśnienie testu .....	3
Opis wykrywanych drobnoustrojów .....	3
Zasada procedury .....	5
Materiały dostarczane .....	6
Materiały wymagane, ale niedostarczane .....	6
Ostrzeżenia i środki ostrożności .....	6
Ogólne środki ostrożności .....	6
Środki ostrożności dotyczące bezpieczeństwa .....	7
Środki ostrożności dotyczące laboratorium .....	8
Przestrogi związane ze zgłaszaniem do organów zdrowia publicznego .....	9
Środki ostrożności związane z rozporządzeniem REACH (WE 1907/2006) .....	9
Przechowywanie, stabilność oraz praca z odczynnikami .....	10
Wymagania dotyczące próbek .....	10
Procedura .....	11
Etap 1: Przygotowanie saszetki .....	11
Etap 2: Uwadnianie saszetki .....	11
Etap 3: Przygotowanie mieszaniny próbki .....	12
Etap 4: Wprowadzanie mieszaniny próbki .....	13
Etap 5: Wykonywanie cyklu saszetki .....	13
Kontrola jakości .....	16
Kontrole procesowe .....	16
Monitorowanie działania systemu testowego .....	16
Kontrole zewnętrzne .....	16
Interpretacja wyników .....	17
Interpretacja wyników oznaczenia .....	17
Interpretacja drobnoustroju .....	17
Raport z testu BioFire RP2.1 <i>plus</i> .....	19
Ograniczenia .....	22
BioFire RP2.1 <i>PLUS</i> i BioFire RP2 <i>PLUS</i> .....	25
Wartości oczekiwane .....	25

Charakterystyka skuteczności.....	28
Skuteczność kliniczna oznaczenia BioFire RP2.1 <i>plus</i> SARS-CoV-2 i porównanie z oznaczeniem BioFire RP2 <i>plus</i> ....	28
Kliniczna skuteczność testu BioFire RP2 <i>plus</i> (oznaczenia zachowane w BioFire RP2.1 <i>plus</i> ) .....	30
Granica wykrywalności.....	38
Reaktywność analityczna (zakres testu) .....	40
Specyficzność analityczna (reaktywność krzyżowa).....	46
Odtwarzalność.....	49
Zakłócenia .....	53
Załącznik A.....	55
Tabela Symboli.....	55
Załącznik B.....	56
Dane kontaktowe i prawne.....	56
Informacje gwarancyjne .....	56
Załącznik C.....	57
Bibliografia.....	57
Historia zmian.....	59
Indeks.....	60