

Kwiecień 2022 r.

QIAstat-Dx[®]

Meningitis/Encephalitis (ME)

Panel — instrukcja użycia (instrukcja obsługi)



Wersja 1

Do diagnostyki *in vitro*



691611



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, NIEMCY



1126985PL

Spis treści

Przeznaczenie	4
Podsumowanie i objaśnienie	6
Opis kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge	6
Informacje o patogenie	8
Zasada procedury	10
Opis procesu	10
Pobieranie próbek i ładowanie ich do kasety	11
Przygotowanie próbki, amplifikacja i detekcja kwasu nukleinowego	12
Dostarczane materiały	13
Zawartość zestawu	13
Materiały wymagane, ale niedostarczane	14
Ostrzeżenia i środki ostrożności	15
Informacje dotyczące bezpieczeństwa	15
Środki ostrożności podczas pracy w laboratorium	17
Przechowywanie i sposób postępowania z odczytnikami	18
Przechowywanie, przygotowywanie i sposób postępowania z próbkami	18
Procedura	19
Kontrola wewnętrzna	19
Protokół: próbki płynu mózgowo-rdzeniowego	19
Interpretacja wyników	31
Wyświetlanie wyników	31

Wyświetlanie krzywych amplifikacji	33
Interpretacja wyników	43
Interpretacja kontroli wewnętrznej	43
Kontrola jakości	44
Ograniczenia	44
Parametry skuteczności	47
Skuteczność kliniczna	47
Skuteczność analityczna	52
Załącznik A: Instalacja pliku definicji oznaczenia.....	78
Załącznik B: Słowniczek	81
Załącznik C: Wyłączenia odpowiedzialności	82
Literatura	83
Symbole	84
Historia zmian instrukcji użycia (instrukcji obsługi)	86

Przeznaczenie

Panel QIAstat-Dx Meningitis/Encephalitis (ME) Panel („QIAstat-Dx ME Panel”) to jakościowy multipleksowy diagnostyczny test *in vitro* oparty na identyfikacji kwasów nukleinowych przeznaczony do użycia z systemem QIAstat-Dx System. Panel QIAstat-Dx ME Panel umożliwia jednoczesną detekcję i identyfikację kwasów nukleinowych wielu bakterii, wirusów i drożdży w próbkach płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR) pobranych poprzez nakłucie łądżwiowe od pacjentów z objawami przedmiotowymi i/lub podmiotowymi zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i/lub zapalenia mózgu.

Za pomocą panelu QIAstat-Dx ME Panel można wykryć i zidentyfikować następujące mikroorganizmy/wirusy: *Escherichia coli* K1, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis* (otoczkowa), *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, wirus opryszczki pospolitej 1, wirus opryszczki pospolitej 2, ludzki herpeswirus 6, enterowirus, ludzki parechowirus, wirus ospy wietrznej i półpaśca oraz *Cryptococcus neoformans/gattii**.

Panel QIAstat-Dx ME Panel jest przeznaczony do stosowania pomocniczo podczas rozpoznawania konkretnych czynników wywołujących zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i/lub zapalenie mózgu. Wyniki uzyskane przy użyciu panelu należy analizować w połączeniu z pozostałymi danymi klinicznymi, epidemiologicznymi i laboratoryjnymi. Wyniki uzyskane przy użyciu panelu QIAstat-Dx ME Panel nie mogą być traktowane jako wyłączna podstawa do postawienia diagnozy, wyboru leczenia ani podejmowania innych decyzji dotyczących terapii pacjenta. Pozytywne wyniki nie wykluczają koinfekcji mikroorganizmami lub wirusami, które nie są wykrywane przez panel QIAstat-Dx ME Panel. Wykryte czynniki chorobotwórcze mogą nie być bezpośrednią przyczyną choroby. Negatywne wyniki nie wykluczają zakażenia ośrodkowego układu nerwowego (OUN).

* Gatunki grzybów *Cryptococcus neoformans* oraz *Cryptococcus gattii* nie są rozróżniane.

Za pomocą tego testu nie można wykryć wszystkich czynników, które wywołują zakażenie OUN. Ponadto czułość testu może różnić się od wartości podanej na ulotce dołączonej do opakowania w zależności od zastosowania klinicznego.

Panel QIAstat-Dx ME Panel nie jest przeznaczony do testowania próbek pobranych poprzez wyroby medyczne wprowadzane na stałe do OUN pacjenta.

Panel QIAstat-Dx ME Panel jest przeznaczony do użycia w połączeniu z metodami stosowanymi w ramach standardowej opieki (np. hodowlą mikroorganizmów, serotypowaniem i badaniem lekowrażliwości drobnoustrojów).

Panel QIAstat-Dx ME Panel jest przeznaczony do diagnostyki *in vitro*, do użytku wyłącznie przez wykwalifikowany personel laboratorium.

Podsumowanie i objaśnienie

Opis kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge

Kaseta QIAstat-Dx ME Panel Cartridge to jednorazowy wyrób z tworzywa sztucznego, za pomocą którego można wykonywać w pełni zautomatyzowane oznaczenia molekularne przeznaczone do detekcji i identyfikacji kwasów nukleinowych wielu czynników chorobotwórczych bezpośrednio z próbek PMR. Do głównych zalet kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge należą: możliwość analizowania próbek płynnych, hermetyczne zamknięcie fabrycznie załadowanych odczynników niezbędnych do wykonania testów oraz w pełni zautomatyzowana praca, niewymagająca nadzoru ze strony użytkownika. Wszystkie etapy przygotowania próbki i wykonania oznaczeń odbywają się w kasecie.

Wszystkie odczynniki wymagane do przeprowadzenia całego testu są fabrycznie załadowane i szczelnie zamknięte w kasecie QIAstat-Dx ME Panel Cartridge. Użytkownik nie ma kontaktu z odczynnikami ani nie musi nimi manipulować. W trakcie testu odczynniki są obsługiwane w obrębie kasety w module analitycznym analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0 za pośrednictwem sterowanego pneumatycznie układu mikroprzepływowego i nie mają bezpośredniego kontaktu z elementami wykonawczymi. Analizator QIAstat-Dx Analyzer 1.0 zawiera filtry powietrza wchodzącego i wychodzącego, które dodatkowo dbają o bezpieczeństwo w najbliższym otoczeniu analizatora. Po zakończeniu testów kaseta pozostaje szczelnie zamknięta przez cały czas, co znacznie zwiększa bezpieczeństwo użytkowników na etapie utylizacji kaset.

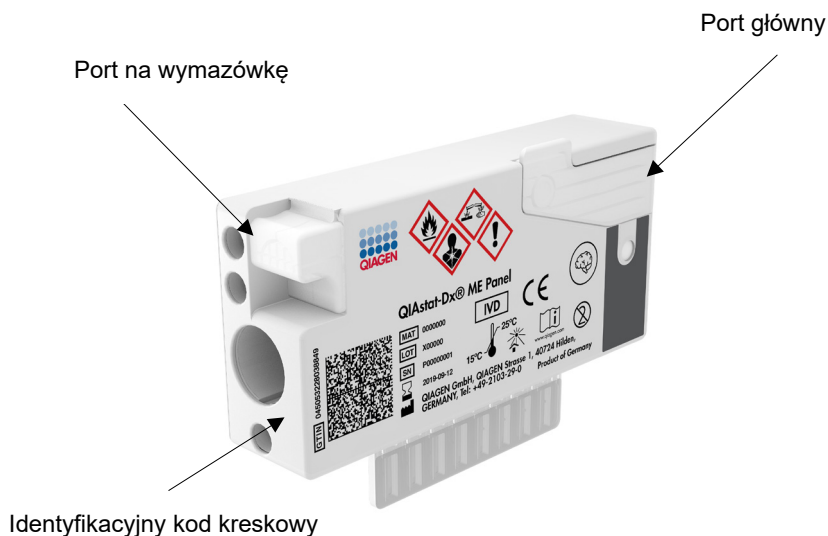
W kasecie kilka etapów jest wykonywanych automatycznie i sekwencyjnie z wykorzystaniem ciśnienia w układzie pneumatyki, które powoduje przeniesienie próbek i płynów przez komorę transferową do miejsc docelowych.

Po włożeniu kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge zawierającej próbkę do analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0 automatycznie wykonywane są następujące etapy oznaczenia:

- Zawieszenie kontroli wewnętrznej.
- Liza komórek przy użyciu metod mechanicznych i chemicznych.

- Oczyszczanie kwasów nukleinowych na membranie.
- Mieszanie oczyszczonego kwasu nukleinowego z liofilizowanymi odczynnikami mieszaniny Master Mix.
- Przenoszenie zdefiniowanych porcji eluatu/mieszaniny Master Mix do różnych komór reakcyjnych.
- Wykonanie testu metodą multipleks real-time RT-PCR w każdej komorze reakcyjnej.

Uwaga: Zwiększenie fluorescencji, oznaczające detekcję docelowego analitu, jest wykrywane bezpośrednio w każdej komorze reakcyjnej.



Ryc. 1. Układ kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge i jej elementów

Uwaga: Port na wymazówkę nie jest używany podczas wykonywania oznaczenia przy użyciu panelu QIAstat-Dx ME Panel.

Informacje o patogenie

Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i zapalenie mózgu to stany potencjalnie wyniszczające dla organizmu i mogą być związane ze znaczącą zachorowalnością i śmiertelnością (1). Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych jest definiowane jako stan zapalny opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenie mózgu jest definiowane jako stan zapalny miąższu mózgu, natomiast zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu jest definiowane jako stan zapalny obejmujący obie lokalizacje. Wszystkie te stany mogą być wywoływane przez bakterie, wirusy i grzyby, przy czym zapalenie mózgu jest głównie związane z etiologią wirusową (2). Prezentacja kliniczna jest zwykle niecharakterystyczna; pacjenci często odczuwają ból głowy i doświadczają zaburzeń psychicznych, natomiast w przypadku zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, również sztywności karku. Wczesne rozpoznanie jest kluczowe, ponieważ objawy mogą pojawić się nagle i szybko się nasilać, prowadząc do uszkodzeń mózgu, utraty słuchu i/lub mowy, ślepoty lub nawet śmierci. Forma leczenia jest zależna od czynnika wywołującego chorobę, dlatego identyfikacja konkretnego patogenu jest niezbędna w celu odpowiedniego dostosowania leczenia.

Kaseta QIAstat-Dx ME Panel Cartridge umożliwia detekcję 15 docelowych patogenów bakteryjnych, wirusowych i grzybiczych, wywołujących objawy przedmiotowe i/lub podmiotowe zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i/lub zapalenia mózgu. Do przeprowadzenia testu wystarczy mała objętość próbki oraz poświęcenie minimalnej ilości czasu, a wyniki są dostępne w mniej niż 80 minut.

W Tabeli 1 wymieniono patogeny, które można wykryć i zidentyfikować za pomocą panelu QIAstat-Dx ME Panel.

Tabela 1. Patogeny wykrywane przez panel QIAstat-Dx ME Panel

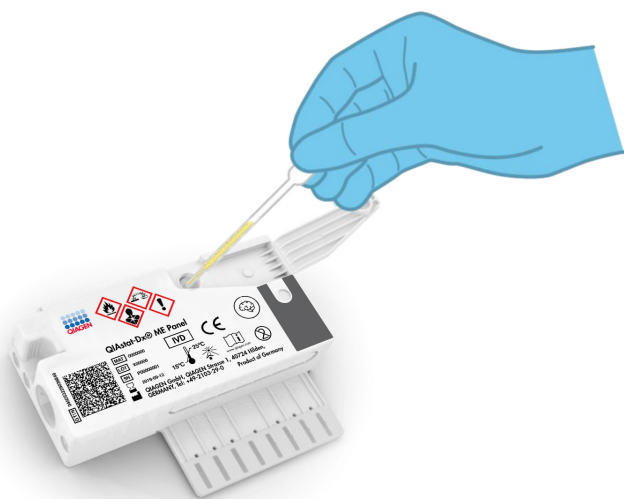
Patogen	Klasyfikacja (rodzaj kwasu nukleinowego)
<i>Escherichia coli</i> K1	Bakteria (DNA)
<i>Haemophilus influenzae</i>	Bakteria (DNA)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Bakteria (DNA)
<i>Neisseria meningitidis</i> (otoczkowa)	Bakteria (DNA)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Bakteria (DNA)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Bakteria (DNA)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Bakteria (DNA)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Bakteria (DNA)
Wirus opryszczki pospolitej typu 1	Herpeswirus (DNA)
Wirus opryszczki pospolitej typu 2	Herpeswirus (DNA)
Ludzki wirus opryszczki typu 6	Herpeswirus (DNA)
Enterowirus	Pikornawirus (RNA)
Ludzki parechowirus	Pikornawirus (RNA)
Wirus ospy wietrznej i półpaśca	Herpeswirus (DNA)
<i>Cryptococcus gattii</i> / <i>Cryptococcus neoformans</i>	Drożdże (DNA)

Zasada procedury

Opis procesu

Testy diagnostyczne wykonywane za pomocą panelu QIAstat-Dx ME Panel są przeprowadzane w analizatorze QIAstat-Dx Analyzer 1.0. Wszystkie etapy przygotowania i analizowania próbki są wykonywane automatycznie przez analizator QIAstat-Dx Analyzer 1.0. Próbki są pobierane i ładowane ręcznie do kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge.

Do dozowania próbki do portu głównego używana jest pipeta transferowa (Ryc. 2).



Ryc. 2. Dozowanie próbki do portu głównego

Pobieranie próbek i ładowanie ich do kasety

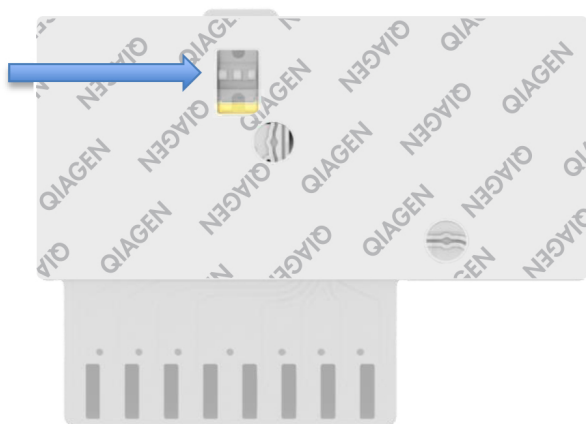
Pobieranie próbek i ładowanie ich do kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge powinno być wykonywane przez personel przeszkolony w zakresie bezpiecznego postępowania z próbkami biologicznymi.

Na tę część procedury składają się następujące etapy, które musi wykonać użytkownik:

1. Pobranie próbki płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR).
2. Ręczne zapisanie informacji o próbce lub przyklejenie etykiety próbki na górną powierzchnię kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge.
3. Ręczne załadowanie próbki PMR do kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge.

Przeniesienie 200 μ l próbki do portu głównego kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge za pomocą jednej z dostarczonych pipet transferowych. Jeśli wszystkie pipety dostarczone z zestawem (sześć pipet) zostaną wykorzystane, należy użyć innych sterylnych pipet z podziałką.

Uwaga: Podczas ładowania próbki PMR należy wzrokowo sprawdzić okienko kontroli próbki (patrz ilustracja poniżej), aby upewnić się, że próbka płynna została załadowana (Ryc. 3).



Ryc. 3. Okienko kontroli próbki (niebieska strzałka)

4. Zeskanowanie kodu kreskowego próbki i kodu QR kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge w analizatorze QIAstat-Dx Analyzer 1.0.
5. Włożenie kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge do analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0.
6. Rozpoczęcie testu w analizatorze QIAstat-Dx Analyzer 1.0.

Przygotowanie próbki, amplifikacja i detekcja kwasu nukleinowego

Izolacja, amplifikacja i detekcja kwasów nukleinowych w próbce jest wykonywana automatycznie przez analizator QIAstat-Dx Analyzer 1.0.

1. Próbka jest homogenizowana, a komórki są poddawane lizie w komorze do lizy kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge, w której znajduje się rotor, obracający się z dużą prędkością.
2. Kwasy nukleinowe są oczyszczane z próbki, która została poddana lizie, w komorze do oczyszczania kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge poprzez przyłączenie ich do membrany krzemionkowej w obecności soli chaotropowych i alkoholu.
3. W komorze do oczyszczania oczyszczone kwasy nukleinowe są eluowane z membrany, a następnie mieszane z liofilizowanymi odczynnikami do reakcji PCR w komorze suchych odczynników kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge.
4. Mieszanina próbki i odczynników do reakcji PCR jest rozdzielana do komór do reakcji PCR kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge, w których znajdują się liofilizowane startery i sondy swoiste dla danego oznaczenia.
5. Analizator QIAstat-Dx Analyzer 1.0 doprowadza układ do optymalnych profili temperaturowych wymaganych do przeprowadzenia efektywnej reakcji multipleks real-time RT-PCR i w czasie rzeczywistym mierzy fluorescencję w celu wykreślenia krzywych amplifikacji.
6. Oprogramowanie analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0 interpretuje otrzymane dane i wyniki kontroli procesu, a następnie generuje raport z testu.

Dostarczane materiały

Zawartość zestawu

QIAstat-Dx ME Panel	
Nr katalogowy	691611
Liczba testów	6
QIAstat-Dx ME Panel Cartridge*	6
Transfer pipettes (Pipety transferowe)†	6

* 6 oddzielnie zapakowanych kaset zawierających wszystkie odczynniki niezbędne do przygotowania próbki i przeprowadzenia reakcji multiplex real-time RT-PCR oraz wykonania kontroli wewnętrznej.

† 6 oddzielnie zapakowanych pipet transferowych do dozowania próbki płynnej do kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge.

Materiały wymagane, ale niedostarczane

Panel QIAstat-Dx ME Panel jest przeznaczony do użycia z analizatorem QIAstat-Dx Analyzer 1.0. Przed rozpoczęciem testu należy upewnić się, że dostępne jest następujące wyposażenie:

- analizator QIAstat-Dx Analyzer 1.0 (co najmniej jeden moduł obsługowy i jeden moduł analityczny) z oprogramowaniem w wersji 1.4 lub wyższej;
- *podręcznik użytkownika analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0* (do użytku z oprogramowaniem w wersji 1.4 lub wyższej);
- najnowsze oprogramowanie pliku definicji oznaczenia QIAstat-Dx dla panelu QIAstat-Dx ME Panel zainstalowane w module obsługowym.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

Do diagnostyki *in vitro*.

Panel QIAstat-Dx ME Panel jest przeznaczony do stosowania przez wykwalifikowany personel laboratorium przeszkolony w zakresie obsługi analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0.

Informacje dotyczące bezpieczeństwa

Podczas pracy ze środkami chemicznymi należy zawsze nosić odpowiedni fartuch laboratoryjny, rękawiczki jednorazowe i okulary ochronne. Zawsze podczas pracy z próbkami należy chronić skórę, oczy i błony śluzowe oraz często zmieniać rękawiczki. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z odpowiednimi kartami charakterystyki (Safety Data Sheet, SDS). Są one dostępne online w formacie PDF pod adresem **www.qiagen.com/safety**. Na tej stronie można wyszukiwać, wyświetlać i drukować karty charakterystyki dla wszystkich zestawów i składników zestawów firmy QIAGEN.

Z próbkami, zużytymi kasetami i pipetami transferowymi należy postępować tak, jak z materiałami potencjalnie zakaźnymi. Zawsze należy przestrzegać środków ostrożności opisanych w odpowiednich wytycznych, na przykład w wytycznych *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* (M29) wydanych przez instytut Clinical and Laboratory Standards Institute® (CLSI) lub w innych odpowiednich dokumentach.

Należy przestrzegać procedur bezpiecznego postępowania z próbkami biologicznymi obowiązujących w instytucji. Próbki, kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge i pipety transferowe należy usuwać zgodnie z odpowiednimi przepisami.

Kaseta QIAstat-Dx ME Panel Cartridge jest zamkniętym wyrobem jednorazowego użytku, który zawiera wszystkie odczynniki niezbędne do przygotowania próbki i przeprowadzenia reakcji multipleks real-time RT-PCR w analizatorze QIAstat-Dx Analyzer 1.0. Jeśli kaseta QIAstat-Dx ME Panel Cartridge wygląda na uszkodzoną lub wycieka z niej płyn, nie należy jej używać. Zużyte lub uszkodzone kasety należy utylizować zgodnie ze wszystkimi krajowymi, regionalnymi i lokalnymi regulacjami i przepisami w zakresie ochrony zdrowia i bezpieczeństwa.

Należy przestrzegać standardowych procedur laboratoryjnych w zakresie utrzymywania czystości i zapobiegania skażeniu obszaru roboczego. Wytyczne są określone w publikacjach takich jak podręcznik *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* wydany przez centra Centers for Disease Control and Prevention oraz instytuty National Institutes of Health (www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/biosfty.htm).

Do elementów panelu QIAstat-Dx ME Panel mają zastosowanie następujące zwroty wskazujące na zagrożenia i określające środki ostrożności.



Zawiera: etanol; chlorowodorek guanidyny; tiocyjanian guanidyny; izopropanol; proteinazę K; t-oktylofenoksylietoksyetanol. Niebezpieczeństwo! Wysoce łatwopalna ciecz i opary. Działa szkodliwie po połknięciu lub w następstwie wdychania. Może działać szkodliwie w kontakcie ze skórą. Powoduje poważne oparzenia skóry i uszkodzenie wzroku. Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania. Może powodować senność lub zawroty głowy. Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy. Działa żrąco na drogi oddechowe. Przechowywać z dala od źródeł ciepła/iskier/otwartego ognia/gorących powierzchni. Nie palić papierosów. Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgiełki/par/rozpylonej cieczy. Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. Stosować indywidualne środki ochrony dróg oddechowych. W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są założone i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. W PRZYPADKU narażenia lub problemów: Niezwłocznie skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem. Wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania.

Środki ostrożności podczas pracy w laboratorium

Aby nie dopuścić do skażenia próbki lub obszaru roboczego, należy postępować zgodnie ze standardowymi laboratoryjnymi procedurami bezpieczeństwa i czyszczenia, w tym z zachowaniem następujących środków bezpieczeństwa:

- Próbki należy przetwarzać w komorze bezpieczeństwa biologicznego lub w obrębie podobnego typu obszaru czystego, zapewniającym bezpieczeństwo podczas pracy użytkownika. W przypadku braku komory bezpieczeństwa biologicznego podczas przygotowywania próbek należy używać zamkniętej komory bez obiegu powietrza (np. stacja robocza do reakcji PCR firmy AirClean), osłony przeciwozbyrzgowej (np. osłony przeciwozbyrzgowe firmy Bel-Art Scienceware) lub przyłbicy.
- Komora bezpieczeństwa biologicznego, w której wykonywano badania patogenów obecnych w PMR (np. hodowlę mikroorganizmów) nie może być używana podczas przygotowywania próbek lub ładowania próbek do kasety.
- Przed rozpoczęciem przetwarzania próbek należy dokładnie wyczyścić obszar roboczy przy użyciu odpowiedniego środka czyszczącego takiego jak świeżo przygotowany wybielacz w stężeniu 10% lub środek dezynfekujący o podobnych właściwościach. Aby uniknąć gromadzenia się pozostałości środków czyszczących i tym samym możliwości uszkodzenia próbki lub wystąpienia zakłóceń podczas wykonywania oznaczenia spowodowanych obecnością tych środków, zdezynfekowaną powierzchnię należy wytrzeć wodą.
- Nie należy jednocześnie wykonywać działań związanych z przetwarzaniem próbek i kaset.
- W celu wyjęcia materiałów ze zbiorczych worków opakowaniowych należy nałożyć czyste rękawiczki. Nieużywane zbiorcze worki opakowaniowe należy szczelnie zamknąć.
- Każdorazowo przed przystąpieniem do pracy z nową próbką należy nałożyć nowe, czyste rękawiczki i wyczyścić obszar roboczy.
- Zużyte kasety należy usuwać natychmiast po zakończeniu cyklu do odpowiedniego pojemnika na odpady stwarzające zagrożenie biologiczne.

- Po zakończeniu testu należy maksymalnie ograniczyć kontakt z kasetami.
- Uważać, aby nie uszkodzić kasety.
- W celu wyjęcia materiałów ze zbiorczych pudeł opakowaniowych należy nałożyć czyste rękawiczki. Nieużywane zbiorcze pudła opakowaniowe należy zamknąć.

Przechowywanie i sposób postępowania z odczynnikami

Kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge należy przechowywać w suchym, czystym miejscu, w temperaturze pokojowej (15–25°C). Nie wyjmować kaset QIAstat-Dx ME Panel Cartridge ani pipet transferowych z osobnych opakowań aż do momentu, gdy będzie konieczne ich użycie. Kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge mogą być przechowywane w takich warunkach do daty ważności nadrukowanej na opakowaniu każdej z nich. Data ważności jest również zawarta w kodzie kreskowym kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge i jest odczytywana przez analizator QIAstat-Dx Analyzer 1.0 w momencie włożenia kasety do urządzenia w celu wykonania testu.

Przechowywanie, przygotowywanie i sposób postępowania z próbkami

Zalecane procedury określają sposób pobierania próbek PMR i postępowania z nimi.

Zalecane jest, aby próbki PMR były przechowywane w temperaturze pokojowej (15–25°C) przez maksymalnie 12 godzin.

Procedura

Kontrola wewnętrzna

Kaseta QIAstat-Dx ME Panel Cartridge zawiera materiał do kontroli wewnętrznej całego procesu w postaci drożdży (grzybów) z gatunku *Schizosaccharomyces pombe* o znanym mianie. Organizm grzybiczy został zawarty w kasecie w postaci suchej i jest uwadniany podczas ładowania próbki. Materiał do kontroli wewnętrznej służy do weryfikacji wszystkich etapów procedury analitycznej, na którą składa się homogenizacja próbki, liza struktur wirusowych i komórkowych (rozerwanie przy użyciu metod chemicznych i mechanicznych), oczyszczenie i odwrotna transkrypcja kwasu nukleinowego oraz przeprowadzenie reakcji real-time PCR.

Pozytywny sygnał otrzymany dla kontroli wewnętrznej oznacza, że wszystkie etapy przetwarzania próbki wykonywane przez kasetę QIAstat-Dx ME Panel Cartridge zostały zakończone powodzeniem.

Negatywny sygnał otrzymany dla kontroli wewnętrznej nie unieważnia wszelkich pozytywnych wyników (wykrytych i zidentyfikowanych patogenów), ale unieważnia wszystkie wyniki negatywne uzyskane podczas analizy. Z tego względu, jeśli dla kontroli wewnętrznej otrzymano sygnał negatywny, należy powtórzyć test.

Protokół: próbki płynu mózgowo-rdzeniowego

Pobieranie, transport i przechowywanie próbek

Próbki PMR należy pobierać poprzez nakłucie lędźwiowe. Próbek nie należy wirować.

Ładowanie próbki do kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge

1. Dokładnie wyczyścić obszar roboczy; najpierw należy wytrzeć powierzchnię świeżo przygotowanym wybielaczem w stężeniu 10% (lub odpowiednim środkiem dezynfekującym), a następnie przemyć ją wodą.
2. Otworzyć opakowanie kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge, rozdzierając je wzdłuż nacięcia na bokach (Ryc. 4).

WAŻNE: Po otwarciu opakowania należy umieścić próbkę w kasecie QIAstat-Dx ME Panel Cartridge i załadować kasetę do analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0 w ciągu 120 minut.



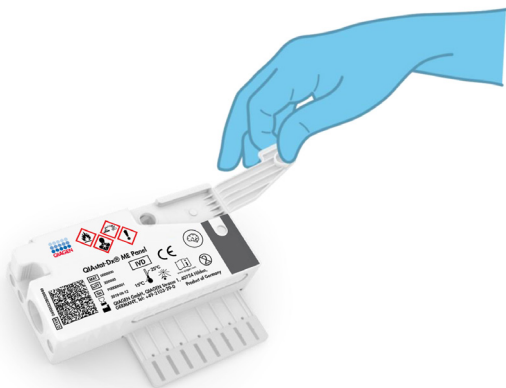
Ryc. 4. Otwieranie kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge

3. Wyciągnąć kasetę QIAstat-Dx ME Panel Cartridge z opakowania i skierować ją etykietą z kodem kreskowym do siebie.
4. Ręcznie zapisać informacje o próbce lub umieścić etykietę z informacjami o próbce na górnej części kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge. Upewnić się, że etykieta jest prawidłowo ułożona i nie uniemożliwia otwarcia pokryw (Ryc. 5).



Ryc. 5. Lokalizacja informacji o próbce na górnej części kasety QIAstat-Dx Meningitis/Encephalitis Panel Cartridge.

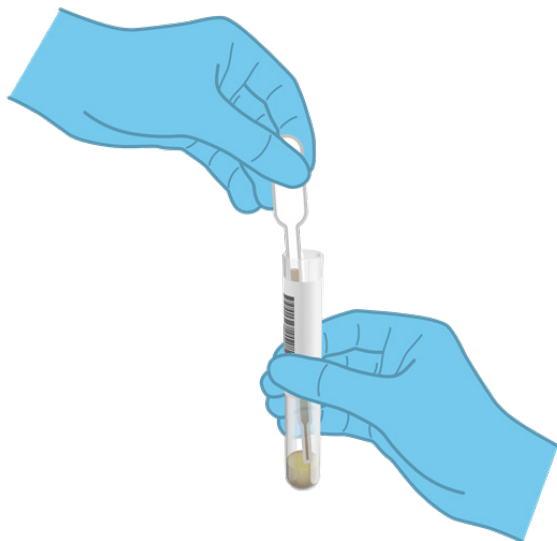
5. Otworzyć pokrywę próbek portu głównego z przodu kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge (Ryc. 6).



Ryc. 6. Otwieranie pokryw próbek portu głównego

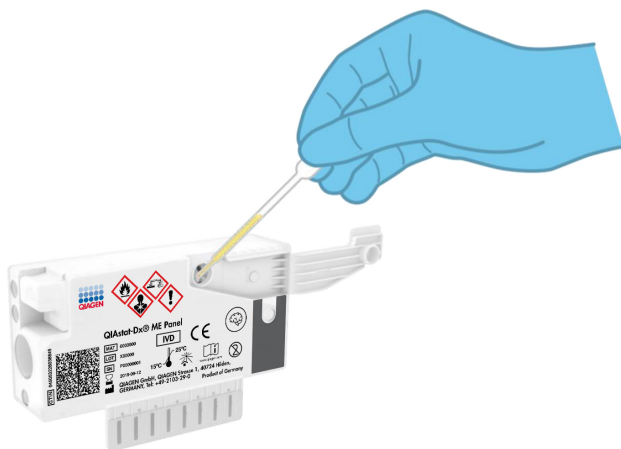
6. Otworzyć probówkę z próbką, która ma zostać przetestowana. Używając dostarczonej pipety transferowej, pobrać płyn do drugiej kreski na pipecie (tj. 200 μ l) (Ryc. 7).

WAŻNE: Należy uważać, aby nie pobrać do pipety pęcherzyków powietrza. Jeśli do pipety zostaną pobrane pęcherzyki powietrza, ostrożnie wlać pobraną próbkę z powrotem do probówki, a następnie ponownie pobrać płyn.



Ryc. 7. Pobieranie próbki do dostarczonej pipety transferowej

7. Ostrożnie przenieść 200 μ l próbki do portu głównego kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge, używając dostarczonej pipety transferowej jednorazowego użytku (Ryc. 8).



Ryc. 8. Przenoszenie próbki do portu głównego kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge

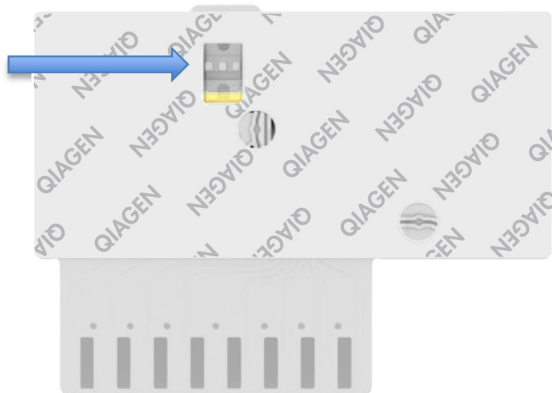
8. Szczelnie zamknąć pokrywę portu głównego, aż do usłyszenia kliknięcia (Ryc. 9).



Ryc. 9. Zamykanie pokrywę głównego portu

9. Obejrzeć okienko kontroli próbki kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge w celu potwierdzenia, że próbka została załadowana (Ryc. 10).

WAŻNE: Po wprowadzeniu próbki do kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge kasetę należy załadować do analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0 w ciągu 90 minut.



Ryc. 10. Okienko kontroli próbki (niebieska strzałka)

Uruchamianie analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0

1. Włączyć analizator QIAstat-Dx Analyzer 1.0, naciskając przycisk **Wł./wył.** znajdujący się na przedniej ściance analizatora.

Uwaga: Przełącznik zasilania, który znajduje się na tylnej ściance modułu analitycznego, musi być ustawiony w pozycji „I”. Wskaźniki stanu analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0 zmienią kolor na niebieski.

2. Poczekać, aż zostanie wyświetlony **ekran główny**, a wskaźniki stanu analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0 zmienią kolor na zielony i przestaną migać.
3. Zalogować się do analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0, wprowadzając nazwę użytkownika i hasło.

Uwaga: Jeśli włączona jest funkcja **User Access Control** (Kontrola dostępu użytkowników), pojawi się ekran **Login** (Logowanie). Jeśli funkcja **User Access Control** (Kontrola dostępu użytkowników) jest wyłączona, nie będzie wymagane wprowadzenie nazwy użytkownika/hasła i zostanie wyświetlony **ekran główny**.

4. Jeśli w analizatorze QIAstat-Dx Analyzer 1.0 nie zostało zainstalowane oprogramowanie pliku definicji oznaczenia, przed uruchomieniem testu należy postępować zgodnie z instrukcjami instalacji (dodatkowe informacje zawiera Załącznik A: Instalacja pliku definicji oznaczenia, strona 78).

Wykonywanie testu

1. Nacisnąć przycisk **Run Test** (Uruchom test) w prawym górnym rogu ekranu dotykowego analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0.
2. Po wyświetleniu monitu zeskanować kod kreskowy id. próbki, który znajduje się na probówce z próbką PMR, lub zeskanować kod kreskowy informacji o próbce umieszczony na górnej części kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge (patrz krok 3), używając przedniego czytnika kodów kreskowych wbudowanego w analizator QIAstat-Dx Analyzer 1.0 (Ryc. 11).

Uwaga: Id. próbki można również wprowadzić po wybraniu pola **Sample ID** (Id. próbki), używając klawiatury wirtualnej na ekranie dotykowym.

Uwaga: W zależności od wybranej konfiguracji systemu na tym etapie może być również wymagane wprowadzenie id. pacjenta.

Uwaga: Instrukcje analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0 są wyświetlane na **pasku instrukcji** na dole ekranu dotykowego.



Ryc. 11. Skanowanie kodu kreskowego id. próbki

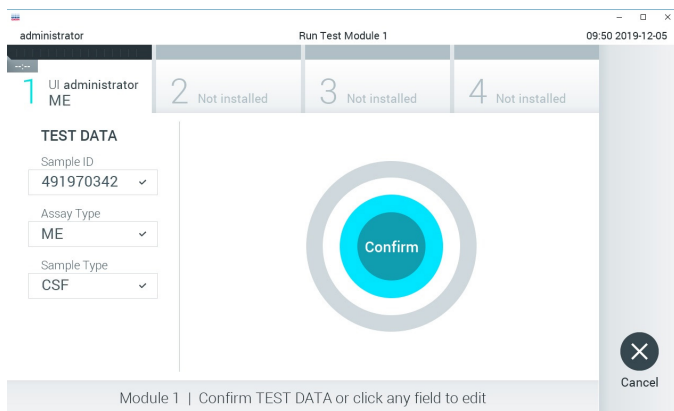
3. Po wyświetleniu monitu zeskanować kod kreskowy kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge, która będzie używana (Ryc. 12). Analizator QIAstat-Dx Analyzer 1.0 — na podstawie kodu kreskowego kasety — automatycznie rozpozna oznaczenie, które będzie wykonywane.

Uwaga: Analizator QIAstat-Dx Analyzer 1.0 nie zaakceptuje kaset QIAstat-Dx ME Panel Cartridge, których data ważności minęła, kaset wcześniej użytych, ani kaset przeznaczonych do oznaczeń, które nie są zainstalowane w analizatorze. W takich przypadkach zostanie wyświetlony komunikat o błędzie, a kasetka QIAstat-Dx ME Panel Cartridge zostanie odrzucona. Szczegółowe informacje dotyczące instalowania oznaczeń znajdują się w *Podręczniku użytkownika analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0*.



Ryc. 12. Skanowanie kodu kreskowego kasety QIAstat-Dx Meningitis/Encephalitis Panel Cartridge

4. Zostanie wyświetlony ekran **Confirm** (Potwierdzenie). Na tym ekranie należy przejrzeć wprowadzone dane oraz wprowadzić wszelkie niezbędne zmiany, wybierając odpowiednie pola na ekranie dotykowym i zmieniając informacje.
5. Jeśli wszystkie wyświetlane dane są poprawne, nacisnąć przycisk **Confirm** (Potwierdź). W razie potrzeby wybrać odpowiednie pole, aby zmodyfikować jego zawartość, albo nacisnąć przycisk **Cancel** (Anuluj), aby anulować test (Ryc. 13).



Ryc. 13. Potwierdzanie wprowadzonych danych

6. Należy upewnić się, że obie pokrywy próbek, portu na wymazówkę i portu głównego kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge, są prawidłowo zamknięte. Gdy nastąpi automatyczne otwarcie portu wejściowego dla kaset na wierzchu analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0, należy wprowadzić kasetę QIAstat-Dx ME Panel Cartridge w taki sposób, aby kod kreskowy był skierowany w lewo, a komory reakcyjne w dół (Ryc. 14).

Uwaga: Kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge nie należy wpychać do analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0. Należy ją poprawnie umieścić w porcie wejściowym dla kaset, a analizator QIAstat-Dx Analyzer 1.0 automatycznie przeniesie kasetę do modułu analitycznego.

Uwaga: Port na wymazówkę nie jest używany podczas wykonywania oznaczenia przy użyciu panelu QIAstat-Dx ME Panel.



Ryc. 14. Wprowadzanie kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge do analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0

7. Po wykryciu kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge analizator QIAstat-Dx Analyzer 1.0 automatycznie zamknie pokrywę portu wejściowego dla kaset i rozpocznie wykonywanie testu. Operator nie musi wykonywać żadnych dalszych czynności w celu uruchomienia testu.

Uwaga: Analizator QIAstat-Dx Analyzer 1.0 nie zaakceptuje kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge innej niż użyta i zeskanowana podczas konfiguracji testu. Jeśli zostanie wprowadzona kasetka inna niż zeskanowana, wówczas zostanie wygenerowany błąd i nastąpi automatyczne wysunięcie kasetki.

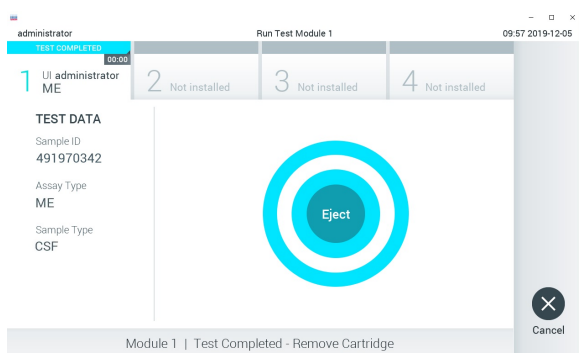
Uwaga: Do tego momentu możliwe jest anulowanie testu poprzez naciśnięcie przycisku **Cancel** (Anuluj) w prawym dolnym rogu ekranu dotykowego.

Uwaga: W zależności od konfiguracji systemu w celu uruchomienia testu konieczne może być ponowne wprowadzenie hasła użytkownika.

Uwaga: Jeśli w porcie nie zostanie umieszczona kasetka QIAstat-Dx ME Panel Cartridge, pokrywa portu wejściowego dla kaset zostanie automatycznie zamknięta po 30 sekundach. W takim przypadku należy powtórzyć procedurę od kroku 18.

8. Gdy wykonywane są testy, czas pozostały do ukończenia serii jest wyświetlany na ekranie dotykowym.
9. Po wykonaniu testu zostanie wyświetlony ekran **Eject** (Wysuwanie) (Ryc. 15 na kolejnej stronie), a na **pasku stanu modułu** będzie wyświetlony jeden z następujących wyników testu:
- **TEST COMPLETED** (Test ukończony): Test został pomyślnie ukończony.
 - **TEST FAILED** (Niepowodzenie testu): Podczas wykonywania testu wystąpił błąd.
 - **TEST CANCELED** (Test anulowany): Użytkownik anulował test.

WAŻNE: W przypadku niepowodzenia testu należy skontaktować się z serwisem technicznym.



Ryc. 15. Widok ekranu Eject (Wysuwanie)

10. Nacisnąć przycisk **Eject** (Wysuń) na ekranie dotykowym, aby wyjąć kasetę QIAstat-Dx ME Panel Cartridge i usunąć ją jako odpad stanowiący zagrożenie biologiczne zgodnie z krajowymi, regionalnymi i lokalnymi regulacjami i przepisami w zakresie ochrony zdrowia i bezpieczeństwa. Kasetę QIAstat-Dx ME Panel Cartridge należy wyjąć, gdy nastąpi otwarcie portu wejściowego dla kaset i wysunie się z niego kasetę. Jeśli kasetę nie zostanie wyciągnięta w ciągu 30 sekund, zostanie automatycznie wsunięta z powrotem do analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0, a pokrywa portu wejściowego dla kaset zostanie zamknięta. Jeśli do tego dojdzie, należy nacisnąć przycisk **Eject** (Wysuń), aby ponownie otworzyć pokrywę portu wejściowego dla kaset i wyjąć kasetę.

WAŻNE: Zużyte kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge należy usunąć. Nie można ponownie użyć kasety, w której rozpoczęto wykonywanie testu, a następnie go anulowano, lub kasety, w której podczas wykonywania testu wystąpił błąd.

11. Po wysunięciu kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge zostanie wyświetlony ekran **Summary** (Podsumowanie) zawierający podsumowanie wyników. Aby rozpocząć proces wykonywania kolejnego testu, należy nacisnąć przycisk **Run Test** (Uruchom test).

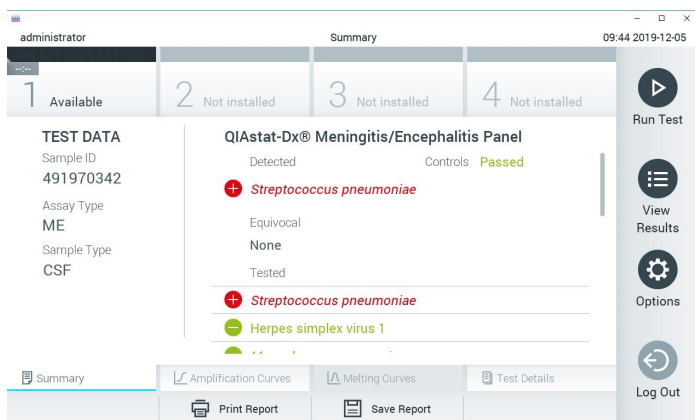
Uwaga: Szczegółowe informacje dotyczące obsługi analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0 znajdują się w *podręczniku użytkownika analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0*.

Interpretacja wyników

UWAGA: Ryciny zawarte w tej części przedstawiające zrzuty ekranu analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0 mają służyć jedynie jako przykład i nie przedstawiają wyników uzyskanych dla konkretnych patogenów przy użyciu panelu QIAstat-Dx ME Panel.




Wyświetlanie wyników

Analizator QIAstat-Dx Analyzer 1.0 automatycznie interpretuje i zapisuje wyniki testów. Po wysunięciu kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge następuje automatyczne wyświetlenie ekranu **Summary** (Podsumowanie) zawierającego podsumowanie wyników (Ryc. 16).



Ryc. 16. Przykładowy ekran Summary (Podsumowanie) dotyczący wyników przedstawiający dane Test Data (Dane testu) na lewym panelu oraz podsumowanie testu na głównym panelu

Główna część ekranu zawiera następujące listy, a wyniki są na nich oznaczone odpowiednimi kolorami i symbolami:

- Pierwsza lista, pod nagłówkiem **Detected** (Wykryte), zawiera nazwy wszystkich patogenów wykrytych i zidentyfikowanych w próbce — pozycje na tej liście mają kolor czerwony i są poprzedzone znakiem .
- Druga lista, pod nagłówkiem **Equivocal** (Niejednoznaczne), nie jest używana. Za pomocą panelu QIAstat-Dx ME Panel nie można uzyskać wyniku niejednoзначnego, dlatego lista **Equivocal** (Niejednoznaczne) zawsze będzie pusta.
- Trzecia lista, pod nagłówkiem **Tested** (Testowane), zawiera nazwy wszystkich patogenów, pod kątem których badano próbkę. Nazwy patogenów, które zostały wykryte i zidentyfikowane w próbce, mają kolor czerwony i są poprzedzone znakiem . Nazwy patogenów, pod kątem których próbka była testowana, ale które nie zostały wykryte, mają kolor zielony i są poprzedzone znakiem . Na tej liście wyświetlane są również nazwy patogenów, dla których otrzymano nieważny wynik.

Uwaga: Nazwy patogenów wykrytych i zidentyfikowanych w próbce są wyświetlane na liście **Detected** (Wykryte) oraz na liście **Tested** (Testowane).

Jeśli test zostanie zakończony niepowodzeniem, zostanie wyświetlony komunikat **Failed** (Niepowodzenie), a następnie określony będzie kod błędu.

Po lewej stronie ekranu widoczne są następujące dane Test Data (Dane testu):


- Sample ID (Id. próbki)
- Patient ID (Id. pacjenta) (jeśli jest dostępny)
- Assay Type (Typ oznaczenia)
- Sample Type (Rodzaj próbki)

Do szczegółowych danych dotyczących oznaczenia (np. wykresów amplifikacji i szczegółów testu) można uzyskać dostęp, w zależności od praw dostępu użytkownika, przy użyciu kart na dole ekranu.

Raport z danymi oznaczenia można wyeksportować na zewnętrzny nośnik danych USB. W tym celu należy wyłożyć pamięć USB do jednego z portów USB analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0 i nacisnąć przycisk **Save Report** (Zapisz raport) na dolnym pasku ekranu. Raport można wyeksportować w dowolnym momencie, wybierając test z listy **View Result** (Wyświetl wynik).

Raport można również przesłać do drukarki, naciskając przycisk **Print Report** (Drukuj raport) na dolnym pasku ekranu.

Wyświetlanie krzywych amplifikacji

Aby wyświetlić krzywe amplifikacji wykrytych patogenów dla danego testu, należy nacisnąć kartę  **Amplification Curves** (Krzywe amplifikacji) (Ryc. 17).



Ryc. 17. Ekran Amplification Curves (Krzywe amplifikacji) (zakładka PATHOGENS (Patogeny))

Szczegóły dotyczące testowanych patogenów i kontroli są przedstawione po lewej stronie, a krzywe amplifikacji na środku.

Uwaga: Jeśli w analizatorze QIAstat-Dx Analyzer 1.0 jest włączona funkcja **User Access Control** (Kontrola dostępu użytkowników), ekran **Amplification Curves** (Krzywe amplifikacji) jest dostępny tylko dla operatorów, którzy posiadają odpowiednie prawa dostępu.

Aby wyświetlić wykresy odpowiadające testowanym patogenom, należy nacisnąć kartę **PATHOGENS** (Patogeny) dostępną po lewej stronie. Następnie nacisnąć nazwy patogenów, aby wybrać patogeny, które zostaną przedstawione na wykresie amplifikacji. Możliwe jest wybranie jednego patogenu, wielu patogenów, jak również można nie wybierać żadnego patogenu. Każdemu patogenowi na liście wybranych zostanie przypisany kolor odpowiadający krzywej amplifikacji powiązanej z tym patogenem. Niewybrane patogeny są wyświetlane w kolorze szarym.

Odpowiadające wartości C_T i fluorescencji w punkcie końcowym (Endpoint Fluorescence, EP) są przedstawione poniżej nazw poszczególnych patogenów.

Aby wyświetlić kontrole na wykresie amplifikacji, należy nacisnąć kartę **CONTROLS** (Kontrole) dostępną po lewej stronie. Aby wybrać kontrolę lub anulować jej wybór, należy nacisnąć ikonę okręgu obok nazwy kontroli (Ryc. 18).




Ryc. 18. Ekran Amplification Curves (Krzywe amplifikacji) (zakładka CONTROLS (Kontrole))

Na wykresie amplifikacji zostanie wyświetlona krzywa danych dla wybranych patogenów lub kontroli. Aby przełączać skalę logarytmiczną i liniową dla osi Y, należy nacisnąć przycisk **Lin** (Liniowa) lub **Log** (Logarytmiczna) w lewym dolnym rogu wykresu.

Skalę osi X i Y można dostosować, używając ● **niebieskich selektorów** na każdej osi. **Niebieski selektor** należy nacisnąć i przytrzymać, a następnie przesunąć w żądane miejsce na osi. W celu przywrócenia wartości domyślnych należy przesunąć **niebieski selektor** na początek osi.

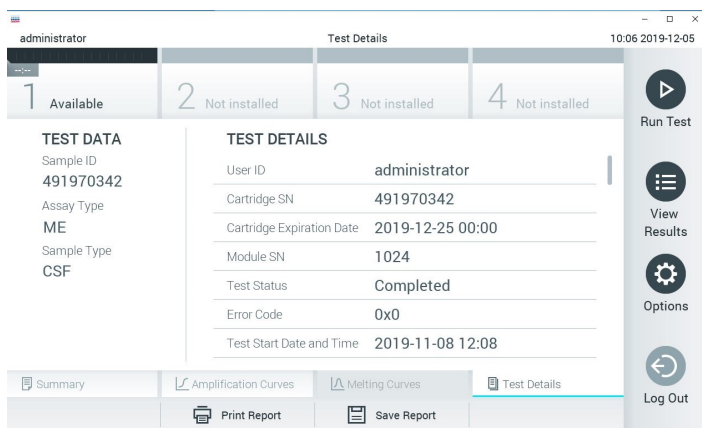
Wyświetlanie szczegółów testu

Aby przeglądać szczegółowe wyniki, należy nacisnąć przycisk  **Test Details** (Szczegóły testu) na pasku menu karty, który znajduje się na dole ekranu dotykowego. W celu przejrzania całego raportu należy przewinąć treść w dół.

Na środku ekranu wyświetlane są następujące informacje Test Details (Szczegóły testu) (Ryc. 19):


- User ID (Id. użytkownika)
- Cartridge SN (Nr seryjny kasety)
- Cartridge Expiration Date (Data ważności kasety)
- Module SN (Nr seryjny modułu)
- Test Status (Stan testu) (Completed (Ukończony), Failed (Niepowodzenie), Canceled by operator (Anulowany przez operatora))
- Error Code (Kod błędu) (jeśli dotyczy)
- Test Start Date and Time (Data i godzina rozpoczęcia testu)
- Test Execution Time (Czas wykonania testu)
- Assay Name (Nazwa oznaczenia)
- Test ID (Id. testu)
- Test Result (Wynik testu):

- **Positive** (Pozytywny) (jeśli wykryto/zidentyfikowano co najmniej jeden patogen wywołujący zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych/mózgu);
- **Negative** (Negatywny) (jeśli nie wykryto żadnego patogenu wywołującego zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych/mózgu);
- **Failed** (Niepowodzenie) (jeśli wystąpił błąd lub użytkownik anulował test).
- W przypadku sygnału pozytywnego: lista analitów badanych w oznaczeniu, z wartością C_T i fluorescencją w punkcie końcowym
- Internal Control (Kontrola wewnętrzna), z wartością C_T i fluorescencją w punkcie końcowym



Ryc. 19. Przykładowy ekran przedstawiający dane Test Data (Dane testu) w lewym panelu i dane Test Details (Szczegóły testu) w głównym panelu

Przeglądanie wyników wcześniejszych testów

Aby wyświetlić wyniki poprzednich testów, które są zapisane w repozytorium wyników, należy nacisnąć ikonę  **View Results** (Wyświetl wyniki) na pasku menu głównego (Ryc. 20).

Sample ID	Assay	Operator ID	Mod	Date/Time	Result
491970342	ME	administrator	1	2019-12-05 09:57	pos
491730233	ME	administrator	1	2019-11-18 09:58	neg
491730221	ME	administrator	1	2019-11-18 09:56	neg
491730213	GI	administrator	1	2019-11-18 09:18	pos
492280659	GI	administrator	1	2019-11-15 16:10	pos

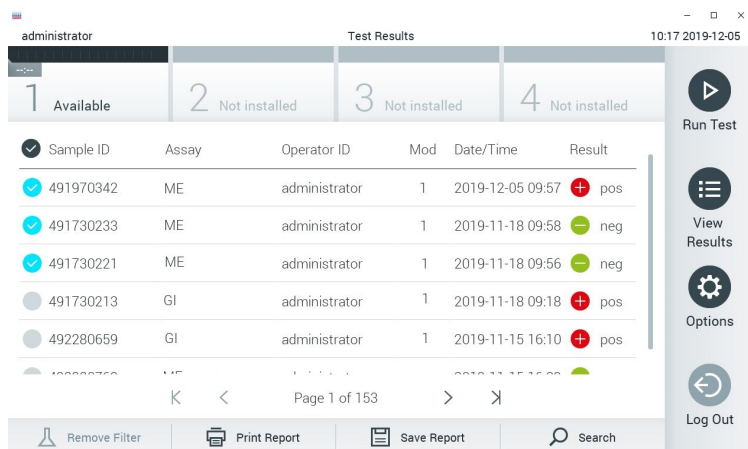
Ryc. 20. Przykładowy ekran View Results (Wyświetl wyniki)

Następujące informacje są dostępne w odniesieniu do każdego wykonanego testu (Ryc. 21):

- Sample ID (Id. próbki)
- Assay (Oznaczenie) (nazwa oznaczenia — „ME”; nazwa odnosi się do panelu do oznaczania patogenów wywołujących zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych lub zapalenie mózgu)
- Operator ID (Id. operatora)
- Mod (moduł analityczny, na którym test został wykonany)
- Date/Time (Data/Godzina) (data i godzina zakończenia testu)
- Result (Wynik) (rezultat testu: pozytywny [pos], negatywny [neg], zakończony niepowodzeniem [fail] lub zakończony powodzeniem [suc])

Uwaga: Jeśli w analizatorze QIAstat-Dx Analyzer 1.0 jest włączona funkcja **User Access Control** (Kontrola dostępu użytkowników), dane, do których użytkownik nie ma praw dostępu, będą ukryte, a zamiast nich będą widoczne znaki gwiazdek.

Należy wybrać co najmniej jeden wynik testu, naciskając ikonę szarego **okręgu** po lewej stronie id. próbki. Obok wybranego wyniku pojawi się znak wyboru. Aby anulować wybór wyniku testu, należy nacisnąć ten znak wyboru. W celu wybrania wszystkich wyników z listy należy nacisnąć ikonę **✓ okręgu ze znakiem wyboru** w górnym wierszu (Ryc. 21).








Ryc. 21. Przykład wybierania wyników testów na ekranie View Results (Wyświetl wyniki)

Aby wyświetlić wynik konkretnego testu, należy nacisnąć w dowolnym miejscu w wierszu testu.

Naciśnięcie nagłówka kolumny (np. **Sample ID** (Id. próbki)) umożliwi posortowanie listy w kolejności rosnącej lub malejącej według parametru widocznego w nagłówku. Listę można posortować według tylko jednej kolumny naraz.

Kolumna **Result** (Wynik) przedstawia wyniki poszczególnych testów (Tabela 2).

Tabela 2. Opis wyników testu dostępnych na ekranie View Results (Wyświetl wyniki)

Rezultat	Wynik	Opis	Działanie
(Positive) Pozytywny	 pos	Co najmniej jeden patogen dał wynik pozytywny	Przejdź do ekranu Summary Result (Podsumowanie wyników) lub zapoznać się z wydrukiem z wynikami, aby uzyskać informacje na temat wyników konkretnych patogenów.
Positive with warning (Pozytywny z ostrzeżeniem)	 pos*	Co najmniej jeden patogen dał wynik pozytywny, ale oznaczenie kontroli wewnętrznej zakończyło się niepowodzeniem	Przejdź do ekranu Summary Result (Podsumowanie wyników) lub zapoznać się z wydrukiem z wynikami, aby uzyskać informacje na temat wyników konkretnych patogenów.
Negative (Negatywne)	 neg	Nie wykryto żadnych analizów	Przejdź do ekranu Summary Result (Podsumowanie wyników) lub zapoznać się z wydrukiem z wynikami, aby uzyskać informacje na temat wyników konkretnych patogenów.
Failed (Niepowodzenie)	 fail	Niepowodzenie testu z powodu wystąpienia błędu, anulowania testu przez użytkownika lub niewykrycia patogenu i niepowodzenia kontroli wewnętrznej.	Ponownie wykonać test przy użyciu nowej kasety. Należy zaakceptować wyniki powtórnie wykonanego testu. Jeśli błąd będzie nadal występował, należy skontaktować się z serwisem technicznym firmy QIAGEN, aby uzyskać dalsze instrukcje.
Successful (Powodzenie)	 Suc	Test ma wynik pozytywny lub negatywny, ale użytkownik nie ma praw dostępu wymaganych do wyświetlenia wyniku testu.	Należy zalogować się z konta użytkownika posiadającego uprawnienia do wyświetlania wyników.

Naciśnięcie ikony **Save Report** (Zapisz raport) powoduje zapisanie raportu dla wybranego wyniku w formacie PDF na zewnętrznym urządzeniu pamięci masowej USB.


Należy wybrać typ raportu: List of Tests (Lista testów) lub Test Reports (Raporty z testu).

Przycisk **Search** (Wyszukaj) pozwala wyszukiwać wyniki testów według parametrów Sample ID (Id. próbki), Assay (Oznaczenie) oraz Operator ID (Id. Operatora). Wyszukiwany ciąg znaków należy wprowadzić za pomocą klawiatury wirtualnej, a następnie nacisnąć klawisz **Enter**, aby rozpocząć wyszukiwanie. W wynikach wyszukiwania będą wyświetlane tylko te rekordy, które zawierają wyszukiwany tekst.

Jeśli zawartość listy wyników została odfiltrowana, wówczas wyszukiwanie obejmie tylko zawartość pozostałą po filtrowaniu.

Aby zastosować filtr oparty na konkretnym parametrze, należy nacisnąć i przytrzymać nagłówek kolumny. W przypadku niektórych parametrów, takich jak **Sample ID** (Id. próbki), pojawi się wirtualna klawiatura, dzięki czemu możliwe będzie wprowadzenie wyszukiwanego ciągu znaków dla filtru.

W przypadku pozostałych parametrów, takich jak **Assay** (Oznaczenie), zostanie otwarte okno dialogowe z listą oznaczeń zapisanych w repozytorium. Należy wybrać co najmniej jedno oznaczenie, aby odfiltrować zawartość i pozostawić tylko testy, które zostały wykonane z wybranymi oznaczeniami.






Symbol  po lewej stronie nagłówka kolumny oznacza, że aktywny jest filtr tej kolumny.

Filtr można usunąć, naciskając przycisk **Remove Filter** (Usuń filtr) na pasku menu podrzędnego.

Eksportowanie wyników do pamięci USB

Aby wyeksportować kopię wyników testu i zapisać ją w formacie PDF w pamięci USB, na dowolnej karcie ekranu **View Results** (Wyświetl wyniki) należy wybrać opcję **Save Report** (Zapisz raport) (Ryc. 22–Ryc. 24). Port USB znajduje się na przedniej ściance analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0. Sposób interpretacji wyników z pliku PDF przedstawiono w poniższej tabeli.

Tabela 3. Interpretacja wyników testu dostępnych w raporcie w formacie PDF.

	Rezultat	Symbol	Opis
Wynik dla patogenu	Detected (Wykryto)		Wykryto patogen
	Not Detected (Nie wykryto)	Brak symbolu	Nie wykryto patogenu
	Invalid (Nieważny)	Brak symbolu	Oznaczenie kontroli wewnętrznej zakończyło się niepowodzeniem; dla tego materiału docelowego <u>nie</u> udało się uzyskać prawidłowego wyniku, dlatego należy ponownie przetestować próbkę
Status testu	Completed (Zakończony)		Test został zakończony; wykryto kontrolę wewnętrzną i/lub co najmniej jeden patogen docelowy
	Failed (Niepowodzenie)		Niepowodzenie testu
Kontrolne wewnętrzne	Passed (Powodzenie)		Doszło do wykrycia kontroli wewnętrznej
	Failed (Niepowodzenie)		Oznaczenie kontroli wewnętrznej zakończyło się niepowodzeniem



QIAstat-Dx® Meningitis/Encephalitis Panel



www.qiagen.com

TEST REPORT

Patient ID Sample ID m30-3x Test Time 2021-12-08 09:53

Detected **Enterovirus**
 Human herpes virus 6

User administrator Test Status Completed
Internal Controls Passed

RESULT DETAILS

Ct / EP

Viruses	Detected	Enterovirus	19.5 / 651,083
	Not detected	Herpes simplex virus 1	- / -
	Not detected	Herpes simplex virus 2	- / -
	Not detected	Human parechovirus	- / -
	Detected	Human herpes virus 6	32.8 / 450,326
	Not detected	Varicella zoster virus	- / -
Bacteria	Not detected	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	- / -
	Not detected	<i>Neisseria meningitidis</i>	- / -
	Not detected	<i>Streptococcus agalactiae</i>	- / -
	Not detected	<i>Listeria monocytogenes</i>	- / -
	Not detected	<i>Haemophilus influenzae</i>	- / -
	Not detected	<i>Escherichia coli K1</i>	- / -
	Not detected	<i>Streptococcus pyogenes</i>	- / -
	Not detected	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	- / -
Fungi & Yeast	Not detected	<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	- / -
Controls	Detected	IC	31.8 / 368,769

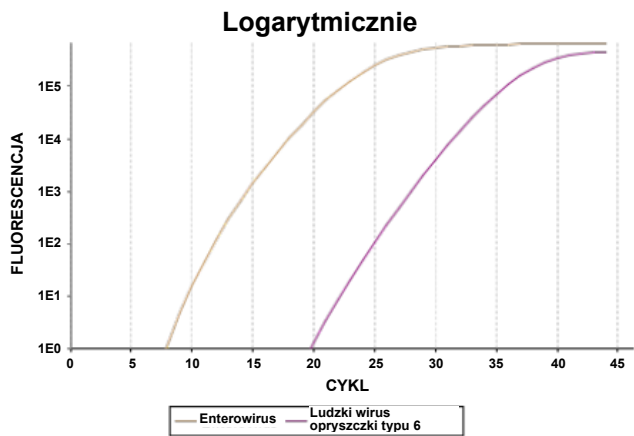
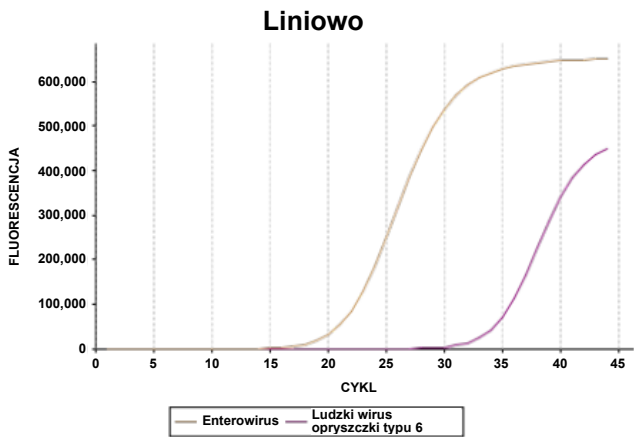
Ryc. 22. Raport z badania próbki

TEST DETAILS

Assay ME Cartridge SN 512900123 SN Operational module 20719052
v1.1 Cartridge LOT 210290 SN Analytical module 10221072
Sample CSF Expiration Date 2022-03-09 SW Version 1.4.0 build 5

Error None

Ryc. 23. Raport z badania próbki zawierający szczegółowe informacje na temat testu



Ryc. 24. Raport z badania próbki zawierający dane oznaczenia.

Drukowanie wyników

Należy upewnić się, że analizator QIAstat-Dx Analyzer 1.0 jest połączony z drukarką i zainstalowany jest odpowiedni sterownik. Aby wysłać kopię wyników testu w formacie PDF do drukarki, należy nacisnąć przycisk **Print Report** (Drukuj raport).

Interpretacja wyników

Wynik dotyczący danego mikroorganizmu/wirusa wywołującego zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych/mózgu jest interpretowany jako **Positive** (Pozytywny), gdy odpowiednie oznaczenie wykorzystujące reakcję PCR da wynik pozytywny.

Interpretacja kontroli wewnętrznej

Wyniki kontroli wewnętrznej należy interpretować zgodnie z Tabelą 4.

Tabela 4. Interpretacja wyników kontroli wewnętrznej

Wynik kontroli	Wyjaśnienie	Działanie
Passed (Powodzenie)	Amplifikacja kontroli wewnętrznej została zakończona powodzeniem	Test zakończył się pomyślnie. Wszystkie wyniki są prawidłowe i można je zgłosić. Dla wykrytych patogenów zgłoszono wynik pozytywny , a dla niewykrytych — wynik negatywny .
Failed (Niepowodzenie)	Oznaczenie kontroli wewnętrznej zakończyło się niepowodzeniem	Dla wykrytych patogenów zgłoszono wynik pozytywny, ale wszystkie negatywne wyniki (wykonano analizę, ale nie wykryto patogenów) są nieważne. Należy powtórzyć testy, używając nowej kasety QIAstat-Dx Meningitis/Encephalitis Panel Cartridge.

Kontrola jakości

Zgodnie z poświadczonym certyfikatem ISO systemem zarządzania jakością firmy QIAGEN każda seria panelu QIAstat-Dx ME Panel jest testowana pod kątem wstępnie ustalonych specyfikacji w celu zapewnienia spójnej jakości produktu.

Ograniczenia

- Wyniki uzyskane za pomocą panelu QIAstat-Dx ME Panel nie mogą być traktowane jako wyłączna podstawa do postawienia diagnozy, wyboru leczenia lub podejmowania innych decyzji dotyczących terapii pacjenta.
- Pozytywne wyniki nie wykluczają koinfekcji mikroorganizmami lub wirusami, które nie są wykrywane przez panel QIAstat-Dx ME Panel. Wykryte czynniki chorobotwórcze mogą nie być bezpośrednią przyczyną choroby. Negatywne wyniki nie wykluczają zakażenia ośrodkowego układu nerwowego (OUN), ponieważ niniejsze oznaczenie nie umożliwia wykrycia wszystkich potencjalnych czynników etiologicznych, jak również patogeny wykrywane przez panel QIAstat-Dx ME Panel mogą występować w próbcie w stężeniach niższych niż granica wykrywalności systemu.
- Za pomocą tego testu nie można wykryć wszystkich czynników, które wywołują zakażenie OUN. Ponadto czułość testu może różnić się od wartości podanej na ulotce dołączonej do opakowania w zależności od zastosowania klinicznego.
- Panel QIAstat-Dx ME Panel nie jest przeznaczony do testowania próbek pobranych poprzez wyroby medyczne wprowadzane na stałe do OUN pacjenta.
- Negatywny wynik otrzymany za pomocą panelu ME Panel nie wyklucza zakaźnego charakteru choroby. Otrzymanie negatywnego wyniku oznaczenia może być spowodowane różnymi czynnikami i ich kombinacjami, w tym nieprawidłowym postępowaniem z próbką, zmiennościami w sekwencjach kwasów nukleinowych, które są sekwencjami docelowymi dla oznaczenia, zakażeniem mikroorganizmami, których nie obejmuje oznaczenie, stężeniem mikroorganizmów, które obejmuje oznaczenie, będącym poniżej granicy wykrywalności oznaczenia oraz stosowaniem określonych leków, terapii lub środków.

- Panel QIAstat-Dx ME Panel nie jest przeznaczony do badania próbek innych niż te opisane w niniejszej instrukcji użycia. Parametry skuteczności testu zostały ustalone wyłącznie na podstawie próbek PMR.
- Panel QIAstat-Dx ME Panel jest przeznaczony do użycia w połączeniu z metodami stosowanymi w ramach standardowej opieki (np. hodowlą mikroorganizmów, serotypowaniem i badaniem lekowrażliwości drobnoustrojów). Wyniki uzyskane za pomocą panelu QIAstat-Dx ME Panel muszą być interpretowane przez przeszkolonych wykwalifikowanych pracowników służby zdrowia w kontekście wszystkich istotnych danych klinicznych, laboratoryjnych i epidemiologicznych.
- Panel QIAstat-Dx ME Panel może być używany wyłącznie z analizatorem QIAstat-Dx Analyzer 1.0*.
- Panel QIAstat-Dx ME Panel jest oznaczeniem jakościowym i nie dostarcza informacji o ilości wykrytych organizmów/wirusów.
- Kwasy nukleinowe bakterii, wirusów i grzybów mogą być obecne w warunkach in vivo, nawet jeśli mikroorganizm/wirus nie jest żywy lub zdolny do zakażenia. Wykrycie docelowego markera nie oznacza, że dany mikroorganizm jest czynnikiem chorobotwórczym wywołującym zakażenie lub objawy kliniczne.
- Wykrycie kwasów nukleinowych bakterii, wirusów lub grzybów jest zależne od prawidłowego pobrania próbki, postępowania z próbką, transportu, przechowywania i załadunku próbki do kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge. Nieprawidłowe wykonanie któregoś z powyższych procesów może spowodować otrzymanie nieprawidłowych wyników, w tym fałszywie pozytywnych lub fałszywie negatywnych wyników.

* Zamiast analizatorów QIAstat-Dx Analyzer 1.0 można używać analizatorów DiagCORE Analyzer z oprogramowaniem QIAstat-Dx w wersji 1.4 lub wyższej.

- Czulość i swoistość oznaczenia na obecność określonych mikroorganizmów oraz wszystkich mikroorganizmów w połączeniu to wewnętrzne parametry skuteczności danego oznaczenia, które nie zależą od współczynnika chorobowości. Natomiast dodatnia wartość predykcyjna oraz ujemna wartość predykcyjna zależy od współczynnika chorobowości (liczba chorych w danej chwili na konkretną chorobę/zakażonych konkretnym mikroorganizmem). Należy zauważyć, że wyższy współczynnik chorobowości sprzyja dodatniej wartości predykcyjnej, a niższy współczynnik chorobowości sprzyja ujemnej wartości predykcyjnej wyniku testu.
- Przypadkowe zanieczyszczenie próbki PMR bakterią *Propionibacterium acnes* — powszechnym komensalem należącym do flory fizjologicznej skóry — może spowodować, że dla patogenu docelowego *Mycoplasma pneumoniae* wykrywanego przez panel QIAstat-Dx ME Panel zostanie wygenerowany nieoczekiwany sygnał (słabo pozytywny). Przestrzeganie standardowych zasad postępowania z próbkami PMR powinno zapobiec temu potencjalnemu zanieczyszczeniu.
- Wyniki uzyskane podczas badania koinfekcji w ramach weryfikacji parametrów analitycznych wskazują na możliwość inhibicji detekcji wirusa HSV1 w przypadku obecności bakterii *S. pneumoniae* w tej samej próbce. Efekt ten zaobserwowano nawet przy niskich stężeniach bakterii *S. pneumoniae*, dlatego należy zachować ostrożność podczas interpretacji wyników negatywnych uzyskanych dla wirusa HSV1 w próbkach pozytywnych względem bakterii *S. pneumoniae*. Odwrotnego efektu (inhibicja detekcji bakterii *S. pneumoniae* w przypadku obecności wirusa HSV1 w tej samej próbce) nie zaobserwowano nawet przy najwyższym badanym stężeniu wirusa HSV1 (1,00E+05 TCID₅₀/ml).

Parametry skuteczności

Skuteczność kliniczna

Parametry skuteczności panelu QIAstat-Dx Meningitis/Encephalitis (ME) Panel zostały ocenione w ramach obserwacyjnego, retrospektywnego badania skuteczności klinicznej, podczas którego testowano 585 kwalifikujących się do oznaczenia próbek płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR) (materiał resztkowy z innych badań) pobranych poprzez nakłucie łądźziowe od pacjentów z objawami przedmiotowymi i podmiotowymi zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i/lub zapalenia mózgu. Próbkę badano przy użyciu panelu QIAstat-Dx ME Panel w 3 ośrodkach badawczych na terenie Europy (Tabela 5).

Tabela 5. Liczba próbek badanych w danym ośrodku badawczym

Ośrodki	Liczba próbek kwalifikujących się do badania
Niemcy	200
Francja	194
Dania	191
Ogółem	585

Tabela 6 zawiera dane demograficzne pacjentów, których próbki zostały uwzględnione w badaniu.

Tabela 6. Podsumowanie danych demograficznych pacjentów, których próbki wykorzystano w badaniu skuteczności klinicznej

Zmienna	Podgrupa	N	%
Grupa wiekowa	<2 lata	9	1,55
	2–17 lat	24	4,15
	18–64 lat	319	55,09
	65+ lat	212	36,61
	Nieokreślona	15	2,60
Płeć	Kobiety	282	48,70
	Mężczyźni	282	48,70
	Nieokreślona	15	2,60

Skuteczność panelu QIAstat-Dx ME panel została oceniona poprzez porównanie wyników uzyskanych przy użyciu panelu QIAstat-Dx ME Panel z wynikami uzyskanymi przy użyciu panelu FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel. W przypadku wystąpienia rozbieżności między wynikami uzyskanymi przy użyciu obu metod, niezgodności te rozwiązywano na podstawie wyników uzyskanych metodami stosowanymi w ramach standardowej opieki właściwymi dla danego ośrodka (badania z wykorzystaniem reakcji RT-PCR lub hodowla mikroorganizmów).

Spośród 585 próbek klinicznych kwalifikujących się do oznaczenia dla 579 próbek uzyskano wynik możliwy do oceny. W badaniu uwzględniono próbki utworzone sztucznie (n=367) w celu oceny skuteczności oznaczenia w przypadku patogenów o niskiej częstości występowania (*Neisseria meningitidis*, *Streptococcus agalactiae*, enterowirus, wirus opryszczki pospolitej typu 1 oraz ludzki parechowirus) oraz bakterii *Mycoplasma pneumoniae* i *Streptococcus pyogenes*. W przypadku każdej sztucznie przygotowanej próbki z patogenem wybrane szczepy były dodawane do negatywnej macierzy klinicznej, którą stanowiło co najmniej 10 różnych próbek lub puli próbek negatywnego PMR. Po przygotowaniu sztucznie wytworzone próbki zostały poddane randomizacji i zaślepieniu, a następnie wysłane do ośrodków klinicznych w celu ich zbadania przy użyciu standardowej procedury. Tabela 7 zawiera dane dotyczące próbek uwzględnionych w badaniu skuteczności.

Tabela 7. Rozkład analizowanych próbek klinicznych i próbek wytworzonych sztucznie

Zmienna	Podgrupa	N	%	
Rodzaj próbki	Kliniczna	579	61,20	
	Wytworzona sztucznie	367	38,80	
		Ogółem		
		<i>Neisseria meningitidis</i>	65	6,87
		<i>Streptococcus agalactiae</i>	61	6,45
		<i>Streptococcus pyogenes</i>	61	6,45
		<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	61	6,45
		Enterowirus	60	6,34
	Ludzki parechowirus	59	6,24	

Zgodność procentowa wyników dodatnich (Positive Percent Agreement, PPA) została obliczona ze wzoru $100\% \times (TP/(TP+FN))$. Wynik prawdziwie pozytywny (True Positive, TP) oznacza, że pozytywny wynik dla danego analitu otrzymano zarówno za pomocą panelu QIAstat-Dx ME Panel, jak i metody porównawczej/referencyjnej, a wynik fałszywie negatywny (False Negative, FN) oznacza, że za pomocą panelu QIAstat-Dx otrzymano wynik negatywny, natomiast wynik uzyskany za pomocą metody porównawczej był pozytywny. Zgodność procentowa wyników ujemnych (Negative Percent Agreement, NPA) została obliczona ze wzoru $100\% \times (TN/(TN+FP))$. Wynik prawdziwie negatywny (True Negative, TN) oznacza, że negatywny wynik otrzymano zarówno za pomocą panelu QIAstat-Dx ME Panel, jak i metody porównawczej/referencyjnej, a wynik fałszywie pozytywny (False Positive, FP) oznacza, że za pomocą panelu QIAstat-Dx ME Panel otrzymano wynik pozytywny, natomiast wynik uzyskany za pomocą metody porównawczej był negatywny. Obliczono dokładny dwumianowy dwustronny 95-procentowy przedział ufności. Tabela 8 zawiera ogólne wyniki skuteczności klinicznej (PPA i NPA) dla wszystkich patogenów wykrywanych przez panel QIAstat-Dx ME Panel (w tabeli zawarto wyniki uzyskane dla próbek klinicznych oraz próbek utworzonych sztucznie). W Tabeli 8 przedstawiono wartości PPA i NPA wyników uzyskanych przy użyciu panelu QIAstat-Dx ME Panel. W przypadku wartości PPA każdy patogen docelowy został oznaczony informacją o tym, czy obliczenia na potrzeby oceny skuteczności zostały wykonane na podstawie wyników uzyskanych dla próbek klinicznych, próbek utworzonych sztucznie czy kombinacji obu rodzajów próbek. Wartość NPA została wyznaczona wyłącznie na podstawie wyników uzyskanych dla próbek klinicznych.

Tabela 8. Kryteria akceptacji skuteczności klinicznej — ocena czułości i swoistości po rozwiązaniu rozbieżności za pomocą testu SoC

Typ patogenu	Patogen docelowy	Próbka badana	PPA			NPA		
			TP/ (TP+FN)	%	95- procentowy CI	TN/ (TN+FP)	%	95- procentowy CI
Ogółem	Ogółem	Kliniczna	140/147	95,24	90,50%– 97,67%	7381/7386	99,93%	99,84%– 99,97%
Bakterie	<i>Escherichia coli K1</i>	Kliniczna	1/1	100,00%	20,65%– 100,00%	579/579	100,00%	99,34%– 100,00%
	<i>Haemophilus influenzae</i>	Kliniczna	4/4	100,00%	51,01%– 100,00%	573/575	99,65%	98,74%– 99,90%
	<i>Listeria monocytogenes</i>	Kliniczna	1/1	100,00%	20,65%– 100,00%	578/578	100,00%	99,34%– 100,00%
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Wytworzona sztucznie	61/61	100,00%	94,08%– 100,00%	Nd.	Nd.	Nd.
	<i>Neisseria meningitidis</i>	Łączona (oba rodzaje próbek)	66/66	100,00%	94,5%– 100,00%	578/578	100,00%	99,34%– 100,00%
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Łączona (oba rodzaje próbek)	63/64	98,44%	91,67%– 99,72%	576/576	100,00%	99,34%– 100,00%
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Kliniczna	16/16	100,00%	80,64%– 100,00%	563/563	100,00%	99,32%– 100,00%
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Wytworzona sztucznie	61/61	100,00%	94,08%– 100,00%	Nd.	Nd.	Nd.
	Bakterie ogółem	Kliniczna	26/26	100,00%	87,13%– 100,00%	3447/3449	99,94%	99,79%– 99,98%

ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela 8. (ciąg dalszy z poprzedniej strony)

Typ patogenu	Patogen docelowy	Próbka badana	PPA			NPA		
			TP/ (TP+FN)	%	95- procentowy CI	TN/ (TN+FP)	%	95- procentowy CI
Wirus	Enterowirus	Łączona (oba rodzaje próbek)	66/69	95,65%	87,98%– 98,51%	570/570	100,00%	99,33%– 100,00%
	Wirus opryszczki pospolitej typu 1 (HSV-1)	Kliniczna	20/20	100,00%	83,89%– 100,00%	561/561	100,00%	99,32%– 100,00%
	Wirus opryszczki pospolitej typu 2 (HSV-2)	Kliniczna	23/25	92,00%	75,03%– 97,78%	555/555	100,00%	99,31%– 100,00%
	Ludzki parechowirus (HPeV)	Wytworzona sztucznie	59/59	100,00%	93,89%– 100,00%	579/579	100,00%	99,34%– 100,00%
	Ludzki wirus opryszczki typu 6 (HHV-6)	Kliniczna	10/11	90,91%	62,26%– 98,38%	568/569	99,82%	99,01%– 99,97%
	Wirus ospy wietrznej i półpaśca	Kliniczna	52/55	94,55%	85,15%– 98,13%	523/525	99,62%	98,62%– 99,90%
	Wirusy ogółem	Kliniczna	113/120	94,17%	88,45%– 97,15%	3356/3359	99,91%	99,74%– 99,97%
Drożdże	<i>Cryptococcus gattii</i>/ <i>Cryptococcus neoformans</i>	Kliniczna	1/1	100,00%	20,65%– 100,00%	5578/5781	100,00%	99,34%– 100,00%

W przypadku jedenastu (11) kaset (spośród 596 testowanych kaset) nie uzyskano prawidłowego wyniku, co spowodowało, że wskaźnik powodzenia testu przy użyciu kasety wyniósł 98,16%.

Wniosek

Wykazano, że panel QIAstat-Dx Meningitis/Encephalitis Panel charakteryzuje się wysokimi parametrami skuteczności klinicznej podczas stosowania pomocniczo do rozpoznawania konkretnych czynników wywołujących zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i/lub zapalenie mózgu. Wyniki uzyskane przy użyciu panelu należy analizować w połączeniu z pozostałymi danymi klinicznymi, epidemiologicznymi i laboratoryjnymi.

Skuteczność analityczna

Czułość (granica wykrywalności)

Czułość analityczna lub granica wykrywalności (Limit of Detection, LoD) jest definiowana jako najniższe stężenie, przy którym $\geq 95\%$ badanych próbek daje pozytywny wynik.

Granica LoD dla poszczególnych patogenów docelowych panelu QIAstat-Dx Meningitis/Encephalitis Panel została wyznaczona na podstawie analizy rozcieńczeń próbek analitycznych przygotowanych z roztworu podstawowego uzyskanego od dostawców komercyjnych (ZeptoMetrix® i ATCC®).

Łącznie dla 40 szczepów patogennych wyznaczono stężenia odpowiadające ich granicom LoD. Wartość LoD panelu QIAstat-Dx Meningitis/Encephalitis Panel została wyznaczona dla każdego analitu przy użyciu wybranych szczepów reprezentujących poszczególne patogeny, które można wykryć za pomocą panelu QIAstat-Dx Meningitis/Encephalitis Panel. Wszystkie rozcieńczenia próbek zostały przygotowane przy użyciu negatywnego klinicznego PMR. W celu potwierdzenia ustalonego stężenia LoD, wymagany współczynnik detekcji wszystkich powtórzeń wynosił $\geq 95\%$.

W celu określenia granicy LoD każdego patogenu wykorzystano co najmniej 4 różne serie kaset oraz co najmniej 3 różne analizatory QIAstat-Dx Analyzer.

W Tabeli 9 przedstawiono wartości LoD poszczególnych patogenów docelowych oznaczanych za pomocą panelu QIAstat-Dx ME Panel.

Tabela 9. Granica wykrywalności — wyniki

Patogen	Szczep	Dostawca	Jednostka	LoD
HSV1	HF	ATCC	TCID ₅₀ /ml	2,81E+02
HSV1	Macintyre	ZeptoMetrix	TCID ₅₀ /ml	3,38E+02
HSV2	G	ATCC	TCID ₅₀ /ml	2,81E+01
HSV2	HSV-2. (Szczep: MS)	ZeptoMetrix	U/ml	1,26E+01
<i>Escherichia coli</i> K1	Szczep C5 [Bort]; O18ac:K1:H7	ATCC	CFU/ml	3,48E+02
<i>Escherichia coli</i> K1	NCTC 9001. Serowar O1:K1:H7	ATCC	CFU/ml	7,86E+02
<i>Haemophilus influenzae</i>	Typ b (otocz.)	ATCC	CFU/ml	3,16E+02
<i>Haemophilus influenzae</i>	Typ e [szczep AMC 36-A-7]	ATCC	CFU/ml	2,54E+03

ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela 9 (ciąg dalszy z poprzedniej strony)

Patogen	Szczep	Dostawca	Jednostka	LoD
<i>Listeria monocytogenes</i>	Typ 1/2b	ZeptoMetrix	CFU/ml	5,89E+02
<i>Listeria monocytogenes</i>	Typ 4b. Szczep Li 2	ATCC	CFU/ml	6,64E+03
<i>Neisseria meningitidis</i> (otoczkowa)	Serotyp B. M2092	ATCC	CFU/ml	8,28E-02
<i>Neisseria meningitidis</i> (otoczkowa)	Serotyp Y. M-112 [BO-6]	ATCC	CFU/ml	1,33E+01
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Z019	ZeptoMetrix	CFU/ml	1,75E+03
<i>Streptococcus agalactiae</i>	G19, grupa B	ATCC	CFU/ml	3,38E+03
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	19F	ZeptoMetrix	CFU/ml	7,14E+02
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Serotyp 1. NCTC 7465	ATCC	CFU/ml	6,22E-01
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Z472; serotyp M1	ZeptoMetrix	CFU/ml	1,80E+03
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Bruno [CIP 104226]	ATCC	CFU/ml	9,10E+01
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	PI 1428	ATCC	CFU/ml	9,48E+01
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	M129	ZeptoMetrix	CFU/ml	9,99E+01
Cytomegalowirus	AD-169	ZeptoMetrix	TCID ₅₀ /ml	2,45E+00
Cytomegalowirus	Davis	ATCC	TCID ₅₀ /ml	1,00E+01
Enterowirus A	Wirus Coxsackie A16	ZeptoMetrix	TCID ₅₀ /ml	3,79E+00
Enterowirus A	A6, gatunek A. Szczep Gdula	ATCC	TCID ₅₀ /ml	1,60E+02
Enterowirus B	Wirus Coxsackie B5	ZeptoMetrix	TCID ₅₀ /ml	8,91E+01
Enterowirus B	Wirus Coxsackie A9, gatunek B	ZeptoMetrix	TCID ₅₀ /ml	4,36E+01
Enterowirus C	Wirus Coxsackie A17, gatunek C. Szczep G-12	ATCC	TCID ₅₀ /ml	1,58E+01
Enterowirus C	Wirus Coxsackie A24. Szczep DN-19	ATCC	TCID ₅₀ /ml	4,99E+00

ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela 9 (ciąg dalszy z poprzedniej strony)

Patogen	Szczep	Dostawca	Jednostka	LoD
Enterowirus D	EV 70, gatunek D, szczep J670/71	ATCC	TCID ₅₀ /ml	4,99E+01
Enterowirus D	Enterowirus D68. Szczep US/MO/14-18947	ATCC	TCID ₅₀ /ml	5,06E+02
HHV6	HHV-6A. (Szczep: GS) lizat	ZeptoMetrix	kopie/ml	3,13E+04
HHV6	HHV-6B. (Szczep: Z29)	ZeptoMetrix	kopie/ml	7,29E+04
HPeV	Serotyp 1. Szczep Harris	ZeptoMetrix	TCID ₅₀ /ml	1,07E+03
HPeV	Serotyp 3	ZeptoMetrix	TCID ₅₀ /ml	3,38E+01
VZV	Ellen	ZeptoMetrix	kopie/ml	1,71E+02
VZV	Oka	ATCC	TCID ₅₀ /ml	5,00E-02
Cryptococcus neoformans	Serotyp D, szczep WM629, typ VNIV	ATCC	CFU/ml	2,21E+03
Cryptococcus neoformans	<i>C. neoformans</i> H99	ATCC	CFU/ml	1,64E+02
Cryptococcus gattii	Serotyp B, szczep R272, typ VGIIb	ATCC	CFU/ml	1,32E+04
Cryptococcus gattii	A6MR38 [CBS 11545]	ATCC	CFU/ml	2,60E+03

Test różnicowania (zakres wykrywanych mikroorganizmów, reaktywność analityczna)

Na potrzeby badania zakresu wykrywanych mikroorganizmów/wirusów (tzw. test różnicowania, nazywany też badaniem reaktywności analitycznej) przetestowano większą liczbę szczepów patogennych niż podczas badania, w którym określano granicę wykrywalności (Limit of Detection, LoD) panelu QIAstat-Dx Meningitis/Encephalitis Panel, w celu potwierdzenia reaktywności systemu detekcyjnego względem różnych szczepów tych samych mikroorganizmów/wirusów, występujących w stężeniach o wartościach zbliżonych do odpowiadającej im granicy wykrywalności.

W badaniu uwzględniono różne istotne klinicznie szczepy każdego docelowego mikroorganizmu/wirusa z panelu QIAstat-Dx ME Panel (szczepy do testu różnicowania), reprezentujące podtypy, szczepy i serotypy, które wykazywały różnicowanie w zakresie czasu oraz lokalizacji występowania. Badanie zakresu wykrywanych mikroorganizmów/wirusów (test różnicowania, reaktywność analityczna) zostało przeprowadzone w dwóch etapach:

- Badania *in vitro*: w celu oceny reaktywności oznaczenia badano próbki analityczne zawierające każdy patogen docelowy uwzględniony w panelu QIAstat-Dx ME Panel. W badaniu uwzględniono 178 próbek reprezentujących istotne klinicznie szczepy, podtypy, serotypy i genotypy różnych mikroorganizmów/wirusów (np. szereg różnych szczepów wywołujących zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych/zapalenie mózgu wyizolowanych w różnych miejscach na całym świecie oraz w różnych latach kalendarzowych).
- Analiza *in silico*: służyła do przewidywania reaktywności podczas oznaczania wszystkich sekwencji oligonukleotydowych starterów i sond zawartych w panelu względem sekwencji z publicznie dostępnych baz danych w celu wykrycia jakiegokolwiek potencjalnej reaktywności krzyżowej lub odnotowania nieoczekiwane sygnалу wskazującego na detekcję w przypadku dowolnego zestawu starterów. Ponadto w analizie *in silico* uwzględniono szczepy, które nie były dostępne na potrzeby badań *in vitro*, w celu potwierdzenia przewidywanego zakresu wykrywania różnych szczepów tych samych mikroorganizmów/wirusów.

Tabela 10. Wykryte klinicznie istotne szczepy/podtypy poszczególnych patogenów

Patogen	Wykryte klinicznie istotne szczepy/podtypy
<i>Neisseria meningitidis</i> (otoczkowa)	Serotypy otoczkowe (A, B, C, D, E, H, I, K, L, NG, W, W135, X, Y, Z, 29E)
<i>Cryptococcus gattii/</i> <i>Cryptococcus</i> <i>neoformans</i>	Serotyp A (<i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i>), serotyp D (<i>C. neoformans</i> var. <i>grubii</i>), serotypy B i C (<i>C. gattii</i> ze wszystkimi typami molekularnymi — VGI, VGII, VGIII, VGIIV)
Ludzki parechowirus	Wszystkie szczepy ludzkiego parechowirusa typu A z dostępną sekwencją w rejonie 5'-UTR (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 14, 16, 17, 18 i 19), w tym echowirus 22 (HPeV 1) i echowirus 23 (HPeV 2). Pomimo obecności sekwencji polipeptydowych w przypadku szczepów 9, 10, 11, 12, 13 i 15 wirusa HPeV A, żadne sekwencje w rejonie 5'-UTR nie były dostępne
<i>Listeria monocytogenes</i>	Serotypy 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e, 7
Ludzki wirus opryszczki typu 6	HHV6a i HHV6b
<i>Haemophilus influenzae</i>	Wszystkie serotypy otoczkowe (a, b, c, d, e, f) i szczepy bezotoczkowe (nietypowalne, NTHi) w tym var. <i>H. aegyptus</i>
Enterowirus	Wirus Coxsackie A (od CV-A1 do CV-A24), wirus Coxsackie B (od CV-B1 do CV-B6), echowirus (od E-1 do E-33), enterowirus A (EV-A71, EV-A76, od EV-A89 do EV-A92, EV-A119, EV-A120), enterowirus B (EV-B69, od EV-B73 do EV-B75, EV-B79, od EV-B80 do EV-B88, EV-B93, EV-B97, EV-B98, EV-B100, EV-B101, EV-B106, EV-B107, EV-B111), enterowirus C (EV-C96, EV-C99, EV-C102, EV-C104, EV-C105, EV-C109, od EV-C116 do EV-C118), enterowirus D (EV-D68, EV-D70, EV-D94), wirus polio (od PV-1 do PV-3)
<i>Escherichia coli</i> K1	Szczepy K1

Szczepy testowane podczas badania zakresu wykrywanych mikroorganizmów/wirusów (test różnicowania) wyszczególniono w Tabeli 11.

Tabela 11. Szczepy testowane podczas badania zakresu wykrywanych mikroorganizmów/wirusów (test różnicowania)

Patogen	Szczep/serotyp	Dostawca
<i>Escherichia coli</i> K1	Szczep C5 [Bort]; O18ac:K1:H7	ATCC
	NCTC 9001. Serowar O1:K1:H7	ATCC
	Szczep Bi 7509/41; O7:K1:H-	NCTC
	NCDC Bi 7509-41, serotyp O7:K1(L):NM	ATCC
	NCDC F 11119-41	ATCC
	O-2, U9-41*	BEI Resources
	O-16, F1119-41*	BEI Resources
	Z136 CTX-M-15	ZeptoMetrix
	Sc15 02:K1:H6	NCTC
	Szczep H61; O45:K1:H10	NCTC
<i>Haemophilus influenzae</i>	Typ b (otocz.)	ATCC
	Typ e [szczep AMC 36-A-7]	ATCC
	Nietypowalny [szczep Rd KW20]	ATCC
	Nietypowalny [szczep 180-a]	ATCC
	Typ a [szczep AMC 36-A-3]	ATCC
	Typ b [szczep Rab]	ATCC
	Typ c [szczep C 9007]	ATCC
	Typ d [szczep AMC 36-A-6]	ATCC
	Typ f [szczep GA-1264]	ATCC
L-378	ATCC	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Typ 1/2b	ZeptoMetrix
	Typ 4b. Szczep Li 2	ATCC
	Typ 1/2a. Szczep 2011L-2676	ATCC
	Typ 1/2a. Szczep Li 20	ATCC
	Typ 4b	ZeptoMetrix

ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela 11 (ciąg dalszy z poprzedniej strony)

Patogen	Szczep/serotyp	Dostawca
<i>Escherichia coli</i> K1	Serotyp 4b. Szczep 1071/53 [LMG 21264, NCTC 10527]	ATCC
	Li 23. Serotyp 4a	ATCC
	FSL J2-064	BEI Resources
	Gibson	ATCC
	EGDe	ATCC
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	PI 1428	ATCC
	M129	ZeptoMetrix
	Szczep FH <i>Mycoplasma pneumoniae</i> (Eaton Agent) [NCTC 10119]	ATCC
	UTMB-10P	ATCC
	MAC	ATCC
<i>Neisseria meningitidis</i> (otoczkowa)	Serotyp B. M2092 [CIP 104218, L. Cunningham]	ATCC
	Serotyp Y. M-112 [BO-6]	ATCC
	Serogrupa A, M1027 [NCTC10025]	ATCC
	Serogrupa C, M1628	ATCC
	Serotyp D. M158 [37A]	ATCC
	Sekwencja z wariantem genu ctrA	IDT
	W135	ATCC
	MC58	ATCC
	79 Eur. Serogrupa B	ATCC
	Serotyp B. M997 [S-3250-L]	ATCC
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Z019	ZeptoMetrix
	G19, grupa B	ATCC
	Serotyp III. Szczep typujący D136C(3) [3 Cole 106, CIP 82.45]	ATCC
	Typ III-ST283	ATCC
	MNZ929	BEI Resources

Ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela 11 (ciąg dalszy z poprzedniej strony)

Patogen	Szczep/serotyp	Dostawca
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Szczep typujący H36B — typ Ib	ATCC
	CDC SS700 [A909; 5541], typ 1c	ATCC
	3139 [CNCTC 1/82] serotyp IV	ATCC
	Z023	ZeptoMetrix
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	19F	ZeptoMetrix
	Serotyp 1. NCTC 7465	ATCC
	Serotyp 4. TIGR4 [JNR.7/87]	ATCC
	Serotyp 5. SPN1439-106 [Colombia 5-19]	ATCC
	Serotyp 11A. Typ 43	ATCC
	Serotyp 14. VH14	ATCC
	Serotyp 19A. Hungary 19A-6 [HUN663]	ATCC
	Z319; 12F	Zeptomatrix
	<i>Diplococcus pneumoniae</i> ; typ 3. Szczep [CIP 104225]	ATCC
	DCC1476 [Sweden 15A-25]	ATCC
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Z472; serotyp M1	ZeptoMetrix
	Bruno [CIP 104226]	ATCC
	Z018; serotyp M58	ZeptoMetrix
	Serotyp M1. MGAS 5005	ATCC
	Grupa A wg Lancefielda/C203 S	ATCC
	NCTC 8709 (typ 6, błyszcząca)	ATCC
	Grupa a, typ 12. Szczep typujący T12 [F. Griffith SF 42]	ATCC
	Grupa a, typ 14	ATCC
	Grupa a, typ 23	ATCC
	C203 — typ 3	ATCC

Ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela 11 (ciąg dalszy z poprzedniej strony)

Patogen	Szczep/serotyp	Dostawca
Enterowirus A	Wirus Coxsackie A16	ZeptoMetrix
	A6, gatunek A. Szczep Gdula	ATCC
	A10. M.K. (Kowalik)	ATCC
	Enterowirus 71. Szczep H	ATCC
	Gatunek A, serotyp EV-A71 (izolat 2003)	ZeptoMetrix
	Tainan/4643/1998	BEI Resources
	A2 FI [Fleetwood]	ATCC
	A7 — 275/58	ATCC
	A12 — Texas 12	ATCC
	EV-A71. Szczep BrCr	ATCC
Enterowirus B	Wirus Coxsackie B5	ZeptoMetrix
	Wirus Coxsackie A9, gatunek B	ZeptoMetrix
	Gatunek B, serotyp CV-B1, szczep Conn-5	ATCC
	Gatunek B, serotyp CV-B2. Szczep Ohio-1	ATCC
	Wirus Coxsackie B4	ZeptoMetrix
	Echowirus 6	ZeptoMetrix
	Echowirus 9	ZeptoMetrix
	Wirus Coxsackie B3	ZeptoMetrix
	Echowirus 18	NCPV
	Gatunek B, serotyp E-11	ATCC
Enterowirus C	Wirus Coxsackie A17, gatunek C. Szczep G-12	ATCC
	Wirus Coxsackie A24. Szczep DN-19	ATCC
	Wirus Coxsackie A21. Szczep Kuykendall [V-024-001-012]	ATCC
	A11 — Belgium-1	ATCC
	A13 — Flores	ATCC

Ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela 11 (ciąg dalszy z poprzedniej strony)

Patogen	Dostawca	Nr katalogowy	Szczep/serotyp
Enterowirus C	ATCC	VR-182*	A22 — Chulman
	ATCC	VR-178*	A20 — IH Pool 35
	ATCC	VR-176*	A18 — G-13
	NCTC	0812075v	CV-A21. Szczep H06452 472
	NCTC	0812074v	CV-A21. Szczep H06418 508
Enterowirus D	ATCC	VR-836	EV 70, gatunek D, szczep J670/71
	ATCC	VR-1823	Enterowirus D68. Szczep US/MO/14-18947
	ZeptoMetrix	0810237CF	Enterowirus 68. Izolat 2007
	ATCC	VR-1824	Enterowirus D68. Szczep US/IL/14-18952
	ATCC	VR-1197	D68. Szczep F02-3607 Corn
	ZeptoMetrix	0810302CF*	Typ 68, grupa główna (09/2014, izolat 2)
	ATCC	VR-1825	Enterowirus D68. Szczep US/KY/14-18953
	ATCC	VR-1826	Enterowirus D68. Szczep Fermon
	BEI Resources	NR-49130	Enterowirus D68. US/MO/14-18949
BEI Resources	NR-51998	Enterowirus D68. USA/2018-23089	
Wirus opryszczki pospolitej typu 1	ATCC	VR-260	HF
	ZeptoMetrix	0810005CF	Macintyre
	ATCC	VR-733	F
	ATCC	VR-1493*	KOS
	ATCC	VR-1778*	ATCC-2011-1
	ATCC	VR-1789*	ATCC-2011-9
	NCPV	0104151v	17+
	NCTC	1806145v	P5A
	NCTC	1806147v	P6
ZeptoMetrix	0810201CF*	Izolat 20	

Ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela 11 (ciąg dalszy z poprzedniej strony)

Patogen	Szczep/serotyp	Dostawca
Wirus opryszczki pospolitej typu 2	G	ATCC
	HSV-2. (Szczep: MS)	ZeptoMetrix
	ATCC-2011-2	ATCC
	131596	NCPV
	HG52	NCPV
	Izolat 1	ZeptoMetrix
	132349 ACV-res	NCPV
	Izolat 11	Zeptomatrix
	Izolat 15	Zeptomatrix
	Izolat 20	Zeptomatrix
Ludzki wirus opryszczki typu 6	HHV-6A. (Szczep: GS)	ZeptoMetrix
	HHV-6B. (Szczep: Z29)	ZeptoMetrix
	6B — szczep SF	ATCC
	6B — szczep HST	NCPV
	Ludzki wirus β - limfotropowy, szczep GS	ATCC
	6A — szczep U1102	NCPV
Ludzki parechowirus	Serotyp 1. Szczep Harris	ZeptoMetrix
	Serotyp 3	ZeptoMetrix
	Serotyp 2. Szczep Williamson	ZeptoMetrix
	Serotyp 4	ZeptoMetrix
	Serotyp 5	ZeptoMetrix
	Serotyp 6	ZeptoMetrix
	Typ 3. Szczep US/MO- KC/2014/001	ATCC
	Parechowirus A3. Szczep US/MO- KC/2012/006	ATCC

Ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela 11 (ciąg dalszy z poprzedniej strony)

Patogen	Szczep/serotyp	Dostawca
Wirus ospy wietrznej i półpaśca	Ellen	ZeptoMetrix
	Oka	ATCC
	Izolat A	ZeptoMetrix
	Izolat B	ZeptoMetrix
	Szczep 275	ZeptoMetrix
	Webster	ATCC
	Szczep 82	ZeptoMetrix
	Izolat D	ZeptoMetrix
	Szczep 9939	ZeptoMetrix
	Szczep 1700	ZeptoMetrix
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Serotyp D, szczep WM629, typ VNIV	ATCC
	H99	ATCC
	Szczep, CBS 132	ATCC
	Serotyp A, szczep WM148, typ VNI	ATCC
	M2092	ATCC
	Serotyp AD, szczep WM628, typ VNIII	ATCC
	Serotyp A	ZeptoMetrix
	NIH9hi90	BEI Resources
	NIH306	BEI Resources
	Var grubiiYL99α	BEI Resources
<i>Cryptococcus gattii</i>	Serotyp B, szczep R272, typ VGIIb	ATCC
	A6MR38	ATCC
	Serotyp B, szczep WM179, typ VGI	ATCC
	Serotyp B, szczep WM161, typ VGIII	ATCC
	Serotyp C, szczep WM779, typ VGIV	ATCC
	A1M R265	ATCC
	110 [CBS 883]	ATCC
	AIR265	BEI Resources
	Alg166	BEI Resources
	Alg254	BEI Resources

Przy użyciu panelu wykryto wszystkie badane w ramach testu zróżnicowania szczepy z wyjątkiem sześciu. Szczepy te wyszczególniono w Tabeli 12.

Tabela 12. Szczepy niewykryte przez panel QIAstat-Dx ME Panel podczas testu różnicowania

Patogen	Szczep/serotyp
Wirus opryszczki pospolitej typu 1	ATCC-2011-1
<i>Escherichia coli</i> K1	NCDC Bi 7509-41, serotyp O7:K1(L):NM
<i>Escherichia coli</i> K1	Z136 CTX-M-15
Enterowirus C	CV-A21. Szczep H06452 472
Enterowirus C	CV-A21. Szczep H06418 508
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Serotyp III. Szczep typujący D136C(3) [3 Cole 106, CIP 82.45]

Test wykluczenia (swoistość analityczna)

Na potrzeby badania swoistości analitycznej przeprowadzono badania *in vitro* oraz analizę *in silico* w celu oceny potencjalnej reaktywności krzyżowej i wykluczalności panelu QIAstat-Dx ME Panel. Mikroorganizmy/wirusy zawarte w panelu zostały przetestowane w celu oceny potencjalnej reaktywności krzyżowej w ramach panelu, natomiast mikroorganizmy/wirusy spoza panelu zostały przetestowane w celu oceny potencjalnej reaktywności krzyżowej z mikroorganizmami/wirusami, które nie są wykrywane przy użyciu materiału zawartego w panelu.

Wyniki testów *in silico*

Wyniki analizy *in silico* przeprowadzonej dla wszystkich sekwencji starterów/sond uwzględnionych w panelu QIAstat-Dx Meningitis Encephalitis Panel wskazują na potencjalne występowanie reakcji krzyżowych z 6 mikroorganizmami/wirusami docelowymi spoza panelu (wymienionymi w Tabeli 13).

Tabela 13. Potencjalne reakcje krzyżowe na podstawie analizy *in silico*

Mikroorganizmy/wirusy spoza panelu	Sygnal z panelu
<i>Streptococcus pseudopneumoniae</i> *	<i>S. pneumoniae</i>
<i>Listeria innocua</i> *	<i>L. monocytogenes</i>
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	<i>H. influenzae</i>
<i>Cryptococcus amyloletus</i>	
<i>Cryptococcus depauperatus</i> *	<i>Cryptococcus neoformans/gatti</i>
<i>Cryptococcus wingfieldii</i>	

* Ryzyko wystąpienia reaktywności krzyżowej określone na podstawie analizy *in silico* nie zostało potwierdzone badaniami *in vitro*.

Wszystkie mikroorganizmy/wirusy zawarte w Tabeli 13 zostały przetestowane w badaniu swoistości analitycznej *in vitro*.

Wyniki testów *in vitro*

W celu wykazania swoistości analitycznej panelu QIAstat-Dx Meningitis Panel względem patogenów, które mogą występować w próbkach klinicznych, ale nie są wykrywane przez panel, zbadano szereg potencjalnych patogenów reaktywnych krzyżowo (testowanie patogenów spoza panelu). Ponadto podczas oceny swoistości oraz reaktywności krzyżowej patogeny będące częścią panelu QIAstat-Dx Meningitis Panel były badane w wysokich mianach (testowanie patogenów z panelu).

Próbki zostały przygotowane poprzez dodanie do macierzy sztucznego płynu PMR docelowych mikroorganizmów/wirusów potencjalnie wywołujących reakcję krzyżową w stężeniu 10^5 TCID₅₀/ml w przypadku wirusów oraz 10^6 CFU/ml w przypadku bakterii i grzybów lub w najwyższym możliwym stężeniu, które można było uzyskać z roztworu podstawowego patogenu.

Wszystkie szczepy badane w ramach testu wykluczenia wyszczególniono w Tabeli 14. W przypadku patogenów oznaczonych znakiem * użyto ilościowego syntetycznego DNA lub materiału inaktywowanego.

Tabela 14. Patogeny badane w ramach testu wykluczenia

Patogen	Szczep	Dostawca	Nr katalogowy
<i>Escherichia coli</i> K1	Szczep C5 [Bort]; O18ac:K1:H7	ATCC	700973
<i>Haemophilus influenzae</i>	Typ e [szczep AMC 36-A-7]	ATCC	8142
<i>Listeria monocytogenes</i>	Typ 4b. Szczep Li 2	ATCC	19115
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	M129	ZeptoMetrix	801579
<i>Neisseria meningitidis</i>	Serotyp Y. M-112 [BO-6]	ATCC	35561
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	19F	ZeptoMetrix	801439
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Z019	Zeptomatrix	801545
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Z472; serotyp M1	Zeptomatrix	804351
Enterowirus A	A6, gatunek A. Szczep Gdula	ATCC	VR-1801
Enterowirus B	Wirus Coxsackie B5	ZeptoMetrix	0810019CF
Enterowirus C	Wirus Coxsackie A17, gatunek C. Szczep G-12	ATCC	VR-1023
Enterowirus D	Enterowirus D68. Szczep US/MO/14-18947	ATCC	VR-1823

ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela 14 (ciąg dalszy z poprzedniej strony)

Patogen	Szczep	Dostawca	Nr katalogowy
Wirus opryszczki pospolitej typu 1	Macintyre	ZeptoMetrix	0810005CF
Wirus opryszczki pospolitej typu 2	HSV-2. (Szczep: MS)	ZeptoMetrix	0810006CF
Ludzki wirus opryszczki typu 6	HHV-6B. (Szczep: Z29)	ZeptoMetrix	0810072CF
Ludzki parechowirus	Serotyp 3	ZeptoMetrix	0810147CF
Wirus ospy wietrznej i półpaśca	Ellen	ZeptoMetrix	0810171CF
<i>Cryptococcus neoformans</i>	WM629 [CBS 10079]	ATCC	MYA-4567
<i>Cryptococcus gattii</i>	Serotyp B, szczep R272, typ VGIIb	ATCC	MYA-4094
Adenowirus A12	Huie	ATCC	VR-863
Adenowirus C2	Adenoid 6 (NIAID 202-001-014)	ATCC	VR-846
Adenowirus D20	A.A	ATCC	VR-1090
Adenowirus E4	RI-67	ATCC	VR-1572
Adenowirus F41	Tak	ZeptoMetrix	0810085CF
Poliomawirus BK	Nd.	ATCC	VR-837
Koronawirus 229E	229E	ATCC	VR-740
Koronawirus NL63	NL63 (Amsterdam I)	BEI Resources	NR-470
Koronawirus OC43	OC43	ATCC	VR-1558
Wirus dengi (typ 2)*	New Guinea C	ZeptoMetrix	0810089CFHI
Wirus Epsteina-Barr	B95-8	ZeptoMetrix	0810008CF
Wirus zapalenia wątroby typu B (HBV)*	Nd.	ZeptoMetrix	0810031C
Wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV)*	Nd.	ZeptoMetrix	0810032C
Ludzki wirus opryszczki typu 7	SB	ZeptoMetrix	0810071CF
Ludzki wirus opryszczki typu 8	Nd.	ZeptoMetrix	0810104CF
Ludzki wirus niedoboru odporności*	Ilościowy syntetyczny RNA ludzkiego wirusa niedoboru odporności typu 1 (HIV-1)	ATCC	VR-3245SD
Ludzki rinowirus A1b	2060	ATCC	VR-1559
Ludzki rinowirus A16	11757	ATCC	VR-283
Ludzki rinowirus B3	FEB	ATCC	VR-483
Ludzki rinowirus B83	Baylor 7 [V-190-001-021]	ATCC	VR-1193
Poliomawirus JC	MAD-4	ATCC	VR-1583

ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela 14 (ciąg dalszy z poprzedniej strony)

Patogen	Szczep	Dostawca	Nr katalogowy
Wirus odry	Edmonston	ATCC	VR-24
Wirus świnki	Jones	ATCC	VR-1438
Wirus Zachodniego Nilu*	1986	ZeptoMetrix	VR-3274SD
Wirus paragrypy typu 2	Greer	ATCC	VR-92
Wirus paragrypy typu 4	Nd.	ZeptoMetrix	0810060CF
Parwovirus B19	B19	ZeptoMetrix	0810064C
Syncytialny wirus oddechowy	A2	ATCC	VR-1540
Rotawirus	RRV (rotawirus małpy rezus)	ZeptoMetrix	0810530CF
Wirus różyczki	Nd.	ZeptoMetrix	0810048CF
Wirus zapalenia mózgu St. Louis*	Parton	ZeptoMetrix	0810080CFHI
<i>Candida glabrata</i>	CBS 138	ATCC	2001
<i>Candida krusei</i>	Nd.	ATCC	14243
<i>Candida lusitanae</i>	Z010	ZeptoMetrix	801603
<i>Candida metapsilosis</i>	MCO429	ATCC	96143
<i>Candida orthopsilosis</i>	MCO471	ATCC	96140
<i>Candida viswanathii</i>	PK 233 [NCYC 997, pK233]	ATCC	20336
<i>Candida parapsilosis</i>	CBS 604	ATCC	22019
<i>Candida tropicalis</i>	Vitek #8935	ATCC	750
<i>Cryptococcus albidus</i>	AmMS 228	ATCC	66030
<i>Cryptococcus amyloletus</i>	NRRY Y-7784	ATCC	56469
<i>Cryptococcus laurentii</i>	CBS 139	ATCC	18803
<i>Cryptococcus uniguttulatus</i>	AmMS 234	ATCC	66033
<i>Cryptococcus adeliensis</i> = <i>Cryptococcus adeliae</i> = <i>Naganishia adeliensis</i>	<i>Cryptococcus adeliae</i>	ATCC	201412
<i>Cryptococcus flavescens</i> = <i>Papiliotrema flavescens</i>	<i>Cryptococcus laurentii</i> var. <i>flavescens</i> (Saito) Lodder et Kreger-van Rij	ATCC	10668
Wirus grypy A, podtyp H1N1	A/Florida/3/2006	ATCC	VR-1893
Wirus grypy A, podtyp H1N1-2009	A/California/08/2009 (H1N1pdm)	ATCC	VR-1895

ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela 14 (ciąg dalszy z poprzedniej strony)

Patogen	Szczep	Dostawca	Nr katalogowy
Wirus grypy A, podtyp H3N2	A/Port Chalmers/1/73	ATCC	VR-810
Wirus grypy B	B/Virginia/ATCC4/2009	ATCC	VR-1784
<i>Cryptococcus wingfieldii</i> = <i>Tsuchiyaea wingfieldii</i>	OTU 26	Collection Belga	CBS 7118
<i>Cryptococcus depauperatus</i> = <i>Aspergillus depauperatus</i> = <i>Filobasidiella depauperata</i>	K [ARSEF 2058, CBS 7842]	ATCC	64866
<i>Filobasidium capsuligenum</i>	ML-186	ATCC	22179
<i>Naegleria fowleri</i> *	Genomowy DNA pierwotniaka <i>Naegleria fowleri</i>	ATCC	30174D
<i>Toxoplasma gondii</i>	Haplogrupa 2	ATCC	50611
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Z014	ZeptoMetrix	801716
<i>Candida albicans</i>	CBS 562	ATCC	18804
<i>Candida dubliniensis</i>	Z145	ZeptoMetrix	801915
<i>Bacillus cereus</i>	Z091	ZeptoMetrix	801823
<i>Citrobacter freundii</i>	[ATCC 13316, NCTC 9750]	ATCC	8090
<i>Corynebacterium striatum</i>	CDC F6683	ATCC	43751
<i>Corynebacterium urealyticus</i>	3 [szczep Garcia]	ATCC	43044
<i>Cronobacter (Enterobacter)</i> <i>sakazakii</i>	CDC 4562-70	ATCC	29544
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Z052	ZeptoMetrix	801518
<i>Enterobacter cloacae</i>	CDC 442-68	ATCC	13047
<i>Escherichia coli</i> (bez K1)	2003-3055	ATCC	BAA-2212
<i>Escherichia fergusonii</i>	Z302	ZeptoMetrix	804113
<i>Escherichia hermannii</i>	CDC 980-72	ZeptoMetrix	804068
<i>Escherichia vulneris</i>	CDC 875-72	ATCC	33821
<i>Haemophilus ducreyi</i>	CF101	ATCC	33940
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	NCTC 10659	ATCC	33390
<i>Haemophilus</i> <i>parahaemolyticus</i>	536 [NCTC 8479]	ATCC	10014

ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela 14 (ciąg dalszy z poprzedniej strony)

Patogen	Szczep	Dostawca	Nr katalogowy
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	NCTC 7857	ATCC	33392
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NCTC 9633 [NCDC 298-53, NCDC 410-68]	ATCC	13883
<i>Listeria innocua</i>	SLCC 3379	ATCC	33090
<i>Listeria ivanovii</i>	Li 1979	ATCC	19119
<i>Morganella morganii</i>	AM-15	ATCC	25830
<i>Streptococcus salivarius</i>	C699	ATCC	13419
<i>Streptococcus sanguinis</i>	DSS-10	ATCC	10556
<i>Streptococcus pseudopneumoniae</i>	CDC-SS-1757	ATCC	BAA-960
<i>Mycoplasma genitalium</i>	M30	ATCC	49895
<i>Neisseria lactamica</i>	NCDC A7515	ATCC	23970
<i>Neisseria mucosa</i>	AmMS 138	ATCC	49233
<i>Neisseria sicca</i>	AMC 14-D-1	ATCC	9913
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Z017	ZeptoMetrix	801482
<i>Pantoea agglomerans</i>	Enterobacter agglomerans	ATCC	27155
<i>Propionibacterium acnes</i>	NCTC 737	ATCC	6919
<i>Proteus mirabilis</i>	LRA 08 01 73 [API SA, DSM 6674]	ATCC	7002
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PRD-10 [CIP 103467, NCIB 10421, PCI 812]	ATCC	15442
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	NRRL Y-567	ATCC	9763
<i>Salmonella bongori</i>	CIP 82.33	ATCC	43975
<i>Salmonella enterica</i>	CDC K-1891 [ATCC 25928]	ATCC	13076
<i>Serratia marcescens</i>	PCI 1107	ATCC	14756
<i>Shigella boydii</i>	CDC C-123	ATCC	12033
<i>Shigella flexneri</i>	Z046	ZeptoMetrix	801757
<i>Shigella sonnei</i>	AMC 43-GG9	ATCC	9290
<i>Staphylococcus aureus</i>	FDA 209	ATCC	CRM-6538
<i>Staphylococcus capitis</i>	PRA 360 677	ATCC	35661

ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela 14 (ciąg dalszy z poprzedniej strony)

Patogen	Szczep	Dostawca	Nr katalogowy
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Szczep FDA, PCI 1200	ATCC	12228
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	SM 131	ATCC	29970
<i>Staphylococcus hominis</i>	Z031	ZeptoMetrix	801727
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	LRA 260.05.79	ATCC	49576
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	NCTC 7292	ATCC	15305
<i>Streptococcus anginosus</i>	NCTC 10713	ATCC	33397
<i>Streptococcus bovis</i>	Z167	ZeptoMetrix	804015
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Szczep grupujący C74	ATCC	12388
<i>Streptococcus intermedius</i>	Z126	ZeptoMetrix	801895
<i>Streptococcus oralis</i>	Z307	ZeptoMetrix	804293
<i>Streptococcus mitis (tigurinus)</i>	Izolat kliniczny	ZeptoMetrix	801695
<i>Streptococcus mutans</i>	LRA 28 02 81	ATCC	35668

Dla wszystkich badanych mikroorganizmów/wirusów uzyskano wyniki negatywne we wszystkich trzech badanych powtórzeniach (nie wykryto nieoczekiwanych sygnałów pozytywnych), z wyjątkiem patogenów wyszczególnionych w poniższej tabeli. Patogeny wykazujące reaktywność krzyżową z panelem oraz najniższe stężenia tych patogenów, przy których dochodziło do reaktywności krzyżowej, przedstawiono w Tabeli 15.

Tabela 15. Próbkę wykazujące reaktywność krzyżową z panelem

Patogen docelowy panelu QIAstat-Dx Meningitis	Mikroorganizm/wirus potencjalnie wykazujący reaktywność krzyżową [†]	Deklarowane stężenie, w którym doszło do reaktywności krzyżowej, w IFU
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Propionibacterium acnes*	≥1,00E+04 CFU/ml
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Mycoplasma genitalium	≥1,00E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	Haemophilus haemolyticus	≥1,00E+03 CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	Cryptococcus wingfieldii = Tsuchiyaea wingfieldii	≥1,00E+01 CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	Cryptococcus flavescens = Papiliotrema flavescens	≥4,00E+03 CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	Cryptococcus amyloletus	≥1,00E+01 CFU/ml

* Nie przewidywano, aby bakteria *Propionibacterium acnes* reagowała krzyżowo z bakterią *Mycoplasma pneumoniae*.

[†] Przewidywane na podstawie analizy *in silico* reaktywności krzyżowe bakterii *Listeria innocua* z oznaczeniem bakterii *Listeria monocytogenes* oraz grzyba *Cryptococcus depauperatus* z oznaczeniem grzyba *Cryptococcus neoformans/gattii* nie zostały potwierdzone badaniami *in vitro*.

Koinfekcje

W badaniu testowano próbki łączone utworzone ze sztucznego płynu PMR, do którego dodano mieszaninę dwóch różnych materiałów docelowych w niskim i wysokim stężeniu. Wykorzystywano materiał docelowy w formie bakterii, wirusów i drożdży, a mikroorganizmy/wirusy wykryte w tej samej komorze reakcyjnej były wybierane do przygotowania próbki przeznaczonej do testów. Decyzję na temat doboru i kombinacji patogenów docelowych podejmowano na podstawie istotności klinicznej. Na jedną próbkę przypadają trzy powtórzenia.

W Tabeli 16 zawarto informacje na temat ostatecznego składu mieszanin koinfekcyjnych, w przypadku których analit o wysokim udziale procentowym (High Percentage Analyte, HPA) nie hamował detekcji analitu o niskim udziale procentowym (Low Percentage Analyte, LPA).

Tabela 16. Mieszaniny koinfekcyjne, w przypadku których analit HPA w danym stężeniu nie hamuje detekcji analitu LPA

LPA			HPA*		
Patogen	Stężenie	Jednostka	Patogen	Stężenie	Jednostka
<i>Escherichia coli</i> K1	3,30E+02	CFU/ml	<i>Haemophilus influenzae</i>	1,00E+06	CFU/ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	9,48E+02	CFU/ml	<i>Escherichia coli</i> K1	1,00E+06	CFU/ml
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	2,84E+02	CFU/ml	HSV1	1,00E+05	TCID ₅₀ /ml
HSV1	2,67E+02	TCID ₅₀ /ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+03	CFU/ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	9,48E+02	CFU/ml	HSV2	1,00E+02	TCID ₅₀ /ml
HSV2	3,78E+01	TCID ₅₀ /ml	<i>Haemophilus influenzae</i>	1,00E+06	CFU/ml
HHV6	9,39E+04	CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1,00E+06	CFU/ml
<i>Listeria monocytogenes</i>	5,58E+03	CFU/ml	HHV6	1,00E+05	kopie/ml
HSV1†	2,67E+02	TCID ₅₀ /ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+02	CFU/ml

ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela 16. (ciąg dalszy z poprzedniej strony)

LPA			HPA*		
Patogen	Stężenie	Jednostka	Patogen	Stężenie	Jednostka
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6,78E+02	CFU/ml	HSV1	1,00E+05	TCID ₅₀ /ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	9,48E+02	CFU/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+06	CFU/ml
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6,78E+02	CFU/ml	<i>Haemophilus influenzae</i>	1,00E+06	CFU/ml
<i>Listeria monocytogenes</i>	5,58E+03	CFU/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+06	CFU/ml
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6,78E+02	CFU/ml	<i>Listeria monocytogenes</i>	1,00E+06	CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	6,63E+03	CFU/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+06	CFU/ml
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6,78E+02	CFU/ml	<i>Cryptococcus neoformans</i>	1,00E+05	CFU/ml
<i>Neisseria meningitidis</i>	3,99E+01	CFU/ml	<i>Haemophilus influenzae</i>	1,00E+06	CFU/ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	9,48E+02	CFU/ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1,00E+06	CFU/ml
VZV	1,62E+02	CFU/ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1,00E+06	CFU/ml
<i>Neisseria meningitidis</i>	3,99E+01	CFU/ml	VZV	1,00E+05	CFU/ml
<i>Enterovirus</i>	4,80E+02	TCID ₅₀ /ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+06	CFU/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,71E+03	CFU/ml	Enterowirus	1,00E+05	TCID ₅₀ /ml
Parechowirus	1,01E+02	CFU/ml	Enterowirus	1,00E+05	TCID ₅₀ /ml
Enterowirus	4,80E+02	CFU/ml	Parechowirus	1,00E+05	CFU/ml
HHV6	9,39E+04	kopie/ml	HSV1	1,00E+05	TCID ₅₀ /ml
HSV1	2,67E+02	TCID ₅₀ /ml	HHV6	1,00E+05	kopie/ml
<i>Streptococcus agalactiae</i>	5,25E+03	CFU/ml	HSV2	1,00E+05	TCID ₅₀ /ml

* Najniższe stężenie analitu, przy którym aktywność analitu LPA nie jest hamowana

† Wartość stężenia analitu HPA (*S. pneumoniae*), przy której detekcja analitu LPA (HSV1) nie jest hamowana, została określona jako 1,00E+02 CFU/ml. Wartość tego stężenia jest jednak niższa niż określona wartość granicy LoD oznaczenia bakterii *S. pneumoniae* (7,14E+02 CFU/ml), dlatego bakteria ta nie mogła być rozpatrywana na podstawie analitu HPA. (Uwaga: Porównywalny schemat detekcji wystąpił również w przypadku bakterii *S. pneumoniae* testowanej w stężeniu 6,78E+02 CFU/ml oraz wirusa HSV1 testowanego w stężeniu 1,00E+05 TCID₅₀/ml. W związku z tym wydaje się, że wysokie stężenie wirusa HSV1 nie zakłóca detekcji bakterii *S. pneumoniae*, ale obecność bakterii *S. pneumoniae* zakłóca detekcję wirusa HSV1).

Substancje zakłócające

Oceniono wpływ potencjalnych substancji zakłócających na wykrywanie mikroorganizmów/wirusów przy użyciu panelu QIAstat-Dx ME Panel. W badaniu testowano substancje endogenne oraz substancje egzogenne (łącznie 31 substancji), które powszechnie występują w próbkach PMR lub mogą zostać wprowadzone do tych próbek podczas ich pobierania.

Wszystkie mikroorganizmy/wirusy docelowe panelu QIAstat-Dx ME Panel zostały dodane do macierzy sztucznego płynu PMR i były testowane w trzech powtórzeniach przy stężeniu 3x LoD. Potencjalne substancje zakłócające zostały dodane do tych próbek w stężeniach, w przypadku których przewidywano, że są wyższe od stężeń substancji, które prawdopodobnie mogą występować w próbkach PMR.

Tabela 17. Podsumowanie danych dotyczących badanych substancji zakłócających

Nazwa	Badane stężenie	Zakłócenia
Substancje endogenne		
Krew ludzka	10% (o/o)	Nie
gDNA	20 µg/ml	Tak
gDNA	2 µg/ml	Nie
D(+) glukoza	10 mg/ml	Nie
L-mleczan (Na)	2,2 mg/ml	Nie
Immunoglobulina G (ludzka)	20 mg/ml	Nie
Albumina (ludzka)	30 mg/ml	Nie
Komórki jednojądrzaste krwi obwodowej	10 000 komórek/µl	Nie
Substancje egzogenne		
Chloroheksydyna	0,4% (w/o)	Nie
Etanol	7% (o/o)	Nie
Wybielacz	1% (o/o)	Tak
Wybielacz	0,1% (o/o)	Tak
Wybielacz	0,01% (o/o)	Nie
Acyklowir	69 µg/ml	Nie
Amfoterycyna B	5,1 µg/ml	Nie

Ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela 17 (ciąg dalszy z poprzedniej strony)

Nazwa	Badane stężenie	Substancja zakłócająca
Ampicylina	210 µg/ml	Nie
Ceftriakson (aCSF)	840 µg/ml	Nie
Ceftriakson (PBS)	840 µg/ml	Nie
Cefotaksym	645 µg/ml	Nie
Gancyklowir	25 µg/ml	Nie
Gentamycyna	30 µg/ml	Nie
Meropenem	339 µg/ml	Nie
Wankomycyna	180 µg/ml	Nie
Worykonazol	11 µg/ml	Nie
Oseltamiwir	0,399 µg/ml	Nie
Mikroorganizmy/wirusy inne niż patogen docelowy		
Wirus Epsteina-Barr	1E+05 kopii/ml	Nie
Wirus grypy A, podtyp H1N1-2009	1E+05 CEID50/ml	Nie
<i>Cutibacterium acnes</i>	1E+06 CFU/ml	Nie
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1E+06 CFU/ml	Nie
<i>Escherichia coli</i> (bez K1)	1E+06 CFU/ml	Nie
<i>Staphylococcus aureus</i>	1E+06 CFU/ml	Nie
Wirus odry	1E+05 TCID ₅₀ /ml	Nie

Uwaga: Wszelkie rozpuszczalniki oraz bufony użyte do przygotowania próbek substancji zakłócających zostały również przetestowane pod kątem możliwych zakłóceń; nie stwierdzono powodowania zakłóceń.

Wszystkie potencjalnie zakłócające substancje endogenne i egzogenne zostały poddane ocenie, na podstawie której potwierdzono, że w stężeniach mogących wystąpić w próbkach klinicznych substancje te nie zakłócają działania jakiegokolwiek oznaczenia z panelu podczas detekcji patogenów docelowych. Wyjątek stanowiły wybielacz i gDNA, w przypadku których zaobserwowano zakłócenia i dla których określono w związku z tym najniższe stężenia, w jakich substancje te mogą wywoływać zakłócenia.

Zanieczyszczenie spowodowane przeniesieniem

Przeprowadzono badanie pod kątem zanieczyszczenia spowodowanego przeniesieniem w celu oceny prawdopodobieństwa wystąpienia zanieczyszczenia krzyżowego między kolejnymi testami wykonywanymi za pomocą panelu QIAstat-Dx Meningitis Encephalitis Panel w analizatorze QIAstat-Dx Analyzer 1.0. Patogenne próbki PMR, dla których otrzymano silnie pozytywne (10^5 – 10^6 mikroorganizmów lub wirusów/ml) i negatywne wyniki, testowano naprzemiennie w dwóch aparatach QIAstat-Dx Analyzer 1.0. Nie zaobserwowano, aby podczas korzystania z panelu QIAstat-Dx Meningitis/Encephalitis Panel między próbkami dochodziło do zanieczyszczenia spowodowanego przeniesieniem, co wskazuje, że konstrukcja systemu, zalecane procedury postępowania z próbkami oraz zalecany sposób wykonywania testów skutecznie zapobiegają generowaniu nieoczekiwanych wyników wskutek zanieczyszczenia spowodowanego przeniesieniem lub zanieczyszczenia krzyżowego między próbkami.

Powtarzalność i odtwarzalność

W celu oceny odtwarzalności zastosowano schemat wielośrodkowy, polegający na testowaniu zarówno próbek negatywnych, jak i pozytywnych w dwóch różnych ośrodkach przy zastosowaniu różnych zmiennych procedury, takich jak ośrodek, dni, aparaty, operatorzy i serie kaset, które mogą mieć wpływ na precyzję systemu. Jako próbki negatywne wykorzystywany był sztuczny płyn PMR. Pozytywne próbki łączone składały się ze sztucznego płynu PMR wzbogaconego o reprezentatywny panel patogenów obejmujący wszystkie typy patogenów docelowych panelu QIAstat-Dx ME Panel (tj. wirusy DNA, wirusy RNA, bakterie Gram (+), bakterie Gram (-) oraz drożdże) w stężeniach odpowiadających granicy wykrywalności ($1 \times \text{LoD}$) oraz $3 \times \text{LoD}$. W każdym ośrodku testy były wykonywane przy zachowaniu następujących parametrów: jedną mieszaninę testowano przez 5 nienastępujących bezpośrednio po sobie dni w 9 powtórzeniach dziennie (przez co łącznie uzyskano 45 powtórzeń na materiał docelowy, stężenie i ośrodek); testy wykonywano przy użyciu co najmniej 9 różnych analizatorów QIAstat-Dx Analyzer na ośrodek, obsługiwanych przez co najmniej 3 operatorów przypadających na każdy dzień testowy.

Badanie odtwarzalności zostało zaprojektowane w celu określenia zmiennych mogących mieć newralgiczny wpływ na działanie panelu QIAstat-Dx ME Panel w warunkach rutynowej obsługi według jego przeznaczenia.

Ten sam panel próbek był testowany według schematu jednośrodkowego na potrzeby badania powtarzalności. Badanie powtarzalności zostało zaprojektowane w celu oceny precyzji kasyety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge przy zastosowaniu podobnych (wewnątrzlaboratoryjnych) warunków. Na potrzeby badania powtarzalności wykorzystano te same próbki, które były używane podczas badania odtwarzalności w ośrodku 1.

Tabela 18. Udział prawidłowych wyników — badanie powtarzalności

Zmienne grupujące		Udział		Dwustronny 95-procentowy przedział ufności	
<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	1x LoD	60/60	100,00%	94,04%	100,00%
	3x LoD	61/61	100,00%	94,13%	100,00%
Enterowirus	1x LoD	60/60	100,00%	94,04%	100,00%
	3x LoD	61/61	100,00%	94,13%	100,00%
<i>Listeria monocytogenes</i>	1x LoD	60/60	100,00%	94,04%	100,00%
	3x LoD	61/61	100,00%	94,13%	100,00%
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1x LoD	60/60	100,00%	94,04%	100,00%
	3x LoD	61/61	100,00%	94,13%	100,00%
Próbka negatywna	Brak	60/60	100,00%	94,04%	100,00%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x LoD	60/60	100,00%	94,04%	100,00%
	3x LoD	61/61	100,00%	94,13%	100,00%
Wirus ospy wietrznej i półpaśca	1x LoD	51/60	85,00%	73,43%	92,90%
	3x LoD	60/61	98,36%	91,20%	99,96%

Tabela 19. Udział prawidłowych wyników — badanie odtwarzalności

Patogen docelowy	Zmienne grupujące		Udział		Dwustronny 95-procentowy przedział ufności		
	Stężenie	Ośrodek	Liczbowo	Procentowo	Dolna granica	Górna granica	
<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	1x LoD	1	45/45	100,00%	92,13%	100,00%	
		2	45/45	100,00%	92,13%	100,00%	
		Ogółem	90/90	100,00%	95,98%	100,00%	
	3x LoD	1	45/45	100,00%	92,13%	100,00%	
		2	45/45	100,00%	92,13%	100,00%	
		Ogółem	90/90	100,00%	95,98%	100,00%	
	Enterowirus	1x LoD	1	45/45	100,00%	92,13%	100,00%
			2	45/45	100,00%	92,13%	100,00%
			Ogółem	90/90	100,00%	95,98%	100,00%
3x LoD		1	45/45	100,00%	92,13%	100,00%	
		2	45/45	100,00%	92,13%	100,00%	
		Ogółem	90/90	100,00%	95,98%	100,00%	

Ciąg dalszy na następnej stronie

Tabela 19 (ciąg dalszy z poprzedniej strony)

Zmienne grupujące		Udział			Dwustronny 95-procentowy przedział ufności	
Patogen docelowy	Stężenie	Ośrodek	Liczbowo	Procentowo	Dolna granica	Górna granica
<i>Listeria monocytogenes</i>	1x LoD	1	45/45	100,00%	92,13%	100,00%
		2	44/45	97,78%	88,23%	99,94%
		Ogółem	89/90	98,89%	93,96%	99,97%
	3x LoD	1	45/45	100,00%	92,13%	100,00%
		2	45/45	100,00%	92,13%	100,00%
		Ogółem	90/90	100,00%	95,98%	100,00%
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1x LoD	1	45/45	100,00%	92,13%	100,00%
		2	45/45	100,00%	92,13%	100,00%
		Ogółem	90/90	100,00%	95,98%	100,00%
	3x LoD	1	45/45	100,00%	92,13%	100,00%
		2	45/45	100,00%	92,13%	100,00%
		Ogółem	90/90	100,00%	95,98%	100,00%
Próbka negatywna	Brak	1	44/44	100,00%	91,96%	100,00%
		2	45/45	100,00%	92,13%	100,00%
		Ogółem	89/89	100,00%	95,94%	100,00%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x LoD	1	45/45	100,00%	92,13%	100,00%
		2	45/45	100,00%	92,13%	100,00%
		Ogółem	90/90	100,00%	95,98%	100,00%
	3x LoD	1	45/45	100,00%	92,13%	100,00%
		2	45/45	100,00%	92,13%	100,00%
		Ogółem	90/90	100,00%	95,98%	100,00%
Wirus ospy wietrznej i półpaśca	1x LoD	1	39/45	86,67%	73,21%	94,95%
		2	38/45	84,44%	70,54%	93,51%
		Ogółem	77/90	85,56%	76,57%	92,08%
	3x LoD	1	44/45	97,78%	88,23%	99,94%
		2	45/45	100,00%	92,13%	100,00%
		Ogółem	89/90	98,89%	93,96%	99,97%

Podsumowując, kryteria odtwarzalności i powtarzalności testów wykonywanych przy użyciu panelu QIAstat-Dx Meningitis Panel zostały spełnione.

Załącznik A: Instalacja pliku definicji oznaczenia

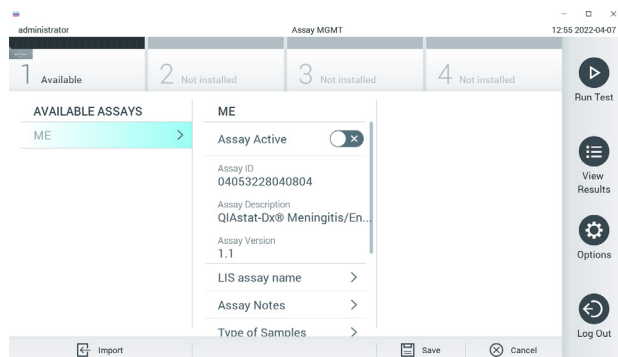
Przed wykonaniem testów za pomocą kaset QIAstat-Dx ME Panel Cartridge należy zainstalować plik definicji oznaczenia panelu QIAstat-Dx ME Panel w analizatorze QIAstat-Dx Analyzer 1.0.

Uwaga: Za każdym razem, gdy zostanie udostępniona nowa wersja oznaczenia panelu QIAstat-Dx ME Panel, przed wykonaniem testów należy zainstalować nowy plik definicji oznaczenia panelu QIAstat-Dx ME Panel.

Uwaga: Pliki definicji oznaczenia są dostępne pod adresem www.qiagen.com. Przed zainstalowaniem pliku definicji oznaczenia (typ pliku **.asy**) w analizatorze QIAstat-Dx Analyzer 1.0 należy zapisać go w pamięci USB. Pamięć USB należy sformatować za pomocą systemu plików FAT32.

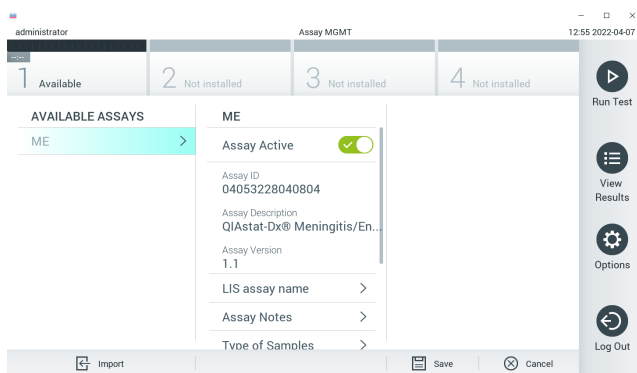
Aby zaimportować oznaczenia do analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0, należy wykonać następujące kroki:

1. Włożyć pamięć masową USB, na której znajduje się plik definicji oznaczenia, do jednego z portów USB analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0.
2. Nacisnąć przycisk **Options** (Opcje), a następnie opcję **Assay Management** (Zarządzanie oznaczeniem). W obszarze zawartości na wyświetlaczu pojawi się ekran Assay Management (Zarządzanie oznaczeniem) (Ryc. 25).



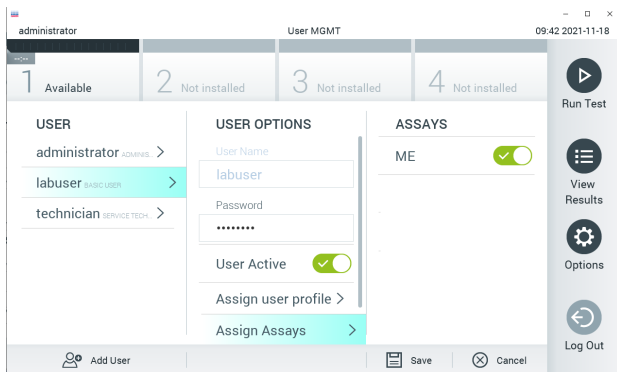
Ryc. 25. Ekran Assay Management (Zarządzanie oznaczeniem).

3. Nacisnąć ikonę **Import** (Importuj) w lewym dolnym rogu ekranu.
4. Wybrać plik oznaczenia, które ma zostać zaimportowane z pamięci USB.
5. Zostanie wyświetlone okno dialogowe potwierdzające przesyłanie pliku.
6. Jeśli poprzednia wersja panelu QIAstat-Dx ME Panel jest już zainstalowana, zostanie wyświetlone okno dialogowe z monitem o nadpisanie bieżącej wersji panelu. Aby nadpisać plik, należy nacisnąć przycisk **Yes** (Tak).
7. Oznaczenie stanie się aktywne po naciśnięciu przycisku **Assay Active** (Aktywne oznaczenie) (Ryc. 26).



Ryc. 26. Aktywacja oznaczenia

8. Przypisać aktywne oznaczenie do użytkownika, naciskając przycisk Options (Opcje), a następnie przycisk **User Management** (Zarządzanie użytkownikami). Wybrać użytkownika, który będzie mógł uruchamiać oznaczenie. Następnie wybrać opcję **Assign Assays** (Przypisz oznaczenia) z obszaru **User Options (Opcje użytkownika)**. Włączyć oznaczenie i nacisnąć przycisk **Save** (Zapisz) (Ryc. 27).



Ryc. 27. Przypisywanie aktywnego oznaczenia

Załącznik B: Słowniczek

Krzywa amplifikacji: Graficzne przedstawienie danych amplifikacji kwasu nukleinowego podczas reakcji multipleks real-time RT-PCR.

Moduł analityczny (Analytical Module, AM): Główny moduł sprzętowy analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0, w którym wykonywane są testy w kasetach QIAstat-Dx Meningitis/Encephalitis Panel Cartridge. Jest kontrolowany przez moduł obsługowy. Do jednego modułu obsługowego można podłączyć wiele modułów analitycznych.

QIAstat-Dx Analyzer 1.0: Analizator QIAstat-Dx Analyzer 1.0 składa się z modułu obsługowego oraz modułu analitycznego. Moduł obsługowy zawiera elementy zapewniające łączność z modułem analitycznym i umożliwia interakcje użytkownika z analizatorem QIAstat-Dx Analyzer 1.0. Moduł analityczny zawiera sprzęt oraz oprogramowanie przeznaczone do testowania i analizowania próbek.

QIAstat-Dx ME Panel Cartridge: Autonomiczny, jednorazowy wyrób z tworzywa sztucznego, który zawiera wszystkie fabrycznie załadowane odczynniki wymagane do pełnego przeprowadzenia całkowicie zautomatyzowanych oznaczeń molekularnych wykrywających patogeny wywołujące zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych/mózgu.

IFU: Instructions For Use (Instrukcja użycia).

Port główny: W kasecie QIAstat-Dx ME Panel Cartridge — wejście na próbki pobrane do płynnego podłoża transportowego.

Kwasy nukleinowe: Biopolimery lub małe biocząsteczki złożone z nukleotydów, które są monomerami składającymi się z trzech części: pięciowęglowego cukru, grupy fosforanowej oraz zasady azotowej.

Moduł obsługowy (operational module, OM): Dedykowany sprzęt analizatora QIAstat-Dx Analyzer 1.0 zapewniający interfejs użytkownika dla 1–4 modułów analitycznych (AM).

PCR: Łańcuchowa reakcja polimerazy.

RT: Odwrotna transkrypcja.

Użytkownik: Osoba, która obsługuje analizator QIAstat-Dx Analyzer 1.0/kasetę QIAstat-Dx ME Panel Cartridge zgodnie z przeznaczeniem.

Załącznik C: Wyłączenia odpowiedzialności













Z WYJĄTKIEM POSTANOWIEŃ ZAWARTYCH W WARUNKACH SPRZEDAŻY kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge FIRMY QIAGEN FIRMA QIAGEN NIE PONOSI ŻADNEJ ODPOWIEDZIALNOŚCI I WYKLUCZA WSZELKIE GWARANCJE, JAWNE I DOROZUMIANE, DOTYCZĄCE UŻYCIA kasety QIAstat-Dx ME Panel Cartridge, CO OBEJMUJE GWARANCJE DOTYCZĄCE WARTOŚCI HANDLOWEJ, PRZYDATNOŚCI DO KONKRETNIEGO CELU, NIENARUSZANIA JAKICHKOLWIEK PATENTÓW, PRAW AUTORSKICH ORAZ INNYCH PRAW WŁASNOŚCI INTELEKTUALNEJ W DOWOLNYM MIEJSCU NA ŚWIECIE.









Literatura

1. Meningitis and Encephalitis Fact Sheet. <https://www.ninds.nih.gov/disorders/patient-caregiver-education/fact-sheets/meningitis-and-encephalitis-fact-sheet>
2. Meningitis. <https://www.cdc.gov/meningitis/index.html>

Symbole

Poniższa tabela zawiera opisy symboli, które mogą znajdować się na etykietach lub w niniejszym dokumencie.

	Zawiera odczynniki wystarczające do wykonania <N> reakcji
	Data ważności
	Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Znak CE informujący o tym, że wyrób spełnia wymogi dyrektywy Unii Europejskiej
	Numer katalogowy
	Numer serii
	Numer materiału (tj. oznaczenie składnika)
Rn	R oznacza wydanie instrukcji obsługi, a n oznacza numer wydania
	Zakres temperatury
	Producent
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Przeostroga
	Numer seryjny

	Nie używać ponownie
	Chronić przed światłem słonecznym
	Nie używać, jeśli opakowanie jest uszkodzone
	Globalny numer jednostki handlowej
	Materiał łatwopalny, niebezpieczeństwo pożaru
	Substancja żrąca, ryzyko poparzenia chemicznego
	Zagrożenie dla zdrowia, ryzyko wywołania alergii, działanie rakotwórcze
	Ryzyko szkody

Historia zmian instrukcji użycia (instrukcji obsługi)

Data	Zmiany
Wydanie 1 Styczeń 2022 r.	Pierwsze wydanie.
Wydanie 2 Kwiecień 2022 r.	Zaktualizowano obrazy w celu zapewnienia zgodności z wersją 1.1 oprogramowania ADF. Zaktualizowano część „Skuteczność kliniczna”.

Umowa ograniczonej licencji dla panelu QIAstat-Dx ME Panel

Korzystanie z tego produktu oznacza zgodę nabywcy lub użytkownika produktu na następujące warunki:

1. Niniejszy produkt może być używany wyłącznie zgodnie z protokołami dołączonym do produktu oraz niniejszą instrukcją obsługi i wyłącznie ze składnikami znajdującymi się w tym zestawie. Firma QIAGEN nie udziela żadnej licencji w zakresie praw własności intelektualnej do użytkowania niniejszego zestawu ze składnikami nienależącymi do zestawu z wyjątkiem przypadków opisanych w protokołach dołączonych do produktu, niniejszej instrukcji obsługi oraz dodatkowych protokołach dostępnych na stronie www.qiagen.com. Niektóre dodatkowe protokoły zostały sformułowane przez użytkowników rozwiązań QIAGEN z myślą o innych użytkownikach rozwiązań QIAGEN. Takie protokoły nie zostały dokładnie przetestowane ani poddane procesowi optymalizacji przez firmę QIAGEN. Firma QIAGEN nie gwarantuje, że nie naruszają one praw osób trzecich.
2. Z wyjątkiem wyraźnie określonych licencji firma QIAGEN nie gwarantuje, że ten zestaw i/lub jego stosowanie nie naruszają praw stron trzecich.
3. Zestaw oraz jego składniki są na mocy licencji przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku i nie można ich ponownie używać, regenerować ani sprzedawać.
4. Firma QIAGEN podkreśla, że nie udziela żadnych innych licencji wyrażonych lub dorozumianych poza tymi, które są wyraźnie określone.
5. Nabywca i użytkownik zestawu zobowiązują się nie podejmować działań ani nie zezwalać innym osobom na podejmowanie działań, które mogą doprowadzić do wykonania lub umożliwić wykonanie zabronionych czynności wymienionych powyżej. Firma QIAGEN może egzekwować przestrzeganie zakazów niniejszej Umowy ograniczonej licencji i wnieść sprawę do dowolnego sądu. Ma także prawo zażądać zwrotu kosztów wszelkich postępowań i kosztów sądowych, w tym wynagrodzeń prawników, związanych z egzekwowaniem postanowień Umowy ograniczonej licencji lub wszelkich praw własności intelektualnej w odniesieniu do zestawu i/lub jego składników.

Aktualne warunki licencyjne są dostępne na stronie www.qiagen.com.

Znaki towarowe: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAstat-Dx®, DiagCORE® (QIAGEN Group); AirClean (AirClean Systems, Inc.); Bel-Art Scienceware® (Bel-Art Products); Clinical and Laboratory Standards Institute® (Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.). Zastrzeżonych nazw, znaków towarowych itd. wykorzystywanych w niniejszym dokumencie, nawet jeżeli nie zostały oznaczone jako zastrzeżone, nie można uważać za niechronione przepisami prawa.

HB-3002-003 R2 04/2022 © 2022 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.

Składanie zamówień www.qiagen.com/shop | Pomoc techniczna support.qiagen.com | Strona www.qiagen.com