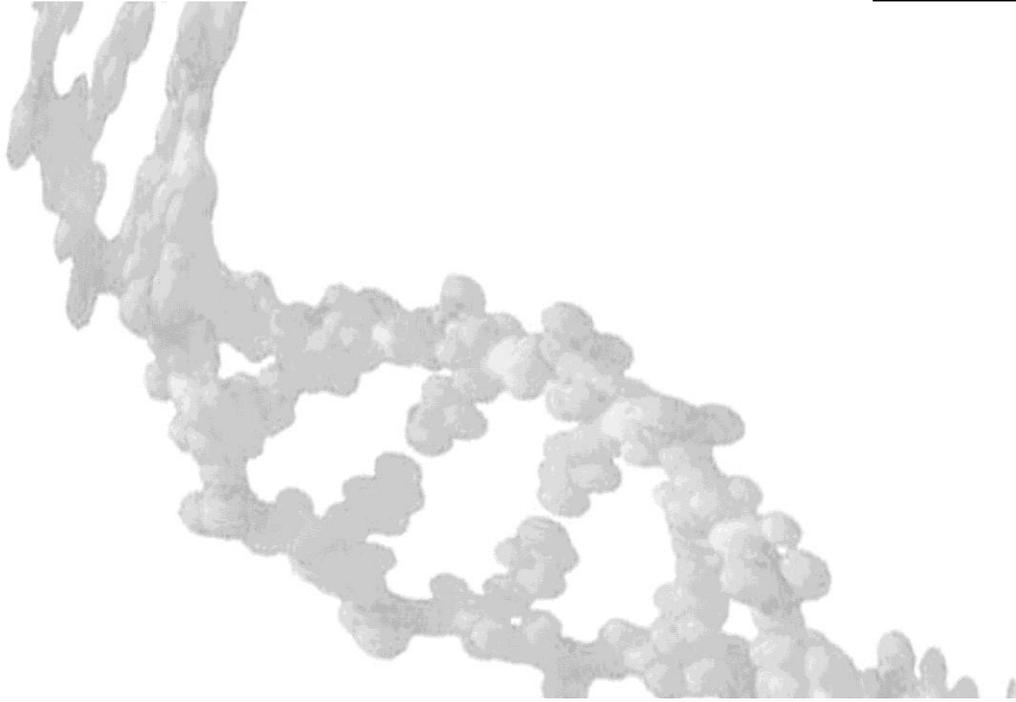


REF

RFIT-ASY-0118
RFIT-ASY-0119



FilmArray[®]
Meningitis/Encephalitis (ME)
Panel

Benutzerhandbuch

IVD

CE 0086

BIO  FIRE[®]

A BIOMÉRIEUX COMPANY

Kundenbetreuung und technischer Support für Kunden in den USA

Sie erreichen uns im Internet auf
http://www.BioFireDX.com

Sie erreichen uns per E-Mail an
support@BioFireDX.com

Unsere Postadresse ist
515 Colorow Drive
Salt Lake City, UT 84108
USA

Sie erreichen uns telefonisch unter
1-800-735-6544 – kostenfrei
(801) 736-6354 – Utah

Sie erreichen uns per Fax über
(801) 588-0507

Kundenbetreuung und technischer Support außerhalb der USA

Bitte wenden Sie sich an den örtlichen bioMérieux-Vertriebsbeauftragten oder einen autorisierten Händler, wenn Sie technische Unterstützung benötigen.



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



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

© Copyright 2007–2017, BioFire Diagnostics, LLC. Alle Rechte vorbehalten. RFIT-PRT-0344-03 Juni 2017

Die in diesem Dokument enthaltenen Informationen können ohne vorherige Ankündigung geändert werden. Ohne das ausdrückliche schriftliche Einverständnis von BioFire Diagnostics, LLC darf kein Teil dieses Dokuments in irgendeiner Form oder auf irgendeine Weise, sei es elektronisch oder mechanisch, egal für welchen Zweck, reproduziert oder übertragen werden.

FilmArray Software, Detector und Metacall Softwaremodule © 2002–2017 BioFire Diagnostics, LLC.

BioFire Diagnostics, BioFire, das BioFire Logo, FilmArray und LCGreen sind Warenzeichen von BioFire Diagnostics, LLC oder BioFire Defense, LLC und sind eingetragene Warenzeichen in den Vereinigten Staaten.

Alle anderen Produkte und Warenzeichen, die in diesem Handbuch auftauchen, sind Warenzeichen oder eingetragene Warenzeichen ihrer jeweiligen Eigentümer.

Der Kauf dieses Produkts beinhaltet eine begrenzte, nicht übertragbare Lizenz im Rahmen von bestimmten Ansprüchen eines oder mehrerer US-Patente, die auf der Website von BioFire Diagnostics (<http://www.biofiredx.com/LegalNotices/>) aufgelistet und Eigentum der BioFire und der University of Utah Research Foundation sind.

SYMBOL-GLOSSAR

Die folgenden Symbole können Ihnen auf Komponenten des FilmArray ME Panel Kits oder in diesem Benutzerhandbuch begegnen. Bitte verwenden Sie die nachstehenden Definitionen als Leitfaden zur Interpretation der Symbole.

ISO 15223-1:2012 Medizinprodukte – Bei Aufschriften von Medizinprodukten zu verwendende Symbole, Kennzeichnung und zu liefernde Informationen					
5.1.1 	Hersteller	5.1.2 	Autorisierter Vertreter in der Europäischen Union	5.1.4 	Verfallsdatum (JJJJ-MM-TT)
5.1.5 	Chargencode (Chargennummer)	5.1.6 	Katalognummer	5.1.7 	Seriennummer
5.2.8 	Nicht benutzen, wenn die Packung beschädigt ist	5.3.2 	Vor Sonnenlicht schützen	5.3.7 	Temperaturbegrenzung
5.4.2 	Nicht wiederverwenden	5.4.3 	Gebrauchsanweisung beachten	5.5.1 	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
5.5.5 	Inhalt ausreichend für <n> Tests				
Global harmonisiertes System zur Einstufung und Kennzeichnung von Chemikalien (GHS) (ST/SG/AC.10/30)					
	Schwere Augenschäden, Kat. 1		Akut toxisch, Kat. 4 und Hautreizung, Kat. 2		
Richtlinie der Europäischen Union 98/79/EG des Europäischen Parlaments und des Rates zu In-vitro-Diagnostikum					
	Europäisches Konformitätszeichen				
Herstellersymbole (BioFire Diagnostics, LLC)					
	Gebrauchsanweisung beachten – online		Gebrauchsanweisung beachten – telefonisch		

E-LABELING

Das Handbuch für dieses Produkt ist online unter www.online-ifu.com/KEY-CODE verfügbar. Der KEY-CODE des Produktes ist auf dem Etikett der äußeren Verpackung, am Ende der URL angegeben. Der KEY-CODE für dieses Benutzerhandbuch ist ebenfalls unten angegeben. Des Weiteren ist auf Anfrage ein Exemplar in Papierform verfügbar. Wenden Sie sich hierzu telefonisch, per Fax, E-Mail oder auf dem Postweg an die Kundenbetreuung.

FilmArray ME Panel CE IVD 6- und 30-Riegel-Kit – Benutzerhandbuch	https://www.online-ifu.com/ITI0035
FilmArray ME Panel CE IVD 6- oder 30-Riegel-Kit – Kurzanleitung	https://www.online-ifu.com/ITI0012
FilmArray ME Panel CE IVD 6- oder 30-Riegel-Kit – Sicherheitsdatenblatt	https://www.online-ifu.com/ITI0067

INHALT

SYMBOL-GLOSSAR	II
E-LABELING	III
NAME UND VERWENDUNGSZWECK	2
FILMARRAY MENINGITIS/ENCEPHALITIS (ME) PANEL.....	2
ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG DES TESTS	3
ÜBERBLICK ÜBER NACHGEWIESENE ORGANISMEN	3
GRUNDSÄTZLICHE VORGEHENSWEISE	7
IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN	8
NOTWENDIGE MATERIALIEN, DIE NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN SIND	9
WARNHINWEISE UND EMPFEHLUNGEN FÜR VORSICHTSMASSNAHMEN	9
ALLGEMEINE VORSICHTSMAßNAHMEN.....	9
SICHERHEITSMASßNAHMEN.....	9
LABORVORSICHTSMAßNAHMEN.....	10
VORSICHTSMAßNAHMEN IM HINBLICK AUF DIE GESUNDHEITSBERICHTERSTATTUNG IN DEN USA.....	11
AUFBEWAHRUNG, HANDHABUNG UND LAGERUNG VON REAGENZIEN	11
PROBENNAHME UND -VORBEREITUNG	11
VORGEHENSWEISE	12
VORBEREITUNG DES RIEGELS.....	12
HYDRIERUNG DES RIEGELS.....	12
VORBEREITUNG DER PROBENMISCHUNG	13
LADEN DER PROBENMISCHUNG	13
LAUF DES RIEGELS.....	14
QUALITÄTSKONTROLLE	15
PROZESSKONTROLLE.....	15
ÜBERWACHUNG DER TESTSYSTEMLEISTUNG.....	16
INTERPRETATION VON ERGEBNISSEN	16
ASSAY-INTERPRETATION	16
INTERPRETATION VON ORGANISMEN	17
FILMARRAY ME PANEL TESTBEFUND	17
DAS FELD CONTROLS (KONTROLLEN).....	18
RESULT SUMMARY (ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE)	19
VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN	20
ERWARTUNGSWERTE	22
LEISTUNGSDATEN	24
KLINISCHE LEISTUNGSFÄHIGKEIT	24
NACHWEISGRENZE	32

ANALYTISCHE REAKTIVITÄT (INKLUSIVITÄT)	34
ANALYTISCHE SPEZIFITÄT (KREUZREAKTIVITÄT UND EXKLUSIVITÄT)	37
REPRODUZIERBARKEIT	39
WECHSELWIRKUNGEN	45
LITERATURSTELLEN.....	47
GARANTIEINFORMATIONEN.....	52

NAME UND VERWENDUNGSZWECK

FilmArray Meningitis/Encephalitis (ME) Panel

Das FilmArray Meningitis/Encephalitis (ME) Panel ist ein qualitativer *In-vitro*-Multiplex-Diagnostest auf Nukleinsäurebasis zur Verwendung mit dem FilmArray System. Das FilmArray ME Panel ermöglicht den Nachweis und gleichzeitig die Bestimmung mehrerer bakterieller, viraler und Hefe-Nukleinsäuren direkt aus über Lumbalpunktion entnommene Proben aus der Zerebrospinalflüssigkeit (CSF) von Personen mit Anzeichen und/oder Symptomen von Meningitis und/oder Encephalitis. Die folgenden Organismen werden bei Anwendung des FilmArray ME Panel bestimmt:

Bakterien:

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

Viren:

- Zytomegalievirus
- Enterovirus
- Herpes-simplex-Virus 1
- Herpes-simplex-Virus 2
- Humanes Herpesvirus 6
- Humanes Parechovirus
- Varizella-Zoster-Virus

Hefe:

- *Cryptococcus neoformans/gattii*

Das FilmArray ME Panel dient als Hilfsmittel bei der Diagnose spezifischer Agenzien von Meningitis und/oder Encephalitis und die Ergebnisse sind für eine Verwendung in Kombination mit anderen klinischen und epidemiologischen Informationen und Labordaten vorgesehen. Die Ergebnisse des FilmArray ME Panel sollten nicht als alleinige Grundlage für eine Diagnose oder Behandlung oder für andere richtungweisende Entscheidungen herangezogen werden. Positive Ergebnisse schließen eine Koinfektion mit anderen Organismen, die nicht mit dem FilmArray ME Panel nachgewiesen werden können, nicht aus. Nachgewiesene Erreger müssen nicht die alleinige Ursache für eine Erkrankung sein. Negative Ergebnisse schließen eine Infektion des Zentralen Nervensystems (ZNS) nicht aus. Nicht alle Agenzien einer ZNS-Infektion werden mit diesem Test nachgewiesen und die klinische Sensitivität kann von der Angabe auf der Packungsbeilage abweichen.

Das FilmArray ME Panel ist nicht für das Testen von Proben aus medizinischen ZNS-Dauergeräten vorgesehen.

Das FilmArray ME Panel ist für die Verwendung in Kombination mit Standard-Kulturen zur Regeneration von Organismen, zur Serotypisierung und für Resistenzprüfungen vorgesehen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG DES TESTS

Infektionen des Zentralen Nervensystems (ZNS) bewirken entzündliche Erkrankungen im Gehirn und/oder des meningealen Gewebes um das Gehirn (d. h. Meningitis, Encephalitis, Meningoencephalitis; hier zusammenfassend als ME bezeichnet). Ungefähr 15 % der Fälle sind tödlich und viele weitere führen zu lebenslangen Behinderungen, wie dem Verlust von Gliedmaßen, Seh- und Hörschwächen, Anfällen und veränderter Lern- und Gedächtniskapazität.¹ Das FilmArray ME Panel ist für die Durchführung von Tests für die Bestimmung 14 potenzieller ZNS-Erreger aus der CSF (Tabelle 1) ausgelegt. Die Proben können unter Verwendung des FilmArray ME Panel getestet werden und die Ergebnisse sind innerhalb einer Stunde verfügbar.

Tabelle 1. Bakterien, Viren und Hefe, die im FilmArray ME Panel nachgewiesen werden

Bakterien	
<i>Escherichia coli</i> K1	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Viren	
Zytomegalievirus (CMV)	Enterovirus (EV)
Humanes Herpesvirus 6 (HHV-6)	Herpes-simplex-Virus 1 (HSV-1)
Humanes Parechovirus (HPeV)	Herpes-simplex-Virus 2 (HSV-2)
Varizella-Zoster-Virus (VZV)	
Hefe	
<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	

Überblick über nachgewiesene Organismen

Bakterien

Bei nahezu 80 % der aus der CSF isolierten *E. coli* handelt es sich um ***Escherichia coli* K1** Stämme.² Während es sich bei der Mehrzahl der *E. coli* um harmlose enterische Organismen handelt, die im menschlichen und tierischen Darm vorhanden sind, gibt es einige, die Magen-Darm-Erkrankungen und extraintestinale Infektionen (z. B. Harnwegsinfektionen, Bakteriämie und Meningitis) verursachen. Die der Meningitis zugeordneten *E. coli* enthalten Virulenzfaktoren, die zu ihrer Pathogenese beitragen, indem sie ihre Verbreitung durch das Blut ermöglichen, normale Wirtszellfunktionen übernehmen, Endothelzellen infiltrieren und Zugang zum Gewebe des ZNS erhalten.³ Das K1-Antigen ist eine Kapsel, die dem Schutz der Bakterien vor dem Immunsystem dient. Diese Infektionen sind von besonderer Bedeutung für Früh- und Neugeborene und sind für nahezu 45 % bzw. 30 % der Meningitis-Fälle in diesen Altersgruppen verantwortlich mit einer entsprechenden Mortalitätsrate von 13 bzw. 25 %.⁴ Infektionen bei Erwachsenen sind seltener und für gewöhnlich opportunistischer Natur, als Ergebnis des Kontakts steriler Organe mit den Inhalten des Gastrointestinaltraktes infolge eines Traumas oder chirurgischer Eingriffe; die Mortalitätsrate für Erwachsene ist mit 28–36 % angegeben.^{5,6}

Haemophilus influenzae ist ein gramnegativer Kokkenbazillus, der ausschließlich aus dem Menschen isoliert wird.⁷ Die Stämme des *H. influenzae* sind in zwei Gruppen unterteilt, abhängig vom Vorhandensein oder Fehlen einer Polysaccharidkapsel.^{7,8} Verkapselte Stämme sind des Weiteren in sechs Serotypgruppen unterteilt (a bis f). Vor der weit verbreiteten Verwendung des Konjugatimpfstoffs *H. influenzae* Typ b (Hib), war Hib für >80 % der invasiven *H. influenzae* Infektionen, überwiegend bei Kindern unter fünf Jahren verantwortlich,⁷ mit einer Mortalitätsrate von 3 bis 6 % und weiteren 20 bis 30 %, die bleibende Schäden, von leichtem Hörverlust bis zu geistiger Behinderung entwickelten.⁸ In Gebieten mit routinemäßiger Impfung wird die Mehrzahl aller invasiven *H. influenzae* Infektionen von nicht typisierbaren Stämmen verursacht und gelten weiterhin als wichtige Ursache von Meningitis, insbesondere bei Personen mit prädisponierenden Erkrankungen wie Otitis oder Sinusitis, Diabetes, Immunschwäche oder Schädeltrauma mit Austritt von CSF.⁹ In den USA handelt es sich Schätzungen zufolge bei etwa 0,08 Fällen von 100.000 um eine von *H. influenzae* verursachte Meningitis,¹ die in 20–50 % der Fälle weltweit innerhalb der letzten Jahrzehnte als ätiologisches Agens der bakteriellen Meningitis bestimmt wurde.¹⁰

Das verursachende Agens von Listeriose, *Listeria monocytogenes*, ist ein grampositiver Bacillus, der in Erde und Wasser allgegenwärtig ist und bei bis zu 5 % aller gesunden Erwachsenen im Gastrointestinaltrakt nachgewiesen werden kann.^{11,12} Listeriose gilt aufgrund ihrer hohen Mortalitätsrate selbst bei frühzeitiger Behandlung mit Antibiotika (11–60 %) als eine der schwerwiegendsten lebensmittelbedingten bakteriellen Infektionen.^{12,13} Die invasive Listeriose kann Fehlgeburten, Sepsis, Meningitis und Meningoenzephalitis zur Folge haben. Zu den gefährdeten Bevölkerungsgruppen für die Ausbildung einer invasiven Listeriose zählen immunsupprimierte Menschen, Schwangere, Neugeborene, Föten und ältere Menschen.^{2,11} Meldungen zufolge liegt die jährliche Anzahl der von *L. monocytogenes* hervorgerufenen Fälle von Meningitis in den USA bei 0,05 pro 100.000¹ und gilt in Ländern außerhalb der USA als Ursache bei 0,5–2,0 % aller Fälle bakterieller Meningitis.¹⁰

***Neisseria meningitidis* (verkapselt)** sind obligat anaerobe gramnegative Diplokokken, die über Kontakt mit den Schleimhäuten oder durch Tröpfchen übertragen werden, oftmals von asymptomatischen Trägern. Es existieren mindestens 12 unterschiedliche Serogruppen von *N. meningitidis*, sechs davon stehen mit Epidemien in Zusammenhang (Gruppe A, B, C, W, X und Y).¹⁴ Die Serogruppe gibt die Art des Kapselantigens an, in der Regel wird nur die verkapselte Form der *N. meningitidis* als pathogen angesehen. Die Meningokokken-Erkrankung (spinale Meningitis und/oder Meningokokkämie) ist in entwickelten Ländern selten, kann jedoch in Ausbrüchen auftreten und stellt in Entwicklungsländern weiterhin ein Gesundheitsproblem dar. Sie tritt am häufigsten bei Säuglingen, Kindern und jungen Erwachsenen auf und in beengten Wohnverhältnissen (z. B. Uni-Schlafsäle und Militärcasernen). Die saisonale Inzidenz erreicht ihren Höhepunkt im Spätwinter und zu Frühlingsbeginn¹⁵ mit einer jährlichen Inzidenz von etwa 0,2 Fällen pro 100.000 in den USA.¹ Diese Erkrankung kann extrem schnell fortschreiten (< 24 Stunden) mit Hypotonie, multiplen Organdysfunktionen, Schock, peripherer Ischämie und dem Verlust von Gliedmaßen, und die Mortalitätsrate liegt ungefähr bei 5–10%.¹⁶ In den USA sind sechs zugelassene Impfstoffe verfügbar, die je nach Impfstoff für alle Altersgruppen verwendet werden können.¹⁷ Trotz umfangreicher Bemühungen weltweit um Impfungen, werden saisonbedingte Ausbrüche noch immer durch mehrere Serogruppen des *N. meningitidis* verursacht, insbesondere in Afrika, südlich der Sahara.¹⁴ Ein extremer Rückgang der Meningokokken-Meningitis der Serogruppe C war in Ländern zu verzeichnen, wo Impfstoffe als Schutz vor dieser Serogruppe eingeführt worden sind.¹⁸

Streptococcus agalactiae (Gruppe B *Streptococcus* oder GBS) ist eine wichtige Ursache der Meningitis bei Neugeborenen, insbesondere bei Frühgeburten und geht oftmals einher mit einer Neugeborenensepsis.^{2,19} Wichtigster Risikofaktor für die Erkrankung von Neugeborenen ist die Kolonisierung der Mutter mit GBS.² Seit 1996 geben die Richtlinien des CDC (2010 aktualisiert)²⁰ eine prophylaktische Behandlung mit Antibiotika mehrere Stunden vor der Geburt vor, was zu einem Rückgang der neonatalen GBS führte.²¹ Bei erwachsenen Patienten steht GBS mit fortgeschrittenem Alter oder schwerwiegenden bestehenden Gesundheitszuständen in Verbindung. Die Gesamtinzidenz in den USA wird auf 0,25 Infektionen pro 100.000 geschätzt,¹ die neonatale GBS-Erkrankung lag in den letzten Jahrzehnten in Europa bei 0,2–2,4 pro 1.000 Geburten.²² Die Mortalitätsrate für Neugeborene beträgt 10 %, ²³ für Erwachsene 25–30 %.^{24,25}

Streptococcus pneumoniae siedelt sich in den oberen Atemwegen an und gilt als der am häufigsten isolierte Erreger für Atemwegserkrankungen bei der ambulant erworbenen Pneumonie. Er ist zudem Hauptursache der Meningitis, insbesondere bei pädiatrischen und älteren Patienten und Menschen mit zugrundeliegenden Vorerkrankungen. Die Inzidenzrate liegt in den USA bei etwa 0,8 Infektionen pro 100.000¹ und er gilt in Ländern außerhalb der USA in 20–31 % der Fälle als Ursache der bakteriellen Meningitis.¹⁰ Zudem ist die Mortalitätsrate hoch: 8–15 % bei Kindern und 20–37 % bei Erwachsenen.²⁶ Die Mortalität nähert sich in ressourcenarmen Ländern an 50 %, insbesondere dort, wo HIV-Koinfektionen eine Rolle spielen.²⁷ Neurologische Folgeschäden (kognitive Beeinträchtigungen, Taubheit, Epilepsie) werden für bis zu 40 % der Überlebenden gemeldet.^{28,29} In den USA sind zwei zugelassene multivalente Pneumokokken-Impfstoffe (PPV23 und PCV13) verfügbar, die für Neugeborene, immungeschwächte Personen und Personen über 65 empfohlen werden³⁰ und dazu beitragen, das Risiko der invasiven Erkrankung und der Pneumokokken-Pneumonie um 50–80 % zu senken.³¹

Viren

Das humane **Zytomegalievirus** (CMV) ist ein doppelsträngiges DNA-Virus der *Herpesviridae*-Familie. Seroprävalenzdaten zeigen, dass die Infektion in der weltweiten Bevölkerung nahezu allgegenwärtig ist. In Entwicklungsländern liegt die Anzahl bei nahezu 100 %, ³² in den USA je nach Alter und ethnischer Herkunft bei 36–90 %. ³³ Die Übertragung von CMV durch die Mutter kann zu einer kongenitalen Infektion mit schwerwiegenden langfristigen Folgeschäden führen, in der Regel jedoch bleiben die Infektionen bei gesunden Individuen weitgehend unbemerkt oder führen zu Mononukleose-ähnlich Krankheitsbildern. Auch wenn eine schwerwiegende Erkrankung bei immunkompetenten Patienten selten auftritt, ³⁴ ist das CMV für immungeschwächte oder immunsupprimierte Personen ein opportunistischer Erreger, entweder als Erstinfektion oder Aktivierung einer latenten Infektion. Schätzungen zufolge entwickelten nahezu die Hälfte aller HIV-infizierten Patienten vor der Verfügbarkeit der hochaktiven antiretroviralen Therapie in den 90er Jahren eine schwere CMV-Infektion, in erster Linie eine CMV-Retinitis, Colitis oder Pneumonie. ³⁵ Unbehandelt kann die CMV in diesen Bevölkerungsgruppen tödlich verlaufen.

Enteroviren (EV) sind kleine RNA-Viren, die zur *Picornaviridae*-Familie gehören und mit menschlichen Erkrankungen in Verbindung stehen, die von asymptomatischen oder milden Infektionen bis zu schweren ZNS-Erkrankungen mit erforderlicher stationärer Einweisung reichen. Die Infektionsraten sind am höchsten bei Kindern und die Mehrzahl aller Infektionen tritt während der Sommermonate auf. ³⁶ Zu den häufigsten EV-Serotypen zählen die Coxsackie-Viren A9 und B1 sowie die Echoviren 6, 9 und 18, die über 50 % der serotypisierten Nachweise ausmachen. ³⁶ Die Infektion erfolgt auf fäkal-oralem Weg und über Inhalation und kann sich in Menschenansammlungen schnell verbreiten, insbesondere in Gebieten mit schlechten sanitären Bedingungen. ³⁷ EV gilt als eine der häufigsten nachgewiesenen Ursachen der infektiöse Enzephalitis/Meningitis, Angaben zufolge mit Prävalenzraten zwischen 5,5 und 30 %, je nach geographischer Lage und Demographie des Patienten. ^{38–40}

Herpes-simplex-Viren 1 und 2 (HSV-1 und HSV-2) sind DNA-Viren aus der Familie *Herpesviridae*, benannt nach der Ausbreitung von Hautulzerationen, die durch Infektionen mit diesen Viren verursacht werden. HSV-1-Infektionen treten für gewöhnlich in der frühen Kindheit auf und sind in erster Linie an oralen Läsionen erkennbar, während HSV-2 vorwiegend mit Genitalläsionen in Verbindung gebracht wird, wobei die Infektion später im Leben erworben wird und in Zusammenhang mit sexueller Aktivität steht. Nach der Erstinfektion (die in den meisten Fällen asymptomatisch verläuft) siedelt sich HSV in den Nervenzellen an. Die Virusaktivierung mit Läsionen oder sonstigen schwerwiegenden Krankheitsverläufen (beispielsweise eine ZNS-Infektion) als Folge können im Verlauf des Lebens auftreten und stehen in Zusammenhang mit Fieber, Verletzungen, Einwirkung von UV-Strahlung (Sonnenlicht), emotionalem Stress, hormonalen Unregelmäßigkeiten und Veränderungen des Immunstatus. ³⁷ In den USA liegt die Gesamtseroprävalenz für HSV-1 bei etwa 60 %. ⁴¹ Die Gesamtseroprävalenz für HSV-2 liegt etwa bei 16 %, variiert jedoch je nach Alter, Geschlecht und ethnischer Herkunft. ⁴² Schätzungen zufolge sind weltweit ca. 90 % der Menschen mit HSV-1 infiziert, die Häufigkeit von HSV-2 ist geringer, mit einem Anteil von 15–80 % infizierter Menschen. ⁴³ HSV ist eine der häufigsten Ursachen der viralen Enzephalitis und gilt als wesentliche Ursache der Meningitis. In einer breit angelegten Studie mit über 1600 CSF-Proben in Großbritannien, ⁴⁴ konnte HSV-1 bei 25 (1,5 %) Patienten (nahezu durchgängig mit Enzephalitis) und HSV-2 bei 33 (1,9 %) Patienten (nahezu durchgängig mit Meningitis) nachgewiesen werden. Diese Gesamtprävalenz von ca. 3 % in der CSF ähnelt den Ergebnissen einer kürzlich durchgeführten Studie mit CSF-Patienten im US-Bundesstaat New York. ⁴⁰ Diese Studie zeigte außerdem eine ähnliche Verteilung von HSV-1 und HSV-2 bei Enzephalitis ggü. Meningitis.

Das **Humane Herpesvirus 6** (HHV-6) wurde Mitte der 80er Jahre entdeckt, ⁴⁵ als der Anstieg immungeschwächter Patienten zu einem Anstieg der Population von Personen führten, die für schwere Krankheitsverläufe anfällig sind. ³⁷ Es existieren zwei Typen des Virus: HHV-6A und HHV-6B. Studien haben gezeigt, dass über 95 % der Menschen im Alter von mehr als zwei Jahren für eine der beiden Varianten ein positives Ergebnis aufweisen ⁴⁶ und die Infektion aufgrund der viralen Integration in Wirtszellen zu Latenz führt. Während die Erstinfektion mit HHV-6B bei Säuglingen Hautausschlag (Roseolen) verursacht, ist die klinische Manifestation einer Erstinfektion mit HHV-6A relativ unbekannt; einige Studien deuteten jedoch darauf hin, dass eine HHV-6A-Infektion mit entzündlichen oder neurologischen Erkrankungen in Verbindung stehen könnte und dass HHV-6A im Vergleich zu HHV-6B einen erhöhten Neurotropismus aufweist. ^{47,48}

Diese Hypothese wird durch die Erkenntnis unterstützt, dass sich HHV-6 in ZNS-Gewebe, einschließlich dem Gehirn, ansiedelt,⁴⁹ wo es Gewebeschäden verursachen und letztendlich zu Enzephalitis/Meningitis führen kann. Des Weiteren konnte HHV-6 in einer kürzlich durchgeführten Studie in der CSF von 1,8 % der Patienten mit Enzephalitis/Meningitis nachgewiesen werden.⁴⁰ Die dem HHV-6 zugeordnete Erkrankung des ZNS tritt sowohl bei Kindern als auch Erwachsenen auf, was darauf hindeutet, dass eine ZNS-Invasion während der Erstinfektion möglich ist.⁴⁶ Auch wenn eine Infektion des ZNS bei immunkompetenten Personen möglich ist, tritt sie weitaus häufiger bei stark immunsupprimierten Personen auf.^{37,46} Dennoch ist bekannt, dass HHV-6 bei asymptomatischen Patienten eine Reaktivierung hervorruft und durch PCR bei ansonsten gesunden Personen ohne Anzeichen einer aktiven HHV-6-Infektion nachgewiesen werden kann.⁵⁰ In HHV-6-Studien an normalem Hirngewebe konnte zudem durch PCR bei bis zu 85 % der Patienten ohne Anzeichen einer aktiven Infektion HHV-6-DNA nachgewiesen werden⁵¹ und die HHV-6-DNA kann nach einer akuten Infektion in der CSF fortbestehen. In einer Studie von 56 Patienten der allogenen Stammzellentransplantation konnte HHV-6-DNA in der CSF von 14 (27 %) der Patienten ohne ZNS-Symptome nachgewiesen werden.⁵² Aufgrund der Prävalenz latenter Infektionen und der potenziellen asymptomatischen Reaktivierung sollte die Interpretation positiver HHV-6-Ergebnisse sorgfältig in Verbindung mit den klinischen Symptomen und zusätzlichen Labortests erfolgen.

Humane Parechoviren (HPeV) sind eine weitere Gattung der Familie *Picornaviridae*. HPeV wurden bei ihrer Entdeckung in den 50er Jahren ursprünglich als Enteroviren klassifiziert und es wurden mindestens ein Dutzend Serotypen bestimmt. Die Seroprävalenz für HPeV-1 erreicht in der erwachsenen Bevölkerungsgruppe 100 %, wobei die Mehrheit aller Infektionen in der frühen Kindheit auftreten.^{53–55} Ebenso wie bei EV erfolgt die Übertragung auf fäkal-oralem Weg und über Inhalation und zu den häufigsten Symptomen zählen leichte Erkrankungen der Atemwege oder des Gastrointestinaltrakts.⁵³ ZNS-Erkrankungen durch HPeV-1 sind selten, HPeV-3 wird jedoch mit schweren Erkrankungen, wie Sepsis, Enzephalitis, Meningitis und Hepatitis bei Kindern unter 3 Monaten in Verbindung gebracht.⁵⁶ In kürzlich durchgeführten CSF-Studien an Säuglingen mit vermuteter ZNS-Erkrankung oder Sepsis konnte HPeV mit einer Prävalenz von 3–17 % nachgewiesen werden, wobei es sich in nahezu allen Fällen um HPeV-3 handelte.^{57–59} Magnetresonanztomographie-Studien von Säuglingen, die eine HPeV-ZNS-Erkrankung überleben, zeigen Schäden an der weißen Hirnsubstanz und Entwicklungsstörungen im späteren Leben.⁶⁰

Das **Varicella-Zoster-Virus (VZV)** ist ein Doppelstrang-DNA-Virus aus der Familie der *Herpesviridae*, das in der Regel Infektionen in der Kindheit hervorruft (Windpocken) und eine latente Präsenz in den Zellen bildet, die später im Leben reaktiviert werden kann (im Alter auftretende Zoster oder Gürtelrose). Die Verbreitung von VZV erfolgt in erster Linie durch die Übertragung von Viruspartikeln einer infizierten Person auf dem Luftweg und die Infektion eines neuen Hosts beginnt in den Epithelzellen der Atemwege. Nach der Erstinfektion (Fieber und Unwohlsein begleitet von makulopapulösem Hautausschlag), siedelt sich VZV in den sensorischen Ganglien des Nervensystems an, wo es latent verbleibt.³⁷ Vor der Einführung von Impfstoffen waren in den USA nahezu 90 % der Bevölkerung mit VZV infiziert.³⁷ In europäischen Ländern wurden ähnliche Zahlen verzeichnet.^{61,62} 10–30 % der Infizierten entwickeln einen Zoster (ein schmerzhafter Ausschlag entlang der dorsalen Ganglien), überwiegend im späteren Leben.^{63,64} Es wird davon ausgegangen, dass die durchschnittliche globale Inzidenz von Zoster 4,0–4,5 pro 1.000 Menschen jährlich beträgt,⁶⁵ was die Häufigkeit der VZV-Reaktivierung weltweit verdeutlicht. Studienergebnissen zufolge ist VZV durch PCR transient im Blut älterer, asymptomatischer (sowohl immunkompetenter als auch immungeschwächter) Personen nachweisbar, was auf eine Reaktivierung im Verlauf des Lebens hindeutet, die jedoch in der Regel vom Immunsystem bewältigt wird.^{66,67} Enzephalitis und Meningitis sind Komplikationen sowohl der Varizella- als auch der Zoster-Infektion. In einer Studie konnte VZV als das am dritthäufigsten nachgewiesene Virus bei Patienten mit Anzeichen und Symptomen einer Enzephalitis/Meningitis bestimmt werden, mit einer berichteten Prävalenz von 1,9 % in der Studienpopulation.⁴⁰ Für immungeschwächte Patienten kann die neuronale VZV-Erkrankung chronisch werden und zu einer fortschreitenden Verschlechterung und zum Tode führen.⁶³ Es existieren zwei attenuierte VZV-Lebendimpfstoffe, die für die Verwendung in den USA zugelassen sind: eine für die Impfung von Kindern gegen Varizellen, die andere gegen Zoster bei älteren Erwachsenen.⁶⁸

Hefe

Cryptococcus neoformans* und *Cryptococcus gattii sind pathogene Pilze, die im Erdboden und in Vogelkot zu finden sind und durch Einatmen und der Ausbreitung auf andere Organsysteme (insbesondere das Gehirn und die Hirnhäute) pathogen werden. *C. neoformans* gilt als opportunistischer Erreger immungeschwächter Personen. Es ist die AIDS-definierende Erkrankung bei bis zu 50 % aller AIDS-Patienten.^{2,69} *C. gattii*-Infektionen sind relativ selten, scheinen jedoch zuzunehmen. Auch wenn sie für gewöhnlich mit tropischem und subtropischem Klima assoziiert werden, sind *C. gattii*-Infektionen seit den 90er Jahren in British Columbia, Kanada, im Pazifischen Nordwesten der USA, im Nordosten der USA und in Europa gemeldet worden.^{70–73} Neben den Personen mit eingeschränkter Funktion des Immunsystems, kann *C. gattii* außerdem Erkrankungen bei immunkompetenten Personen hervorrufen, insbesondere bei Personen mit zugrundeliegenden Vorerkrankungen.² Die Mortalität der Kryptokokkenmeningitis ist hoch und variiert von 10 % bis nahezu 50 % bei immungeschwächten Patienten.^{69,72}

Grundsätzliche Vorgehensweise

Der FilmArray ME-Riegel ist ein geschlossenes Einwegsystem, in dem sämtliche chemischen Substanzen enthalten sind, die nötig sind, um Nukleinsäure aus mehreren Erregern von Meningitis und Enzephalitis in einer einzigen durch Lumbalpunktion gewonnenen CSF-Probe zu isolieren, zu amplifizieren und nachzuweisen. Die starre Kunststoffkomponente (Einsatz) des FilmArray ME-Riegels enthält Reagenzien in gefriergetrockneter Form. Der flexible Kunststoffteil des Riegels ist in einzelne Segmente (Blister) unterteilt, wo die erforderlichen chemischen Prozesse ausgeführt werden. Der Anwender des FilmArray ME Panel lädt die Probe in den FilmArray ME-Riegel, bringt den Riegel in das FilmArray-Gerät/Module ein und startet den Lauf. Alle anderen Vorgänge sind automatisiert.

Überblick über das Testverfahren:

1. Nehmen Sie den FilmArray-Riegel aus seiner vakuumversiegelten Verpackung. Da Lösungen durch Unterdruck in den FilmArray ME-Riegel gesaugt werden, ist es wichtig, die Riegel bis zu ihrer Verwendung in der schützenden Verpackung zu lassen.
2. Legen Sie den FilmArray ME-Riegel in die FilmArray Pouch Loading Station (Ladestation für Riegel). Durch das Design der FilmArray Pouch Loading Station (Ladestation für Riegel) sollen Fehler vermieden werden, und zwar mittels Anweisungen und visueller Hinweise in Form von farbkodierten Pfeilen, um sicherzustellen, dass der Riegel ordnungsgemäß geladen wird.
3. Laden Sie Hydration Solution (Hydrierungslösung) in den FilmArray ME-Riegel unter Verwendung des Hydration Injection Vial (Injektionsröhrchen für die Hydrierung). Das Injektionsröhrchen ist mit einer stumpfen Edelstahlkanüle versehen, die dazu verwendet wird, die Lösung in den Riegel zu geben. Durch Beladen des Riegels mit Hydration Solution (Hydrierungslösung) werden die gefriergetrockneten Reagenzien, die im Riegeleinsatz enthalten sind, rehydriert.
4. Drücken Sie die Ampulle mit dem Sample Buffer (Probenpuffer) zusammen, um den Inhalt in das Sample Injection Vial (Injektionsröhrchen für die Probe) zu geben und fügen Sie mit der Transfer Pipette (Transferpipette) die CSF-Probe hinzu. Den Deckel des Sample Injection Vial (Injektionsröhrchen für die Probe) fest verschließen und es umdrehen, um eine Mischung herzustellen. Der Sample Buffer (Probenpuffer) enthält Reagenzien, die die Bindung von Nukleinsäuren an Magnetkügelchen zur Isolierung verbessern.
5. Laden Sie die Probe/Puffer-Mischung in den FilmArray ME-Riegel unter Verwendung des Sample Injection Vials (Injektionsröhrchens für die Probe). Wenn die Probenmischung geladen ist, wird eine Prozesskontrolle, die im Einsatz des Riegels enthalten ist, in die Probe eingeführt. Die Prozesskontrolle überwacht alle kritischen Prozesse, die im Riegel ablaufen.

6. Bringen Sie den Riegel in das Gerät/Module ein und initiieren Sie einen Lauf. Die FilmArray Software bietet Bildschirmanimationen zur Veranschaulichung der Schritte, die nötig sind, um den Lauf zu starten.
7. Sie können sich die Testergebnisse im Befund nach Abschluss des Laufs ansehen.

Überblick über die Vorgänge und Prozesse, die während eines FilmArray-Laufs stattfinden:

1. **Nukleinsäurereinigung** – Die Nukleinsäurereinigung findet in den ersten drei Blistern des Riegels statt. Die Probe wird durch Erschütterung (Bead Beating) lysiert, und die freigesetzte Nukleinsäure wird mittels Magnetkugelchentechnik (Magnetic Bead Technology) gebunden, gereinigt und eluiert. Diese Schritte erfordern etwa zehn Minuten, und die Vorrichtung für die mechanische Lyse kann während der ersten Minute des Betriebs einen hohen langgezogenen Ton erzeugen.
2. **Reverse Transkription und Multiplex PCR 1. Stufe** – Da es sich bei einigen Krankheitserregern, die durch den FilmArray ME-Riegel identifiziert werden, um RNA-Viren handelt, wird ein reverser Transkriptionsschritt (RT) durchgeführt, um die virale RNA vor der Amplifizierung in cDNA umzuwandeln. Die gereinigte Nukleinsäurelösung wird mit einer vorerwärmten Master-Mischung kombiniert, um den RT-Schritt zu initiieren und anschließend einem Thermocycling für Multiplex-PCR unterzogen. Das Ziel der 1. PCR-Stufe ist die Anreicherung der Ziel-Nukleinsäuren, die in der Probe vorhanden sind.
3. **PCR 2. Stufe** – Die Produkte der PCR der 1. Stufe werden mit frischen PCR-Reagenzien, die einen interkalierenden, fluoreszierenden DNA-Farbstoff (LCGreen[®] Plus, BioFire Defense, LLC) enthalten, verdünnt und gemischt. Diese Lösung wird über das Array der PCR der 2. Stufe verteilt. Die einzelnen Vertiefungen des Arrays enthalten Primer für verschiedene Assays (jeweils dreifach vorhanden), die auf spezifische Nukleinsäuresequenzen von jedem der nachgewiesenen Krankheitserreger abzielen, ebenso wie auf das Kontroll-Template-Material. Diese Primer sind in die spezifischen Produkte der Multiplexreaktion der 1. Stufe eingebettet (nested PCR), was sowohl die Sensitivität als auch die Spezifität der Reaktionen erhöht.
4. **DNA-Schmelzanalyse** – Nach der PCR der 2. Stufe wird die Temperatur langsam erhöht, und die Fluoreszenz in jeder Vertiefung des Arrays wird überwacht und analysiert, um eine Schmelzkurve zu erzeugen. Die Temperatur, bei der ein spezifisches PCR-Produkt schmilzt (Schmelztemperatur oder T_m), ist konsistent und vorhersagbar und die FilmArray Software evaluiert die Daten aus den Replikationsvertiefungen für jeden Assay, um Ergebnisse zu erzielen. Eine Beschreibung der Dateninterpretation und der Befunde finden Sie im Abschnitt „Interpretation von Ergebnissen“ in diesem Benutzerhandbuch.

Die FilmArray Software steuert den Betrieb des Geräts/Module, sammelt und analysiert Daten und erzeugt automatisch einen Testbefund am Ende des Laufs. Der gesamte Prozess dauert etwa eine Stunde. Weitere Einzelheiten sind im entsprechenden FilmArray Benutzerhandbuch zu finden.

IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

Jedes Kit enthält ausreichend Reagenzien, um 30 oder 6 Proben zu testen:

- Einzeln verpackte FilmArray ME Panel
- Ampulle (1,0 ml) mit Sample Buffer (Probenpuffer)
- Hydration Injection Vials (Injektionsröhrchen für die Hydrierung, 1,5 ml) für die einmalige Verwendung (blau)
- Sample Injection Vials (Injektionsröhrchen für die Probe) für die einmalige Verwendung (rot)
- Einzeln verpackte Transfer Pipettes (Transferpipetten)

NOTWENDIGE MATERIALIEN, DIE NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN SIND

FilmArray System mit:

- FilmArray, FilmArray 2.0 oder FilmArray Torch und Software
- FilmArray Pouch Loading Station (Ladestation für Riegel)

WARNHINWEISE UND EMPFEHLUNGEN FÜR VORSICHTSMASSNAHMEN

Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur zur Verwendung für *in vitro*-Diagnostika.
2. Dieses Gerät darf nur an einen Arzt oder im Auftrag eines Arztes oder an ein klinisches Labor verkauft werden; es darf nur von oder nach Anweisung eines Arztes verwendet werden.
3. Medizinisches Fachpersonal sollte die Ergebnisse des FilmArray ME Panel unter Berücksichtigung der Anzeichen und Symptome eines Patienten und der Ergebnisse von anderen Diagnostetests sorgfältig interpretieren.
4. FilmArray ME-Riegel dürfen nur mit dem FilmArray-Gerät verwendet werden.
5. Prüfen Sie stets das Ablaufdatum auf dem Riegel und verwenden Sie keinen Riegel nach dessen Ablaufdatum.
6. FilmArray Riegel werden vakuumversiegelt und in einzeln verpackten Behältern gelagert. Um das Vakuum im Riegel für einen ordnungsgemäßen Betrieb zu bewahren, ist sicherzustellen, dass ein FilmArray-Gerät/Module verfügbar und betriebsbereit ist, bevor ein Riegel für das Laden entpackt werden.

Sicherheitsmaßnahmen

1. Tragen Sie angemessene persönliche Schutzausrüstung (PSA), unter anderem puder-freie Einweghandschuhe und Laborkittel. Schützen Sie Ihre Haut, Ihre Augen und Ihre Schleimhäute. Wechseln Sie die Handschuhe regelmäßig, wenn Sie mit Reagenzien oder Proben umgehen.
2. Behandeln Sie alle Proben und Abfälle als infektiöse Materialien. Befolgen Sie Sicherheitsregeln, wie sie beispielsweise in CDC/NIH *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*,⁷⁴ dem CLSI-Dokument M29 *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*,⁷⁵ angegeben sind, oder andere einschlägige Richtlinien.
3. Befolgen Sie die Sicherheitsvorschriften Ihrer Institution für den Umgang mit biologischen Proben.
4. Entsorgen Sie Materialien, die in diesem Assay verwendet wurden, einschließlich Reagenzien, Proben und benutzte Pufferröhrchen, entsprechend den staatlichen, nationalen und lokalen Vorschriften.
5. Der Sample Buffer (Probenpuffer) ist folgendermaßen klassifiziert: Akut toxisch (Kategorie 4), schwere Augenschäden (Kategorie 1) und Hautreizung (Kategorie 2). Weitere Informationen finden Sie auf dem FilmArray Reagent Kit Sicherheitsdatenblatt (SDS).
6. Der Sample Buffer (Probenpuffer) bildet gefährliche Verbindungen und Dämpfe, wenn er mit Bleiche oder anderen Desinfektionsmitteln gemischt wird.

WARNUNG: Bleiche sollte niemals zum Sample Buffer (Probenpuffer) oder zu Probenabfällen hinzugegeben werden.

Laborvichtsmaßnahmen

1. Verhinderung einer Kontamination mit Organismen

Wegen der hohen Sensitivität des FilmArray ME Panels ist es wichtig, Maßnahmen gegen eine Kontamination der Proben und des Arbeitsbereichs zu ergreifen, indem die in diesem Handbuch angegebenen Testverfahren, einschließlich dieser Richtlinien befolgt werden:

- Die Proben sollten in einem Biosicherheitsschrank verarbeitet werden. Wird kein Biosicherheitsschrank verwendet, sollte bei der Vorbereitung der Proben eine Dead Air Box (z. B. AirClean PCR Workstation), ein Gesichtsschutzschirm (z. B. Bel-Art Scienceware Splash Shields) oder ein Schutzvisier verwendet werden.
- Ein Biosicherheitsschrank, der für den CSF-Nachweis von Pathogenen (z. B. Kultur) genutzt wird, sollte nicht zur Vorbereitung der Proben oder dem Laden der Riegel genutzt werden.
- Reinigen Sie vor der Verarbeitung einer Probe sowohl den Arbeitsbereich als auch die FilmArray Pouch Loading Station (Ladestation für Riegel) gründlich unter Verwendung eines geeigneten Reinigungsmittels, wie beispielsweise frisch zubereiteter 10% iger Bleiche oder eines ähnlichen Desinfektionsmittels. Wischen Sie die desinfizierten Oberflächen zur Vermeidung der Ansammlung von Rückständen, möglichen Schäden an den Proben oder Wechselwirkungen mit den Desinfektionsmitteln mit Wasser ab.
- Es sollte jeweils immer nur eine Probe und ein Riegel in Arbeit sein.
- Verwenden Sie saubere Handschuhe für das Entnehmen von Materialien aus Großpackungen und versiegeln Sie die Großpackungen erneut, wenn diese nicht verwendet werden.
- Wechseln Sie Ihre Handschuhe und reinigen Sie den Arbeitsbereich zwischen der Bearbeitung jeder einzelnen Patientenprobe.

2. Vermeidung einer Amplifikat-Kontamination

Eine verbreitete Sorge im Zusammenhang mit Assays auf PCR-Basis sind falsch-positive Ergebnisse, die von einer Kontamination des Arbeitsbereichs mit PCR-Amplifikaten verursacht werden. Da der FilmArray ME-Riegel ein geschlossenes System darstellt, ist das Risiko einer Kontamination mit Amplifikaten gering, vorausgesetzt, die Riegel bleiben intakt, nachdem der Test abgeschlossen wurde. Halten Sie sich an die folgenden Regeln, um eine Kontamination mit Amplifikaten zu vermeiden:

- Entsorgen Sie benutzte Riegel in einem geeigneten Gefahstoffbehälter sofort nach Abschluss des Laufs.
- Vermeiden Sie eine übermäßige Handhabung der Riegel nach den Testdurchläufen so weit wie möglich.
- Vermeiden Sie einen Kontakt der Riegel mit scharfen Kanten oder allen Dingen, die zu einer Beschädigung der Hülle führen könnten.
- Verwenden Sie saubere Handschuhe für das Entnehmen von Materialien aus Großpackungen und versiegeln Sie die Großpackungen erneut, wenn diese nicht verwendet werden.

WARNUNG: Wenn Flüssigkeit an der Außenseite eines Riegels zu sehen ist, sollten die Flüssigkeit und der Riegel sofort eingeschlossen und in einem Behälter für biologische Gefahrstoffe entsorgt werden. Das Gerät/Module und der Arbeitsplatz müssen wie im entsprechenden FilmArray Benutzerhandbuch beschrieben dekontaminiert werden.

FÜHREN SIE WEITERE TESTS ERST DURCH, NACHDEM DER BEREICH DEKONTAMINIERT WURDE.

Vorsichtsmaßnahmen im Hinblick auf die Gesundheitsberichterstattung in den USA

Lokale und bundesstaatliche Vorschriften sowie Bundesverordnungen im Hinblick auf die Berichterstattung über meldepflichtige Krankheiten werden ständig aktualisiert und beinhalten eine Reihe von Organismen, die überwacht werden müssen und deren gehäuftes Vorkommen untersucht werden muss.^{76,77} Darüber hinaus gibt es von den Centers for Disease Control (CDC) die Empfehlung, dass für den Fall, dass im Zuge eines kulturunabhängigen diagnostischen Tests Pathogene meldepflichtiger Krankheiten entdeckt werden, das betroffene Labor die Gewinnung des Isolats oder klinischer Materialien zur Einsendung beim zuständigen Labor für öffentliche Gesundheit erleichtern soll, um bei der Erkennung eines Ausbruchs und den epidemiologischen Untersuchungen mitzuhelfen. Jedes Labor ist für die Befolgung der jeweils geltenden staatlichen und/oder lokalen Vorschriften verantwortlich und sollte die Vorschriften für die Einsendung von Isolaten und/oder klinischen Proben beim zuständigen lokalen oder staatlichen Labor für öffentliche Gesundheit erfragen.

AUFBEWAHRUNG, HANDHABUNG UND LAGERUNG VON REAGENZIEN

1. Lagern Sie das Test Kit, einschließlich der Reagenzriegel und Puffer, bei Raumtemperatur (15–25 °C). **NICHT KÜHLEN.**
2. Vermeiden Sie eine Lagerung dieser Materialien in der Nähe der Heizung oder von Kühlgebläsen oder in direktem Sonnenlicht.
3. Alle Kit-Komponenten sollten zusammen gelagert und verwendet werden. Verwenden Sie keine Komponenten eines Kits zusammen mit denen eines anderen Kits. Entsorgen Sie sämtliche zusätzlichen Komponenten des Kits, nachdem alle Riegel verwendet wurden.
4. Prüfen Sie stets das Ablaufdatum und verwenden Sie keine Reagenzien nach dem auf dem Riegel oder dem Kit aufgedruckten Ablaufdatum.
5. Nehmen Sie die Riegel nicht aus ihrer Verpackung, bis eine Probe bereit zum Testen ist. Sobald die Verpackung des Riegels geöffnet wurde, sollte dieser so schnell wie möglich geladen werden (innerhalb von ungefähr 30 Minuten).
6. Sobald ein Riegel geladen wurde, sollte der Test so bald wie möglich gestartet werden (innerhalb von 60 Minuten).

PROBENNAHME UND -VORBEREITUNG

Dieser Abschnitt beschreibt die Anforderungen an die Probennahme, die Vorbereitung und die Handhabung von Proben, die dazu beitragen sollen, zuverlässige Testergebnisse zu liefern.

CSF-Probenentnahme – Die CSF-Proben sollten durch Lumbalpunktion entnommen werden und nicht zentrifugiert werden.

Mindest-Probenvolumen – 0,2 ml (200 µl) CSF-Proben sind zum Testen erforderlich.

Transport und Lagerung – Proben für das FilmArray ME Panel sollten so schnell wie möglich verarbeitet und getestet werden. Wenn eine Lagerung erforderlich ist, können die Proben bis zu einem Tag bei Raumtemperatur (ungefähr 23 °C) oder bei Kühlschranktemperatur (ungefähr 4 °C) bis zu sieben Tagen aufbewahrt werden.

VORGEHENSWEISE

Weitergehende Angaben und Abbildungen zu diesen Anleitungen finden Sie in der Kurzanleitung für das FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel, im FilmArray-Trainingsvideo oder im entsprechenden FilmArray Benutzerhandbuch.

Beim Umgang mit Riegeln und Proben sollten Handschuhe und andere persönliche Schutzausrüstung (PSA) verwendet werden. Es sollte jeweils nur ein FilmArray ME-Riegel präpariert werden. Sobald die Probe in den Riegel gegeben wurde, sollte der Riegel umgehend in das Gerät/Module überführt werden, um den Lauf zu starten. Nach Abschluss des Laufs sollte der Riegel in einem Behälter für biologische Gefahrstoffe entsorgt werden.

Vorbereitung des Riegels

1. Reinigen Sie den Arbeitsbereich und die FilmArray Pouch Loading Station (Ladestation für Riegel) mit frisch zubereiteter 10%iger Bleiche (oder einem geeigneten Desinfektionsmittel) und spülen Sie mit Wasser nach.
2. Reißen oder schneiden Sie die eingekerbte äußere Verpackung auf, entfernen Sie sie und öffnen Sie den Aluminiumschutzbehälter, um den Riegel aus seiner vakuumversiegelten Packung zu entnehmen.

HINWEIS: Der Riegel kann auch benutzt werden, wenn die Vakuumversiegelung beschädigt ist. Unternehmen Sie einen Hydrierungsversuch und folgen Sie dabei den Anweisungen unten im Abschnitt Hydrierung des Riegels. Wenn die Hydrierung erfolgreich war, bereiten Sie den Lauf vor. Ist die Hydrierung fehlgeschlagen, entsorgen

3. Schieben Sie den Riegel in die FilmArray Pouch Loading Station (Ladestation für Riegel), sodass die roten und blauen Etiketten am Riegel auf gleicher Linie liegen wie die roten und blauen Pfeile an der FilmArray Pouch Loading Station (Ladestation für Riegel).
4. Setzen Sie ein Hydration Injection Vial (Injektionsröhrchen für die Hydrierung) mit blauer Kappe in die blaue Vertiefung der FilmArray Pouch Loading Station (Ladestation für Riegel).
5. Setzen Sie ein Sample Injection Vial (Injektionsröhrchen für die Probe) mit roter Kappe in die rote Vertiefung der FilmArray Pouch Loading Station (Ladestation für Riegel).

Hydrierung des Riegels

1. Schrauben Sie das Hydration Injection Vial (Injektionsröhrchen für die Hydrierung) ab und heben Sie es ab, lassen Sie die blaue Kappe in der Vertiefung der FilmArray Pouch Loading Station (Ladestation für Riegel).
2. Führen Sie die Spitze der Kanüle in die Öffnung des Riegeleinsatzes ein, die sich direkt unterhalb des blauen Pfeils der FilmArray Pouch Loading Station (FilmArray Ladestation für Riegel) befindet. Schieben Sie sie mit Nachdruck mit einer festen und schnellen Bewegung nach unten, bis Sie ein leises „Plop“ hören und fühlen, dass der Widerstand nachlässt. Durch das Vakuum wird das korrekte Flüssigkeitsvolumen in den Riegel gezogen.
3. Vergewissern Sie sich, dass der Riegel hydriert worden ist. Klappen Sie das Barcode-Etikett nach unten, um zu sehen, ob die Reagenzvertiefungen von der Flüssigkeit erreicht worden sind (dieses befindet sich an der Basis des starren Kunststoffteils des Riegels). Möglicherweise sind kleine Luftbläschen zu sehen. Falls der Riegel nicht hydriert worden ist (trockene Reagenzien erscheinen als weiße Pellets), wiederholen Sie Schritt 2, um sicherzugehen, dass das Siegel der Öffnung zerbrochen wurde, oder holen Sie sich einen neuen Riegel und wiederholen Sie Schritt 2 des Abschnitts über die Vorbereitung des Riegels.

Vorbereitung der Probenmischung

1. Halten Sie die Ampulle mit dem Sample Buffer (Probenpuffer) so, dass die Spitze nach oben zeigt.

HINWEIS: Achten Sie darauf, die Spitze während der Handhabung nicht zu berühren, da dies zu einer Kontamination führen kann.

2. Drücken Sie die texturierte Kunststoffflasche an der Seite der Ampulle sanft zusammen, bis der Verschluss aufsnappt.
3. Setzen Sie die Ampulle mit der Öffnung nach unten über das Sample Injection Vial (Injektionsröhrchen für die Probe) mit roter Kappe und setzen Sie den Daumen und den Zeigefinger an der Ampulle an, um sie am Boden zu greifen. Drücken Sie den Sample Buffer (Probenpuffer) durch langsames, kräftiges Drücken heraus, drücken Sie danach ein zweites Mal. Wenn Sie die Ampulle öfter zusammendrücken, erzeugt dies zu viele Luftbläschen, was zu vermeiden ist.
4. Mischen Sie die Patientenprobe gründlich.
5. Verwenden Sie die Transfer Pipette (Transferpipette), die im Test Kit enthalten ist, und ziehen Sie die cerebrospinale Flüssigkeit (CSF) bis zur zweiten Linie (etwa 0,2 ml) auf. Geben Sie die Probe zum Sample Buffer (Probenpuffer) in das Sample Injection Vial (Injektionsröhrchen für die Probe). Verschließen Sie den Deckel des Sample Injection Vial (Injektionsröhrchen für die Probe) dicht und entsorgen Sie die Transfer Pipette (Transferpipette) in einem Behälter für biologische Gefahrstoffe.

HINWEIS: Verwenden Sie die Transfer Pipette (Transferpipette) NICHT, um die Probe zu mischen, nachdem sie in das Sample Injection Vial (Injektionsröhrchen für die Probe)

6. Nehmen Sie das Sample Injection Vial (Injektionsröhrchen für die Probe) aus der FilmArray Pouch Loading Station (Ladestation für Riegel) und kippen Sie das Röhrchen sanft mindestens 3 Mal, um den Inhalt zu mischen.
7. Stellen Sie das Sample Injection Vial (Injektionsröhrchen für die Probe) in die FilmArray Pouch Loading Station (Ladestation für Riegel) zurück.

Laden der Probenmischung

1. Schrauben Sie das Sample Injection Vial (Injektionsröhrchen für die Probe) langsam vom roten Deckel ab und warten Sie 3–5 Sekunden. Heben Sie das Sample Injection Vial (Injektionsröhrchen für die Probe) an und lassen Sie den roten Deckel in der Vertiefung der FilmArray Pouch Loading Station (Ladestation für Riegel).
2. Führen Sie die Spitze der Kanüle in die Öffnung des Riegeleinsatzes ein, die sich direkt unterhalb des roten Pfeils der FilmArray Pouch Loading Station (FilmArray Ladestation für Riegel) befindet. Schieben Sie sie mit Nachdruck mit einer festen und schnellen Bewegung nach unten, bis Sie ein leises „Plop“ hören und fühlen, dass der Widerstand nachlässt. Durch das Vakuum wird das korrekte Flüssigkeitsvolumen in den Riegel gezogen.
3. Vergewissern Sie sich, dass die Probe geladen worden ist. Klappen Sie das Strichcode-Etikett nach unten und prüfen Sie, ob die Flüssigkeit in die Reagenzvertiefung gelangt ist, die sich neben der Probenladungsöffnung befindet. Wenn der Riegel keine Probe aus dem Sample Injection Vial (Injektionsröhrchen für die Probe) zieht, sollte der Riegel entsorgt werden. Holen Sie sich einen neuen Riegel und wiederholen Sie den Abschnitt über die Vorbereitung des Riegels.
4. Entsorgen Sie das Sample Injection Vial (Injektionsröhrchen für die Probe) und das Hydration Injection Vial (Injektionsröhrchen für die Hydrierung) in einem geeigneten Behälter für Biogefahrstoffe.

5. Vermerken Sie die Sample ID (Proben-ID) in dem dafür vorgesehenen Bereich auf dem Riegeletikett (oder bringen Sie eine Sample ID (Proben-ID) in Barcode-Form an), und nehmen Sie den Riegel aus der FilmArray Pouch Loading Station (Ladestation für Riegel).

Lauf des Riegels

Die FilmArray-Software bietet Anweisungen am Bildschirm, die den Anwender Schritt für Schritt bei der Durchführung eines Laufs anleiten. Kurzanleitung für FilmArray, FilmArray 2.0 und FilmArray Torch-Systeme sind nachfolgend angegeben. Detailliertere Anweisungen finden Sie im entsprechenden FilmArray-Benutzerhandbuch.

FilmArray und FilmArray 2.0

1. Vergewissern Sie sich, dass das FilmArray-System eingeschaltet und die Software gestartet ist.
2. Befolgen Sie die im Benutzerhandbuch beschriebenen Anleitungen und Verfahren, um den Riegel in das Gerät einzulegen, Informationen des Riegels, der Probe und des Benutzers einzugeben und den Lauf zu starten.
Riegel-ID (Lot Number (Chargennummer) und Serial Number (Seriennummer)), Pouch Type (Riegeltyp) und Protocol (Protokoll) sind in dem rechteckigen Barcode, der sich auf dem FilmArray-Riegel befindet, vorprogrammiert. Die Informationen werden automatisch eingegeben, wenn der Barcode gescannt wird. Wenn der Barcode nicht gescannt werden kann, können Lot Number (Chargennummer), Serial Number (Seriennummer), Pouch Type (Riegeltyp) und Protocol (Protokoll) von Hand mittels der Informationen, die sich auf dem Riegeletikett befinden, in die entsprechenden Felder eingegeben werden. Um Dateneingabefehler möglichst gering zu halten, wird dringend empfohlen, den Barcode des Riegels einzuscannen.
3. Geben Sie die Sample-ID (Proben-ID) ein. Die Sample-ID (Proben-ID) kann von Hand eingegeben werden oder unter Verwendung des Barcode-Scanners gescannt werden, wenn eine barcodierte Sample-ID (Proben-ID) verwendet wird.
4. Falls nötig, wählen und/oder bestätigen Sie das entsprechende Protokoll für Ihre Probe aus der Dropdown-Liste „Protocol“ (Protokoll).
5. Geben Sie einen Anwendernamen und ein Passwort in die Felder Name und Password (Passwort) ein.

HINWEIS: Die Bead-Beater-Vorrichtung kann in der ersten Betriebsminute als hochfrequentes Geräusch (Heulen) zu hören sein.

6. Starten Sie den Lauf.
7. Wenn der Lauf beendet ist, folgen Sie den auf dem Bildschirm angezeigten Anweisungen, um das Gerät zu öffnen und den Riegel zu entnehmen. Entsorgen Sie den Riegel umgehend in einem Behälter für Biogefahrstoffe.
8. Die Datei des Laufs wird automatisch in der Datenbank des FilmArray gespeichert und der Ergebnisbericht kann angezeigt, ausgedruckt und/oder als PDF-Datei gespeichert werden.

FilmArray Torch

1. Vergewissern Sie sich, dass das FilmArray Torch-System eingeschaltet ist.
2. Wählen Sie am Touchscreen ein verfügbares Module aus.
3. Scannen Sie mithilfe des Barcode-Scanners den auf dem FilmArray-Riegel angebrachten Barcode.
Riegel-ID („Lot Number“ [Chargennummer] und „Serial Number“ [Seriennummer]), „Pouch Type“ (Riegeltyp) und „Protocol“ (Protokoll) sind bereits in dem rechteckigen Barcode auf dem FilmArray-Riegel einprogrammiert. Die Informationen werden automatisch eingegeben, wenn der Barcode gescannt wird. Wenn der Barcode nicht gescannt werden kann, können die auf dem Riegeletikett angegebenen Informationen zu „Lot Number“

(Chargennummer), „Serial Number“ (Seriennummer), „Pouch Type“ (Riegeltyp) und „Protocol“ (Protokoll) von Hand in die entsprechenden Felder eingegeben werden. Um Fehler bei der Dateneingabe möglichst gering zu halten, wird dringend empfohlen, den Barcode des Riegels einzuscannen.

4. Geben Sie die „Sample-ID“ (Proben-ID) ein. Die „Sample-ID“ (Proben-ID) kann von Hand eingegeben werden oder mit dem Barcode-Scanner gescannt werden, wenn eine barcodierte „Sample-ID“ (Proben-ID) verwendet wird.

5. Bringen Sie den Riegel in das Module ein.

Vergewissern Sie sich, dass das Etikett des Riegels flach auf der Oberseite des Riegels liegt und nicht geknickt ist. Sobald der Riegel eingebracht wird, greift das Module den Riegel und zieht ihn in die Kammer.

6. Falls nötig, wählen und/oder bestätigen Sie ein Protokoll von der Dropdown-Liste „Protocol“ (Protokoll).

7. Geben Sie Anwendernamen und Passwort des Anwenders ein und wählen Sie anschließend „Next“ (Weiter).

HINWEIS: Der Anwendername wird in roter Schrift angezeigt, bis die Software den Anwendernamen erkennt.

8. Überprüfen Sie am Bildschirm die eingegebenen Informationen für den Lauf. Wenn die Informationen korrekt sind, wählen Sie „Start Run“ (Lauf starten).

Sobald der Lauf gestartet ist, werden am Bildschirm eine Liste mit den Schritten, die von dem Module ausgeführt werden sowie die verbleibende Laufzeit des Laufs in Minuten angezeigt.

HINWEIS: Die Bead-Beater-Vorrichtung kann in der ersten Betriebsminute als hochfrequentes Geräusch (Heulen) zu hören sein.

9. Am Ende des Laufs wechselt der Status des Module zu „Finished“ (Fertiggestellt) und der Riegel wird teilweise ausgeworfen.

10. Wählen Sie im Dashboard „Finished Module“ (Fertiggestelltes Module), um den Bericht anzeigen zu lassen.

Wählen Sie „Print“ (Drucken), um den Bericht zu drucken oder „Save“ (Speichern), um den Bericht als Datei zu speichern.

11. Entfernen Sie den Riegel aus dem Module und entsorgen Sie den Riegel umgehend in einem Behälter für biologische Gefahrstoffe.

HINWEIS: Nachdem der Riegel entfernt wurde, kann der Bericht nur mithilfe der Funktion „Browse Runs“ (Läufe durchsuchen) angezeigt werden.

QUALITÄTSKONTROLLE

Prozesskontrolle

Zwei Prozesskontrollen sind in jedem Riegel enthalten:

1. **RNA Process Control (RNA-Prozesskontrolle)**

Der RNA Process Control (RNA-Prozesskontroll)-Assay zielt auf ein RNA-Transkript aus der Hefe *Schizosaccharomyces pombe*. Die Hefe ist in dem Riegel in gefriergetrockneter Form vorhanden und wird rehydriert, wenn die Probe geladen wird. Das Kontrollmaterial wird durch alle Stufen des Testprozesses geführt, einschließlich der Lyse, der Nukleinsäurereinigung, der reversen Transkription, der PCR der 1. Stufe, der

Verdünnung, der PCR der 2. Stufe und der DNA-Schmelzanalyse. Ein positives Kontrollergebnis zeigt an, dass alle Schritte, die in dem FilmArray ME-Riegel durchgeführt worden sind, erfolgreich waren.

2. PCR2 Control (PCR2-Kontrolle)

Der PCR2 Control (PCR2-Kontroll)-Assay erfasst ein DNA-Target, das zusammen mit den entsprechenden Primern in Vertiefungen des Arrays getrocknet ist. Ein positives Ergebnis zeigt an, dass die PCR der 2. Stufe erfolgreich war.

Beide Kontroll-Assays müssen positiv sein, damit der Testlauf erfolgreich ist. Wenn eine der Kontrollen versagt, zeigt das Feld Controls (Kontrollen) des Befundes (obere rechte Ecke) Failed (Fehlgeschlagen) an, und alle Ergebnisse werden als Invalid (Ungültig) aufgeführt. Wenn die Kontrollen fehlschlagen, sollte die Probe unter Verwendung eines neuen Riegels erneut getestet werden.

Überwachung der Testsystemleistung

Die FilmArray Software lässt den Lauf automatisch fehlschlagen, wenn die Schmelztemperatur (T_m) für die RNA Process Control (RNA-Prozesskontrolle) oder die PCR2 Control (PCR2-Kontrolle) außerhalb des zulässigen Bereichs 80,2–84,2 °C für die RNA Process Control (RNA-Prozesskontrolle) und 74,1–78,1 °C für die PCR2 Control (PCR2-Kontrolle) liegt. Falls lokale, staatliche oder von einer Akkreditierungsorganisation vorgegebene Anforderungen an die Qualitätskontrolle es erfordern, können die Anwender das System überwachen, indem sie Trenddarstellungen der T_m -Werte für die Kontroll-Assays erheben und gemäß der Standardlaborpraktiken zur Qualitätskontrolle Aufzeichnungen führen.^{78,79} Anleitungen zur Erhebung von Kontroll-Assay T_m -Werten sind im entsprechenden FilmArray-Benutzerhandbuch zu finden. PCR2-Kontrolle wird für alle FilmArray-Riegeltypen verwendet (z. B. RP, GI, ME und BCID) und kann daher zur Überwachung des Systems genutzt werden, wenn mehrere Riegeltypen in demselben FilmArray System oder Gerät/Module verwendet werden.

Die gute Laborpraxis verlangt, dass regelmäßig externe positive und negative Kontrollen durchgeführt werden. Als externe negative Kontrolle kann Molekularwasser oder künstliche CSF verwendet werden. Zuvor positiv charakterisierte CSF-Proben oder negative Proben angereichert mit gut charakterisierten Organismen können als externe positive Kontrollen verwendet werden. Externe Kontrollen sollten in Übereinstimmung mit den geeigneten Akkreditierungsorganisationen verwendet werden, falls möglich.

INTERPRETATION VON ERGEBNISSEN

Die FilmArray Software analysiert und interpretiert die Assay-Ergebnisse automatisch und zeigt die Ergebnisse am Ende in einem Befund an (in der Kurzanleitung für das FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel ist ein Beispiel für einen Befund angegeben). Die von der FilmArray Software durchgeführten Analysen und Details des Befundes sind nachstehend beschrieben.

Assay-Interpretation

Wenn die PCR der 2. Stufe abgeschlossen ist, führt das FilmArray-Gerät/Module eine hochauflösende DNA-Schmelzanalyse der PCR-Produkte durch und misst das Fluoreszenzsignal, das in den einzelnen Vertiefungen erzeugt wird (weitere Informationen finden Sie im entsprechenden FilmArray-Benutzerhandbuch). Die FilmArray Software führt anschließend mehrere Analysen durch und gibt am Ende ein Assay-Ergebnis aus. Die einzelnen Schritte der Analysen sind unten beschrieben.

Analyse von Schmelzkurven. Die FilmArray Software evaluiert die DNS-Schmelzkurve für jede Vertiefung des PCR-Array der 2. Stufe, um zu bestimmen, ob ein PCR-Produkt in der Vertiefung vorhanden war. Wenn das Schmelzprofil das Vorhandensein eines PCR-Produkts anzeigt, berechnet die Analyse-Software die Schmelztemperatur (T_m) der Kurve.

Der T_m-Wert wird dann mit dem erwarteten T_m-Bereich für den Assay verglichen. Wenn die Software bestimmt, dass die Schmelzkurve positiv ist, und die T_m in den Assay-spezifischen T_m-Bereich fällt, wird die Kurve als positiv bezeichnet. Wenn die Software bestimmt, dass die Schmelzkurve negativ ist oder die T_m nicht in den Assay-spezifischen T_m-Bereich fällt, wird die Kurve als negativ bezeichnet.

Analyse von Replikaten. Sobald Schmelzkurven bestimmt worden sind, evaluiert die Software die drei Replikate für jeden Assay, um das Assay-Ergebnis zu bestimmen. Damit ein Assay als positiv gelten kann, müssen mindestens zwei von den drei zusammengehörigen Schmelzkurven positiv sein und die T_m von mindestens zwei der drei positiven Kurven müssen ähnlich sein (innerhalb von 1 °C). Assays, die dieses Kriterium nicht erfüllen, gelten als negativ.

Interpretation von Organismen

Die Ergebnisse der Organismen, die vom FilmArray ME Panel nachgewiesen werden (Detected (Nachgewiesen) oder Not Detected (Nicht nachgewiesen)) basieren auf der Analyse und Interpretation eines einzigen Assays (Mehrheit der Organismen) oder einer Kombination zweier Assays (*Haemophilus influenzae*, Herpes-Simplex-Virus 2 und Varizella-Zoster-Virus). Bei Befunden, die auf zwei Assays basieren wird das Ergebnis Detected (Nachgewiesen) dann ausgegeben, wenn eines oder zwei der Assays positiv ist, und das Ergebnis Not Detected (Nicht nachgewiesen) nur dann, wenn beide Assays negativ sind.

HINWEIS: Andere Serotypen als K1 *E. coli* können in einer Probe vorhanden sein, werden jedoch nicht durch das FilmArray ME Panel erkannt.

HINWEIS: Nicht verkapselte Stämme von *Neisseria meningitidis* werden vom FilmArray ME Panel nicht erkannt.

HINWEIS: Das FilmArray ME Panel unterscheidet nicht zwischen latenten und aktiven CMV- und HHV-6-Infektionen. Der Nachweis dieser Viren kann eine Primärinfektion, eine sekundäre Reaktivierung oder das Vorhandensein eines latenten Virus bedeuten. Die Befunde des Tests sollten stets mit weiteren klinischen Angaben, Labordaten und epidemiologischen Daten korreliert werden.

FilmArray ME Panel Testbefund

Der FilmArray ME Panel-Testbefund wird nach Abschluss eines Laufs automatisch angezeigt und enthält drei Abschnitte, Run Summary (Zusammenfassung des Laufs), Results Summary (Zusammenfassung der Ergebnisse) und Run Details (Details des Laufs) (siehe Kurzanleitung für das FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel, wo ein Beispiel für einen Befund dargestellt ist). Der Befund kann als PDF-Datei gespeichert oder ausgedruckt werden.

Der Abschnitt **Run Summary** (Zusammenfassung des Laufs) gibt die Sample ID (Proben-ID), die Zeit und das Datum des Laufs, die Kontrollergebnisse und eine allgemeine Zusammenfassung der Testergebnisse an. Alle Organismen mit dem Ergebnis Detected (Nachgewiesen) werden in dem entsprechenden Feld der Zusammenfassung aufgeführt. Wenn alle Tests negativ waren, wird None (Keine) im Feld Detected (Nachgewiesen) angezeigt. Controls (Kontrollen) werden als Passed (Bestanden), Failed (Fehlgeschlagen) oder Invalid (Ungültig) aufgeführt. Weitere Informationen über die Interpretation von Kontrollen und geeignete Maßnahmen im Anschluss an fehlgeschlagene Kontrollen finden Sie im nachstehenden Abschnitt Das Feld Controls (Kontrollen).

Der Abschnitt **Result Summary** (Zusammenfassung der Ergebnisse) des Befundes führt die Ergebnisse jedes Targets auf, das mit dem Panel getestet wird. Mögliche Ergebnisse für jeden Organismus sind Detected (Nachgewiesen), Not Detected (Nicht nachgewiesen) oder Invalid (Ungültig). Siehe den nachstehenden Abschnitt Results Summary (Zusammenfassung der Ergebnisse) für ausführliche Informationen über die Interpretation von Testergebnissen und geeignete Maßnahmen im Anschluss an Invalid (Ungültige) Testergebnisse.

Der Abschnitt **Run Details** (Details des Laufs) liefert zusätzliche Informationen über den Lauf, unter anderem: Informationen über den Riegel („Pouch Type“ [Riegeltyp], „Lot Number“ [Chargennummer] und „Serial Number“

[Seriennummer]), den Status des Laufs („Completed“ [Abgeschlossen], „Incomplete“ [Unvollständig], „Aborted“ [Abgebrochen], „Instrument Error“ [Gerätefehler], „Instrument Communication Error“ [Geräte-Kommunikationsfehler] oder „Software Error“ [Softwarefehler]), das Protokoll, das zur Durchführung des Tests verwendet wurde, die Identität des Anwenders, der den Test durchgeführt hat, und das Gerät/Module, das zur Durchführung des Tests verwendet wurde.

Sobald ein Lauf abgeschlossen ist, kann die Sample ID (Proben-ID) bearbeitet werden. Wenn diese Informationen geändert wurden, wird dem Befund ein zusätzlicher Abschnitt mit dem Titel **Change History** (Änderungshistorie) hinzugefügt. Dieser Abschnitt Change History (Änderungshistorie) gibt das Feld an, das geändert wurde, den ursprünglichen Eintrag, die Person, die die Änderung vorgenommen hat, und das Datum, an dem die Änderung vorgenommen wurde. Sample ID (Proben-ID) ist das einzige Feld im Befund, das geändert werden kann.

Das Feld Controls (Kontrollen)

Im Feld „Controls“ (Kontrollen) auf dem Testbefund wird „Passed“ (Bestanden), „Failed“ (Fehlgeschlagen) oder „Invalid“ (Ungültig) angezeigt. Im Feld „Controls“ (Kontrollen) wird „Passed“ (Bestanden) nur dann angezeigt, wenn der Lauf erfolgreich abgeschlossen wurde (keine Geräte-/Module- oder Softwarefehler) und beide Riegelkontroll-Assays („RNA Process Control“ [RNA-Prozesskontrolle] und „PCR2 Control“ [PCR2-Kontrolle]) erfolgreich waren. Das Feld „Controls“ (Kontrollen) zeigt „Failed“ (Fehlgeschlagen) an, wenn der Lauf erfolgreich abgeschlossen wurde (keine Geräte-/Module- oder Softwarefehler), aber einer oder beide Riegelkontroll-Assays fehlgeschlagen sind. Wenn das Kontrollergebnis „Failed“ (Fehlgeschlagen) lautet, dann werden die Ergebnisse sämtlicher Tests auf dem Panel als „Invalid“ (Ungültig) angezeigt, und die untersuchte Probe muss mit einem neuen Riegel getestet werden.

Tabelle 2 gibt einen Überblick und eine Erklärung für die möglichen Kontrollergebnisse und die sich daran anschließenden Maßnahmen.

Tabelle 2. Interpretation des Felds Controls (Kontrollen) im FilmArray ME Panel-Testbefund

Kontrollergebnis	Erläuterung	Notwendige Maßnahme	Ergebnis
Passed (Bestanden)	Der Lauf wurde erfolgreich abgeschlossen UND Beide Riegelkontrollen waren erfolgreich.	Keine	Melden Sie die Ergebnisse, die im Befund angezeigt werden.
Failed (Fehlgeschlagen)	Der Lauf wurde erfolgreich abgeschlossen ABER Mindestens eine der Riegelkontrollen (RNA Process Control (RNA-Prozesskontrolle) und/oder PCR2 Control (PCR2-Kontrolle)) ist fehlgeschlagen.	Wiederholen Sie den Test unter Verwendung eines neuen Riegels.	Akzeptieren Sie die Ergebnisse des wiederholten Tests. Wenn der Fehler nach wie vor besteht, nehmen Sie Verbindung mit dem Technischen Support auf, um weitere Anweisungen zu erhalten.

Kontrollergebnis	Erläuterung	Notwendige Maßnahme	Ergebnis
Invalid (Ungültig)	Die Kontrollen sind ungültig, da der Lauf nicht abgeschlossen wurde. (In der Regel ein Software- oder Hardware-Fehler.)	Notieren Sie sich alle Fehlercodes, die während des Laufs und im Feld „Run Status“ (Status des Laufs) im Abschnitt „Run Details“ (Details des Laufs) des Testbefundes angezeigt werden. Sehen Sie im entsprechenden FilmArray-Benutzerhandbuch nach oder setzen Sie sich mit dem Technischen Support in Verbindung, um weitere Anweisungen zu erhalten. Wiederholen Sie den Test, nachdem der Fehler behoben wurde, oder wiederholen Sie den Test unter Verwendung eines anderen Geräts/Module.	Akzeptieren Sie die gültigen Ergebnisse des wiederholten Tests. Wenn der Fehler nach wie vor besteht, nehmen Sie Verbindung mit dem Technischen Support auf, um weitere Anweisungen zu erhalten.

Result Summary (Zusammenfassung der Ergebnisse)

Der Abschnitt Result Summary (Zusammenfassung der Ergebnisse) liefert eine komplette Auflistung der Testergebnisse. Mögliche Ergebnisse für jeden Organismus sind Detected (Nachgewiesen), Not Detected (Nicht nachgewiesen) oder Invalid (Ungültig). Tabelle 3 liefert eine Erläuterung für jede Interpretation und etwaige im Anschluss notwendige Maßnahmen, um ein Endergebnis zu erhalten.

Tabelle 3. Interpretation von Ergebnissen und notwendige Maßnahmen

Ergebnis	Erläuterung	Maßnahme
Detected (Nachgewiesen)	Der Lauf wurde erfolgreich abgeschlossen UND Die Riegelkontrollen waren erfolgreich (Passed (Bestanden)) UND Die der Interpretation zugehörigen Assay(s) waren positiv, basierend auf den folgenden Anforderungen für mindestens 2 der 3 Assay-Replikationen: - eine positive Schmelzkurve und - die Tm für die Schmelzdaten lagen innerhalb des Assay-spezifischen Limits und - die Tm für die Schmelzdaten unterschieden sich in nur 1 °C voneinander.	Berichten Sie die Ergebnisse. HINWEIS: Wird in einer Probe für 2 oder mehr Organismen das Ergebnis Detected (Nachgewiesen) angegeben, wird ein erneuter Test der Probe empfohlen, um das polymikrobielle Ergebnis zu bestätigen.
Not Detected (Nicht Nachgewiesen)	Der Lauf wurde erfolgreich abgeschlossen UND Die Riegelkontrollen waren erfolgreich (Passed (Bestanden)) UND Die der Interpretation zugehörigen Assay(s) waren	Berichten Sie die Ergebnisse.

Ergebnis	Erläuterung	Maßnahme
	negativ (erfüllten nicht die Anforderungen für ein positives Assay, wie unter Detected (Nachgewiesen) beschrieben).	
Invalid (Ungültig)	<p>Der Lauf war nicht erfolgreich (Aborted (Abgebrochen), Incomplete (Unvollständig), Instrument Communication Error (Geräte-Kommunikationsfehler), Instrument Error (Gerätefehler) oder Software Error (Softwarefehler))</p> <p>ODER</p> <p>Die Riegelkontrollen waren nicht erfolgreich (Failed (Fehlgeschlagen)).</p>	Weitere Anweisungen finden Sie in Tabelle 2, <i>Interpretation des Feldes Controls (Kontrollen) im FilmArray-Befund</i> .

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

- Nur auf ärztliche Anweisung.
- Falsch negative Ergebnisse können auftreten, wenn die Konzentration des Organismus in der Probe unter der Nachweisgrenze für den Test liegen. In der prospektiven klinischen Studie ergaben zwei Proben nach Therapiestandard einen positiven Befund und mit dem FilmArray ME Panel einen negativen Befund.
- Da für bestimmte Organismen nur eine kleine Anzahl prospektiver und retrospektiver Proben vorhanden waren, wurden die Leistungsdaten für *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus agalactiae*, Zytomegalievirus und Humanen Parechovirus vorwiegend mit speziell vorbereiteten klinischen Proben erstellt.
- Aufgrund der geringen Anzahl positiver Proben, die sich während der prospektiven klinischen Studie für bestimmte Organismen ergaben, wurden die Leistungsdaten für HSV-1, HSV-2, Humanen Parechovirus, Varizella, HHV-6 und *C. neoformans/gattii* ebenso mit retrospektiven klinischen Proben erstellt.
- Die Leistungsfähigkeit des FilmArray Meningitis/Encephalitis (ME) Panel wurde nur mit FilmArray, FilmArray 2.0 und FilmArray Torch-Systemen untersucht.
- Dies ist ein qualitativer Test, der keinen quantitativen Wert für die Organismen liefert, die in der Probe nachgewiesen werden.
- Die Befunde des Tests müssen mit der Anamnese, mit epidemiologischen Daten oder anderen Daten, die dem Arzt, der den Patienten evaluiert, korreliert werden.
- Die Leistungsfähigkeit dieses Tests wurde für CSF-Proben von Patienten ohne Anzeichen und/oder Symptome einer Meningitis und/oder Enzephalitis nicht untersucht.
- Die Leistungsfähigkeit dieses Tests wurde für CSF-Proben von immungeschwächten Personen nicht spezifisch untersucht.
- Die Wirkung einer Antibiotika-Behandlung auf die Leistungsfähigkeit dieses Tests ist nicht untersucht worden.
- Die Leistungsfähigkeit dieses Tests wurde für die Beobachtung der Behandlung von Infektionen mit den Organismen des Panel nicht festgestellt.

- Dieser Test ist nicht für die Verwendung von CSF aus permanenten medizinischen Vorrichtungen (z. B. Liquorshunts) vorgesehen.
- CSF-Proben sollten vor dem Test nicht zentrifugiert werden.
- Die Wirkung von störenden Substanzen wurde nur für diejenigen festgestellt, die im Produktinformationsblatt vermerkt sind. Eine Störung durch andere Substanzen, die nicht im nachstehenden Abschnitt Wechselwirkungen beschrieben sind, könnte zu falschen Ergebnissen führen.
- Ein negatives FilmArray ME Panel-Ergebnis schließt die Möglichkeit einer ZNS-Infektion nicht aus und sollte nicht als alleinige Grundlage für eine Diagnose oder Behandlung oder für andere richtungsweisende Entscheidungen genommen werden. Es besteht das Risiko falsch negativer Werte aufgrund des Vorhandenseins von Sequenzvarianten oder Neuankordnungen in den Gen-Targets des Assay, Verfahrensfehlern, dem Vorhandensein von Hemmstoffen, technischen Fehlern, einer Vermischung von Proben oder einer Infektion, die von einem Organismus verursacht wird, der von dem FilmArray ME Panel nicht nachgewiesen wird. Die Ergebnisse können auch durch eine gleichzeitige antimikrobielle Therapie oder auf Mengen von Organismen in der Probe zurückzuführen sein, die unter der Nachweisgrenze für den Test liegen.
- Der Nachweis organismen-spezifischer Nukleinsäure hängt ab von einer ordnungsgemäßen Probennahme, dem ordnungsgemäßen Transport und der ordnungsgemäßen Lagerung und Vorbereitung. Die Nichteinhaltung der ordnungsgemäßen Vorgehensweise in einem einzigen Schritt kann zu falschen Ergebnissen führen. Es besteht das Risiko, dass nicht ordnungsgemäß genommene, transportierte oder behandelte Proben zu falsch positiven oder falsch negativen Ergebnissen führen. Die RNA-Prozesskontrolle und die PCR2-Kontrolle zeigen nicht an, ob Nukleinsäure aufgrund nicht ordnungsgemäß ausgeführter Probenentnahme, Transport oder Lagerung verloren wurde.
- Positive und negative Vorhersagewerte hängen stark von der Prävalenz ab. Falsch negative Testergebnisse treten mit größerer Wahrscheinlichkeit auf wenn die Prävalenz der Analyte gering ist.
- Virale, bakterielle und Hefe-Nukleinsäuren können unabhängig von der Lebensfähigkeit des Organismus *in vivo* überdauern. Ein Nachweis eines oder mehrerer Target-Organismen impliziert nicht, dass die entsprechenden Organismen infektiös oder die Ursache klinischer Symptome sind.
- HHV-6 oder CMV können in latenter Form vorliegen und bei einer Infektion durch andere Krankheitserreger reaktiviert werden, einschließlich von Agenzien, die nicht vom FilmArray ME Panel nachgewiesen werden und eine Meningitis/Enzephalitis (z. B. Mycobacterium tuberculosis oder HIV) hervorrufen könnten. Werden HHV-6 oder CMV durch das FilmArray ME nachgewiesen, sollten diese nur im geeigneten klinischen Umfeld und nach einer anschließenden fachlichen Beratung als mögliche Ursache einer Meningitis/Enzephalitis angesehen werden.
- Die Ausscheidung von Viren in die CSF erfolgt oftmals im Fall von Zoster (Gürtelrose; hervorgerufen durch die Reaktivierung von VZV). In diesen Fällen ist VZV möglicherweise nicht die Ursache für ZNS-Erkrankungen.
- Eine Kontamination mit Organismen oder Amplifikaten kann falsche Ergebnisse für den Test bewirken. Besondere Sorgfalt sollte auf die im Abschnitt Warnhinweise und Empfehlungen für Vorsichtsmaßnahmen angegebenen Laborvorsichtsmaßnahmen verwendet werden.
- Einige der vom FilmArray ME Panel nachgewiesenen Organismen, beispielsweise *S. pneumoniae* und *H. influenzae* können bei gesunden Personen aus dem Respirationstrakt ausgeworfen werden. HSV-1 können zudem von Personen mit aktiven oder wiederkehrenden Fieberbläschen ausgeworfen werden. Besondere Sorgfalt sollte auf die im Abschnitt Warnhinweise und Empfehlungen für Vorsichtsmaßnahmen angegebenen Laborvorsichtsmaßnahmen verwendet werden. Während der Probenentnahme und dem Testverfahren sollte mit besonderer Sorgfalt vorgegangen werden, um einer Kontamination vorzubeugen, die zu falsch positiven Ergebnissen führen könnte.

- Werden in einer Probe zwei oder mehr Organismen nachgewiesen, wird ein erneuter Test der Probe empfohlen, um das polymikrobielle Ergebnis zu bestätigen.
- Eine zusätzliche Kreuzreaktivität mit Organismen, die nicht im Abschnitt Analytische Spezifität angegeben sind, kann zu falschen Ergebnissen führen. Eine Kreuzreaktivität mit humanen Rhinoviren kann auftreten, Rhinoviren sind jedoch selten in der menschlichen cerebrospinalen Flüssigkeit vorhanden und gelten nicht als anerkannte Ursache einer Meningitis. Während der Probenentnahme und dem Testverfahren sollte mit besonderer Sorgfalt vorgegangen werden, um einer Kontamination mit Rhinoviren vorzubeugen, die mit Atemwegsinfektionen assoziiert werden.
- Es werden ausschließlich *E. coli*-Stämme mit dem Kapselantigen K1 nachgewiesen. Alle sonstigen *E. coli*-Stämme/-Serotypen werden nicht nachgewiesen.
- Ausschließlich verkapselte Stämme der *N. meningitidis* werden nachgewiesen. Unverkapselte *N. meningitidis* wird nicht erkannt.

ERWARTUNGSWERTE

In der prospektiven klinischen FilmArray ME Panel Studie wurden 1.560 geeignete Proben (CSF-Entnahme durch Lumbalpunktion) genommen und im Verlauf von ungefähr acht Monaten (Februar – September 2014) an 11 Orten über die USA verteilt getestet. Die Anzahl und der prozentuale Anteil der positiven Fälle, die vom FilmArray ME Panel bestimmt und pro Altersgruppe berechnet wurden, sind in den folgenden Tabellen angegeben. Insgesamt erkannte das FilmArray ME Panel mindestens einen Organismus bei einer Gesamtanzahl von 136 prospektiven Proben (8,7 % Positivitätsrate) mit einer Gesamtanzahl von 141 Analyt-Nachweisen (Co-Nachweise wurden in fünf Proben beobachtet; siehe Tabelle 6).

Tabelle 4. Erwartungswerte (vom FilmArray ME Panel bestimmt) Altersgruppenbezogene Zusammenfassung der prospektiven klinische Evaluierung (Februar bis September 2014)

FilmArray ME Panel Ergebnis	Insgesamt (n=1.560)	< 2 Mon. (n=299)	2–23 Mon. (n=143)	2–17 Jahre (n=197)	18–34 Jahre (n=224)	35–64 Jahre (n=522)	65+ Jahre (n=175)
Bakterien							
<i>E. coli</i> K1	3 (0,2 %)	0 (0 %)	1 (0,7 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (0,4 %)	0 (0 %)
<i>H. influenzae</i>	2 (0,1 %)	0 (0 %)	1 (0,7 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (0,2 %)	0 (0 %)
<i>L. monocytogenes</i>	0 (0,0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
<i>N. meningitidis</i>	0 (0,0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
<i>S. agalactiae</i>	1 (0,1 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (0,6 %)
<i>S. pneumoniae</i>	16 (1,0 %)	2 (0,7 %)	2 (1,4 %)	2 (1 %)	3 (1,3 %)	4 (0,8 %)	3 (1,7 %)
Viren							
CMV	6 (0,4 %)	4 (1,3 %)	0 (0 %)	1 (0,5 %)	1 (0,4 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
EV	51 (3,3 %)	31 (10,4 %)	5 (3,5 %)	11 (5,6 %)	4 (1,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
HSV-1	4 (0,3 %)	0 (0 %)	2 (1,4 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (0,4 %)	0 (0 %)
HSV-2	12 (0,8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (0,4 %)	8 (1,5 %)	3 (1,7 %)
HHV-6	22 (1,4 %)	9 (3 %)	7 (4,9 %)	2 (1 %)	3 (1,3 %)	1 (0,2 %)	0 (0 %)
HPeV	12 (0,8 %)	12 (4 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
VZV	7 (0,4 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	3 (1,3 %)	3 (0,6 %)	1 (0,6 %)
Hefe							
<i>C. neoformans/gattii</i>	5 (0,3 %)	1 (0,3 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (0,4 %)	2 (0,4 %)	1 (0,6 %)

Tabelle 5. FilmArray ME Panel Positivitätsrate der prospektiven klinischen Evaluierung; Insgesamt und altersgruppenbezogen

Insgesamt (n=1560)	
Negativ	1.424 (91,3 %)
Positiv	136 (8,7 %)
Einzelnachweise	131 (8,4 %)
Co-Nachweise	5 (0,3 %)
Positivität nach Altersgruppe	
< 2 Mon. (n=299)	58 (19,4 %)
2–23 Mon. (n=143)	17 (11,9 %)
2–17 Jahre (n=197)	15 (7,6 %)
18–34 Jahre (n=224)	15 (6,7 %)
35–64 Jahre (n=522)	23 (4,4 %)
65+ Jahre (n=175)	8 (4,6 %)

In der prospektiven klinischen Evaluierung wurden vom FilmArray ME Panel insgesamt 5 Proben mit multiplen Analyten erkannt (z. B. Mischinfektionen). Dies stellt 3,7 % (5/136) der positiven Proben und 0,3 % aller getesteten Proben (5/1560) dar. Die Erwartungswerte für jedes der FilmArray ME Panel-Ergebnisse für Co-Nachweise sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 6. Erwartungswerte für Analyte bei Co-Nachweisen (vom FilmArray ME Panel bestimmt) in der prospektiven klinischen Evaluierung (Februar bis September 2014)

Analyt	Prävalenz in CoNachweisen (n=5)	
Bakterien		
<i>E. coli</i> K1	0	0 %
<i>H. influenzae</i>	0	0 %
<i>L. monocytogenes</i>	0	0 %
<i>N. meningitidis</i>	0	0 %
<i>S. agalactiae</i>	1	20 %
<i>S. pneumoniae</i>	2	40 %
Viren		
CMV	1	20 %
EV	1	20 %
HSV-1	1	20 %
HSV-2	1	20 %
HHV-6	1	20 %
HPeV	1	20 %
VZV	1	20 %
Hefe		
<i>C. neoformans/gattii</i>	0	0 %

LEISTUNGSDATEN

Klinische und nichtklinische Studien haben gezeigt, dass die Leistungsdaten des FilmArray ME Panel, einschließlich der Nachweisgrenze (siehe Nachweisgrenze (LoD) unten), positiver prozentualer Übereinstimmung und negativer prozentualer Übereinstimmung sowie die Reproduzierbarkeit bei FilmArray and FilmArray 2.0-Systemen äquivalent sind. Nichtklinische Studien zeigten ebenfalls vergleichbare Leistungsdaten mit FilmArray Torch-Systemen.

HINWEIS: FilmArray Torch Module sind FilmArray 2.0-Geräte, die zu einem kompakten System für eine höhere Verarbeitungsmenge in kleinen Arbeitsbereichen rekonfiguriert wurden.

Klinische Leistungsfähigkeit

Die klinische Leistungsfähigkeit des FilmArray ME Panels wurde während einer multizentrischen Studie an 11 geografisch unterschiedlichen Orten in den USA zwischen Februar und September 2014 festgestellt. Die Proben der zwischen Februar und Juni eingeschriebenen Probanden wurden entnommen und unverzüglich für spätere Tests im Herkunftslabor eingefroren. Für die klinische Studie wurde eine Gesamtanzahl von 1.643 prospektiven CSF-Proben erfasst; 83 davon wurden ausgeschlossen. Hauptgrund für den Ausschluss der Proben war, dass die Proben nachweislich nicht die vorgegebenen Einschlusskriterien erfüllten, nachdem die Probanden eingeschrieben waren. Der endgültige Datensatz bestand aus 1.560 Proben, 545 (35 %) davon wurden im Vorfeld vor den Tests eingefroren. In Tabelle 7 ist ein demographischer Überblick über die in der prospektiven Studie eingeschlossenen 1.560 Probanden dargestellt.

Tabelle 7. Demographischer Überblick der prospektiven klinischen Evaluierung des FilmArray ME Panels

Proben der prospektiven Studie (%)	
Frisch	1.015 (65 %)
Gefroren	545 (35 %)
Gesamtanzahl der Proben	1.560
Geschlecht	Anzahl der Proben (%)
Männlich	797 (51 %)
Weiblich	763 (49 %)
Altersgruppe	Anzahl der Proben (%)
< 2 Mon.	299 (19 %)
2–23 Mon.	143 (9 %)
2–17 Jahre	197 (13 %)
18–34 Jahre	224 (14 %)
35–64 Jahre	522 (33 %)
65+ Jahre	175 (11 %)
Status	Anzahl der Proben (%)
Ambulant	112 (7 %)
Hospitalisiert	920 (59 %)
Notfall	528 (34 %)

Die Leistungsfähigkeit des FilmArray ME Panels wurde durch Vergleich der FilmArray ME Panel-Testergebnisse für jeden Panel-Teilnehmer mit den geeigneten Vergleichs-/Referenzmethoden, die nachstehend in der Tabelle angegeben sind, evaluiert.

Tabelle 8. Vergleichsmethoden zur klinischen Evaluierung des FilmArray ME Panels

FilmArray Analyt	Vergleichsmethode	Ort des Vergleichstests
<i>E. coli</i> K1	CSF Bakterienkultur	Herkunftslabor
<i>H. influenzae</i>		
<i>L. monocytogenes</i>		
<i>N. meningitidis</i>		
<i>S. agalactiae</i>		
<i>S. pneumoniae</i>		
CMV	Zwei PCR-Assays mit bidirektionaler Sequenzierung ^a	BioFire Labor
EV		
HSV-1		
HSV-2		
HHV-6		
HPeV		
VZV		
<i>C. neoformans/gattii</i>		

^a Alle Assays zielten auf unterschiedliche Nukleinsäure-Sequenzen ab als die durch das FilmArray ME Panel nachgewiesenen.

In dieser Studie wurden insgesamt 1.560 Proben evaluiert. Die klinische Sensitivität oder die prozentuale positive Übereinstimmung (PPA) wurde als $100 \% \times (TP / (TP + FN))$ berechnet. Wahr positiv (TP) zeigt an, dass sowohl das FilmArray ME Panel als auch das Referenz-/Vergleichsverfahren positive Ergebnisse für diesen spezifischen Organismus lieferten, und falsch negativ (FN) zeigt an, dass das FilmArray Ergebnis negativ ausfiel, während das Vergleichsergebnis positiv war. Die Spezifität oder negative prozentuale Übereinstimmung (NPA) wurde als $100 \% \times (TN / (TN + FP))$ berechnet. Wahr negativ (TN) zeigt an, dass sowohl das FilmArray ME Panel als auch das Referenz-/Vergleichsverfahren negative Ergebnisse lieferten, und falsch positiv (FP) zeigt an, dass das FilmArray ME Panel-Ergebnis positiv war, das Vergleichsergebnis jedoch negativ. Das exakte zweiseitige 95 %-Konfidenzintervall wurde berechnet.

Tabelle 9. Überblick über die Leistungsfähigkeit der prospektiven klinischen FilmArray ME Studie^a

Analyt		Sensitivität (verglichen mit Kultur)			Spezifität (verglichen mit Kultur)		
		TP/(TP + FN)	%	95 % CI	TN/(TN + FP)	%	95 % CI
Bakterien							
<i>E. coli</i> K1	Frisch	1/1	100	-	1014/1014	100	99,6–100
	Gefroren	1/1	100	-	543/544	99,8	99,0–100
	Insgesamt	2/2	100	34,2–100	1557/1558^{b,c}	99,9	99,6–100
<i>H. influenzae</i>	Frisch	1/1	100	-	1013/1014	99,9	99,4–100
	Gefroren	0/0	-	-	545/545	100	99,3–100
	Insgesamt	1/1	100	-	1558/1559^d	99,9	99,6–100
<i>L. monocytogenes</i>	Frisch	0/0	-	-	1015/1015	100	99,6–100
	Gefroren	0/0	-	-	545/545	100	99,3–100
	Insgesamt	0/0	-	-	1560/1560	100	99,8–100
<i>N. meningitidis</i>	Frisch	0/0	-	-	1015/1015	100	99,6–100
	Gefroren	0/0	-	-	545/545	100	99,3–100
	Insgesamt	0/0	-	-	1560/1560	100	99,8–100

<i>S. agalactiae</i>	Frisch	0/1	0,0	-	1013/1014	99,9	99,4–100
	Gefroren	0/0	-	-	545/545	100	99,3–100
	Insgesamt	0/1^e	0,0	-	1558/1559^e	99,9	99,6–100
<i>S. pneumoniae</i>	Frisch	2/2	100	34,2–100	1008/1013	99,5	98,8–99,8
	Gefroren	2/2	100	34,2–100	536/543	98,7	97,4–99,4
	Insgesamt	4/4	100	51,0–100	1544/1556^f	99,2	98,7–99,6
Analyt	Positive prozentuale Übereinstimmung (im Vergleich zu PCR mit bidirektionaler Sequenzierung)				Negative prozentuale Übereinstimmung (im Vergleich zu PCR mit bidirektionaler Sequenzierung)		
		TP/(TP + FN)	%	95 % CI	TN/(TN + FP)	%	95 % CI
Viren							
CMV	Frisch	2/2	100	34,2–100	1010/1013	99,7	99,1–99,9
	Gefroren	1/1	100	20,7–100	544/544	100	99,3–100
	Insgesamt	3/3	100	43,9–100	1554/1557^g	99,8	99,4–99,9
EV	Frisch	43/44	97,7	88,2–99,6	965/971	99,4	98,7–99,7
	Gefroren	1/2	50,0	-	542/543	99,8	99,0–100
	Insgesamt	44/46^h	95,7	85,5–98,8	1507/1514^h	99,5	99,0–99,8
HSV-1	Frisch	1/1	100	-	1013/1014	99,9	99,4–100
	Gefroren	1/1	100	-	543/544	99,8	99,0–100
	Insgesamt	2/2	100	34,2–100	1556/1558ⁱ	99,9	99,5–100
HSV-2	Frisch	6/6	100	61,0–100	1008/1009	99,9	99,4–100
	Gefroren	4/4	100	51,0–100	540/541	99,8	99,0–100
	Insgesamt	10/10	100	72,2–100	1548/1550^j	99,9	99,5–100
HHV-6	Frisch	13/15	86,7	62,1–96,3	997/1000	99,7	99,1–99,9
	Gefroren	5/6	83,3	43,6–97,0	535/536	99,8	99,0–100
	Insgesamt	18/21^k	85,7	65,4–95,0	1532/1536^k	99,7	99,3–99,9
HPeV	Frisch	9/9	100	70,1–100	1003/1006	99,7	99,1–99,9
	Gefroren	0/0	-	-	545/545	100	99,3–100
	Insgesamt	9/9	100	70,1–100	1548/1551^l	99,8	99,4–99,9
VZV	Frisch	3/3	100	43,9–100	1010/1012	99,8	99,3–99,9
	Gefroren	1/1	100	-	543/544	99,8	99,0–100
	Insgesamt	4/4	100	51,0–100	1553/1556^m	99,8	99,4–99,9
Hefe							
<i>C. neoformans/gattii</i>	Frisch	0/0	-	-	1015/1015	100	99,6–100
	Gefroren	1/1	100	-	540/544	99,3	98,1–99,7
	Insgesamt	1/1	100	-	1555/1559ⁿ	99,7	99,3–99,9

^a Die Leistungskennzahlen Sensitivität und Spezifität gelten nur für bakterielle Analyte, denen der Goldstandard der CSF-Bakterienkultur als Referenzmethode zugrunde gelegt wurde. Die Leistungskennzahlen Prozentuale Positive Übereinstimmung und Prozentuale Negative Übereinstimmung gelten für alle Analyte, für die PCR-/Sequenzierungs-Assays als Vergleichsmethode genutzt wurden.

^b Die FP-Probe wurde negativ auf *E. coli* K1 getestet unter Verwendung eines unabhängigen PCR-Assays (mit Nukleinsäure als Targetregion, die sich von der durch das FilmArray ME Panel bestimmten unterschied). Meningitis wurde in diesem Probanden klinisch ausgeschlossen.

^c Ein zusätzlicher Säugling mit vorliegender CSF-Pleozytose (WBC 3738) und *E. coli*-Bakteriämie. CSF-Kulturen und FilmArray ME Panel waren negativ, aber es waren keine Informationen hinsichtlich einer Vorbehandlung mit Antibiotika verfügbar und der Proband

- erhielt die klinische Diagnose Meningitis.
- ^d *H. influenzae* wurden in der einzelnen FP-Probe nachgewiesen unter Verwendung eines unabhängigen PCR-Assays und konnten zudem durch die Gramfärbung beobachtet werden; der Proband, von dem die Probe entnommen wurde, erhielt die ärztliche Diagnose einer gramnegativen bakteriellen Meningitis.
- ^e Das Labor gab an, dass *S. agalactiae* in sehr geringer Prävalenz (zwei Kolonien) in der FN-Probe nachgewiesen wurde. Die FP-Probe ergab ein negatives Testergebnis für *S. agalactiae* unter Verwendung eines unabhängigen PCR-Assays.
- ^f *S. pneumoniae* wurde in 5/12 FP-Proben unter Verwendung eines unabhängigen PCR-Assays nachgewiesen; zusätzliche Informationen hinsichtlich sieben unbestätigter FP-Proben sind nachstehend in Tabelle 10 angegeben.
- ^g CMV wurde in 1/3 FP-Proben unter Verwendung eines unabhängigen PCR-Assays nachgewiesen.
- ^h EV wurde in 2/2 FN-Proben unter Verwendung eines unabhängigen PCR-Assays nachgewiesen; eine Probe war bei der Durchführung eines FilmArray ME-Wiederholungstests positiv. EV wurde in 5/7 FP-Proben unter Verwendung eines unabhängigen PCR-Assays nachgewiesen.
- ⁱ Beide FP-Proben ergaben ein negatives Testergebnis für HSV-1 unter Verwendung eines unabhängigen PCR-Assays.
- ^j HSV-2 wurde in 1/2 FP-Proben unter Verwendung eines unabhängigen PCR-Assays nachgewiesen; der Proband, von dem die Probe entnommen wurde, erhielt die ärztliche Diagnose einer HSV-Meningitis.
- ^k HHV-6 wurde in 2/3 FN-Proben und 1/4 FP-Proben unter Verwendung eines unabhängigen PCR-Assays nachgewiesen.
- ^l HPeV wurde in 1/3 FP-Proben unter Verwendung eines unabhängigen PCR-Assays nachgewiesen; der Proband, von dem die Probe entnommen wurde, erhielt die ärztliche Diagnose einer Meningitis mit HPeV als Erreger. Beide der Probanden, von denen die verbleibenden zwei Proben entnommen wurden, erhielten die Diagnose einer HPeV-Infektion infolge des Nachweises von HPeV im Blut.
- ^m VZV wurde in 1/3 FP-Proben unter Verwendung eines unabhängigen PCR-Assays nachgewiesen; der Proband, von dem die Probe entnommen wurde, erhielt die ärztliche Diagnose Herpes zoster. Von den verbleibenden zwei Proben mit FP-Ergebnissen wurde eine einem Probanden entnommen, der mit Zoster oticus diagnostiziert wurde.
- ⁿ *C. neoformans/gattii* wurde in 2/4 FP-Proben unter Verwendung eines kommerziell erhältlichen Antigentests nachgewiesen. Der Befund einer FP-Probe war positiv nach Standardkultur. Weitere Informationen zur Leistungsfähigkeit des FilmArray ME Panel in Hinblick auf Kryptokokken-Antigentests sind nachfolgend angegeben.

Von 12 falsch positiven *S. pneumoniae* konnten sieben unter Verwendung eines unabhängigen PCR-Assays nicht bestätigt werden. Für die Probanden, von denen diese Proben entnommen wurden, wurde eine Überprüfung der medizinischen Daten veranlasst, die nachstehend in Tabelle 10 zusammengefasst wurde. Keiner der Probanden zeigte Anzeichen einer bakteriellen Meningitis/Enzephalitis. Die Ursache dieser falsch positiven Ergebnisse konnte nicht bestimmt werden.

Tabelle 10. Klinische Merkmale der Probanden mit unbestätigten falsch positiven *S. pneumoniae*-Befunden

Alter des Probanden	CSF WBC	FilmArray Ergebnisse	Vergleichskultur/ Vergleichs-PCR ^a	In der Krankenakte angegebene Diagnose
< 2 Mon.	3	Pos	Neg/Neg	Infection, nicht ZNS (<i>S. agalactiae</i> Urinkultur)
65+	2	Pos	Neg/Neg	Nicht verfügbar
2–17	0	Pos	Neg/Neg	Infektion, nicht ZNS (Follikulitis)
< 2 Mon.	3	Pos	Neg/Neg	Infektion, nicht ZNS (Parainfluenzavirus)
18–34	1	Pos	Neg/Neg	ZNS-Erkrankung, nicht-infektiös (Epilepsie)
35–64	1	Pos	Neg/Neg	Infektion, nicht ZNS (Hep B), Multiples Myelom
18–34	1	Pos	Neg/Neg	Infektion, nicht ZNS (Bell-Lähmung)

^a Dieses PCR entspricht dem unter Fußnote f der Tabelle 9 beschriebenen.

Die zur Evaluierung der Leistungsfähigkeit des FilmArray ME Panel beim Nachweis von *C. neoformans/gattii* genutzte Vergleichsmethode war PCR mit bidirektionaler Sequenzierung. Die Leistungsfähigkeit des FilmArray Panel beim Nachweis von *Cryptococcus* wurde zudem im Vergleich mit speziellen Tests auf *Cryptococcus* berechnet, die auf klinische Testanfragen hin für eine Untergruppe der Probanden vom Labor durchgeführt wurden. Für die zur Verfügung stehenden Daten ist die Leistungsfähigkeit des FilmArray ME Panel in Tabelle 11 im Vergleich mit dem Kryptokokken-Antigentest (N=196), der Standardkultur (N=1560) und der Pilzkultur (N=23) angegeben. Bei sieben der acht CrAg-positiven Proben bestand eine merkliche Diskrepanz zu den FilmArray ME Panel Ergebnissen. Alle sieben dieser Proben ergaben einen negativen Befund für *Cryptococcus* beim Test mit beiden PCR-Vergleichs-Assays. Die Einsicht der medizinischen Unterlagen ergab, dass jeder dieser Probanden zum Zeitpunkt der Probenentnahme für Kryptokokkenmeningitis oder Kryptokokkose mit Antimykotika behandelt wurde und/oder in ihrer Anamnese eine ehemalige *Cryptococcus*-Infektion vorlag. Aus diesem Grund sind die positiven Antigen-Befunde für diese Patienten bei nicht nachgewiesenem Organismus durch PCR und Kultur vermutlich auf Antigen-Persistenz und nicht auf das Vorhandensein lebender Organismen zurückzuführen.

Tabelle 11. Leistungsvergleich des FilmArray ME Panel *C. neoformans/gattii* Assays mit sonstigen Vergleichsmethoden

Cryptococcus-Test Vergleichsmethode	Positive prozentuale Übereinstimmung			Negative prozentuale Übereinstimmung		
	TP/(TP + FN)	%	95 % CI	TN/(TN + FP)	%	95 % CI
Kryptokokken-Antigen	1/8 ^a	12,5	2,2–47,1	187/188 ^b	99,5	97,0–99,5
Standardkultur	2/3 ^c	66,7	20,8–93,9	1554/1557 ^d	99,8	99,4–99,9
Pilzkultur	0/0	-	-	22/23 ^e	95,7	79,0–99,2

^a Sieben Proben fielen bei am klinischen Prüfzentrum durchgeführten CrAg-Tests positiv aus, waren jedoch laut Therapiestandard, FilmArray ME Panel und zwei Vergleichs-Assays negativ. Alle sieben Probanden, bei denen diese Proben entnommen wurden, wurden vor LP mit Antimykotika behandelt und/oder wiesen in ihrer Anamnese eine vergangene *Cryptococcus*-Infektion auf. Die achte Probe fiel nach CrAg, FilmArray ME Panel und Therapiestandard positiv aus.

^b *Cryptococcus* wurde in der einzelnen FP-Probe unter Verwendung eines CrAg-Testkits bei BioFire nachgewiesen.

^c Die einzelne FN-Probe fiel laut Therapiestandard ebenso positiv aus, negativ jedoch laut FilmArray ME Panel und zwei Vergleichs-Assays. Das Labor gab an, dass nur eine Kolonie gewonnen wurde.

^d *Cryptococcus* wurde in 1/3 FP-Proben unter Verwendung des CrAg-Testkits bei BioFire nachgewiesen (es handelt sich um dieselbe FP, wie unter Fußnote b beschrieben).

^e Die einzelne FP-Probe fiel laut Therapiestandard und durchgeführtem CrAg-Test am klinischen Prüfzentrum negativ aus, ebenso negativ laut der zwei Vergleichs-Assays, positiv jedoch laut dem bei BioFire durchgeführten CrAg-Test (es handelt sich um dieselbe FP, wie unter Fußnote b beschrieben).

Das FilmArray ME Panel zeigte insgesamt 5 Proben mit nennenswertem Nachweis mehrerer Organismen (0,3 % aller Proben, 5/1560; und 3,7 % der positiven Proben, 5/136). Jeder Multi-Analyt-Nachweis enthielt zwei Organismen, von denen mindestens einer nicht von der Referenz-/Vergleichsmethode erfasst wurde (d. h. jede Probe enthielt mindestens ein falsch positives Ergebnis).

Tabelle 12. Co-Nachweis-Kombinationen bestimmt durch das FilmArray ME Panel

Co-Nachweis Kombination	Anzahl der Proben	Analyte mit Diskrepanz (bestimmt ausschließlich durch FilmArray)
CMV + <i>S. pneumoniae</i>	1	CMV
EV + HPeV	1	EV
HSV-1 + HHV-6	1	HSV-1
HSV-2 + <i>S. agalactiae</i>	1	<i>S. agalactiae</i>
<i>S. pneumoniae</i> + VZV	1	<i>S. pneumoniae</i> , VZV

Die Erfolgsquote des FilmArray ME Panel Tests insgesamt bei der eingänglichen Prüfung dieser Proben lag bei 98,9 % (1560/1577); 17 Tests waren nicht erfolgreich (11 aufgrund unvollständiger Tests und sechs aufgrund des Versagens der Kontrollen). Es wurden keine undichten Riegel bemerkt.

Testen von vorab ausgewählten archivierten Proben

Mehrere Analyte waren in der prospektiven klinischen Studie entweder nicht vorhanden oder hatten eine geringe Prävalenz. Um die Ergebnisse der prospektiven klinischen Studie zu ergänzen, wurde eine Evaluierung von 235 vorab ausgewählten archivierten Proben (25 davon negativ) durchgeführt. Die Proben waren archivierte klinische Proben, die ausgewählt wurden, da sie früher positiv auf einen der folgenden Organismen getestet worden waren: *Cryptococcus*, CMV, *E. coli*, *H. influenzae*, HSV-1, HSV-2, HHV-6, HPeV, *L. monocytogenes*, *N. meningitidis*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae*, und VZV; oder fielen in vorherigen Labortests negativ aus. Vor dem Testen mit dem FilmArray ME Panel wurde das Vorhandensein (oder Fehlen) des erwarteten Analyts in jeder Probe mittels validierter molekularer Tests

(z. B. PCR mit bidirektionaler Sequenzierung) bestätigt. Von den 210 positiven Proben wurde das historische Ergebnis durch die Vergleichsmethode für 150 (150/210; 71,4 %) bestätigt; für die Berechnung der PPA wurden ausschließlich bestätigte Analyte genutzt, für die NPA-Analysen, wie sie in Tabelle 15 dargestellt sind, wurden alle Proben verwendet.

Die Proben wurden in „Test-Panels“ eingeteilt und randomisiert, sodass die Anwender, die die FilmArray ME Panel-Tests durchführten, für die erwarteten Testergebnisse geblendet waren. Ein Überblick über die verfügbaren demographischen Daten für die Testproben ist in Tabelle 13 angegeben, die Ergebnisse der FilmArray ME Tests sind in Tabelle 14 abgebildet.

Tabelle 13. Demographischer Überblick

Vorab ausgewählte archivierte Proben	
Gesamtanzahl der Proben	235
Geschlecht	Anzahl der Proben (%)
Männlich	70 (30 %)
Weiblich	90 (38 %)
Unbekannt	75 (32 %)
Altersgruppe	Anzahl der Proben (%)
< 2 Mon.	5 (2 %)
2–23 Mon.	19 (8 %)
2–17 Jahre	19 (8 %)
18–34 Jahre	33 (14 %)
35–64 Jahre	65 (28 %)
65+ Jahre	26 (11 %)
Unbekannt	68 (29 %)

Tabelle 14. Überblick über die Leistungsdaten des FilmArray ME Panel bei archivierten Proben

Analyt	Positive prozentuale Übereinstimmung			Negative prozentuale Übereinstimmung		
	TP/(TP + FN)	%	95 % CI	TN/(TN + FP)	%	95 % CI
Bakterien						
<i>E. coli</i> K1	2/2	100	34,2–100	35/35	100	90,1–100
<i>H. influenzae</i>	3/3	100	43,9–100	39/39	100	91–100
<i>L. monocytogenes</i>	1/1	100	-	41/41	100	91,4–100
<i>N. meningitidis</i>	7/7	100	64,6–100	34/34	100	89,8–100
<i>S. agalactiae</i>	2/2	100	34,2–100	40/40	100	91,2–100
<i>S. pneumoniae</i>	17/17	100	81,6–100	21/21	100	84,5–100
Viren						
CMV	7/8	87,5	52,9–97,8	181/181	100	97,9–100
HSV-1	16/16	100	80,6–100	156/157	99,4	96,5–99,9
HSV-2	33/34	97,1	85,1–99,5	136/136	100	97,3–100
HHV-6	12/16 ^a	75,0	50,5–89,8	168/168	100	97,8–100
HPeV	2/3	66,7	20,8–93,9	187/187	100	98,0–100
VZV	22/22	100	85,1–100	162/164	98,8	95,7–99,7
Hefe						
<i>C. neoformans/gattii</i>	19/19 ^b	100	83,2–100	171/171	100	97,8–100

^a Zwei Proben wurden sequenziert und als HHV-6A identifiziert, 14 waren HHV-6B. Von den vier FilmArray FN-Proben wurde eine sequenziert und als HHV-6A identifiziert, die verbleibenden drei FN-Proben wurden als HHV-6B erkannt. Die sich daraus ergebende PPA lag jeweils bei 50 % (1/2); 95 % CI 9,5–90,5 % und 79 % (11/14); 95 % CI 52,4–92,4 % für HHV-6A und HHV-6B.

^b Eine Probe wurde sequenziert und als *C. gattii* identifiziert, 18 waren *C. neoformans*.

Tests von speziell präparierten Proben

Mehrere Analyte, wie beispielsweise *Haemophilus influenzae*, standen weder bei prospektiven noch archivierten Tests in ausreichender Anzahl zur Verfügung, um die Systemleistung zu überprüfen. Um die prospektiven und archivierten Daten zu ergänzen, wurde eine Evaluierung speziell präparierter Proben durchgeführt. Die Vorbereitung der Ersatzproben erfolgte unter Verwendung verbleibender Proben, die zuvor auf alle ME Panel Analyte durch das FilmArray und durch Vergleichsmethoden negativ getestet wurden. Für jeden Analyt wurden mindestens 25 Proben auf 2 x LoD dotiert. Die verbleibenden Proben wurden auf vier zusätzliche Konzentrationen über den klinisch relevanten Bereich hinweg dotiert unter Verwendung von mindestens fünf unterschiedlichen quantifizierten Stämmen für jeden der Organismen. Die Proben wurden vorbereitet und gemeinsam mit negativen (undotierten) Proben randomisiert, sodass der Organismusstatus der präparierten Proben für die Anwender, die die Proben analysierten, geblendet war. Die präparierten Proben wurden eingefroren und anschließend an die prospektiven klinischen Studienorte für das Testverfahren verteilt. Die Ergebnisse der FilmArray Tests sind in Tabelle 15 dargestellt.

Tabelle 15. Leistungsmerkmale des FilmArray ME Panel für speziell aufbereitete Proben

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

^a Ein falsch negatives Ergebnis von *E. coli* K1 wurde bei 2 x LoD beobachtet und ein falsch negatives Ergebnis von *E. coli* K1 wurde bei 0,2 x LoD beobachtet.

^b Beide falsch negativen Ergebnisse von *S. agalactiae* wurden bei 0,2 x LoD beobachtet.

^c Beide falsch negativen Ergebnisse von CMV wurden bei 0,2 x LoD beobachtet.

FilmArray 2.0 Klinischer Vergleich

Um nachzuweisen, dass die Leistungsfähigkeit des FilmArray ME Panel bei Verwendung mit dem FilmArray 2.0 dem FilmArray gleichwertig ist, wurde eine Kombination verbleibender, anonymisierter CSF-Proben und präparierter CSF-Proben mit allen 14 Analyten des FilmArray ME Panels evaluiert. Es wurden insgesamt 149 Proben getestet, bestehend aus 21 klinischen Proben und 128 präparierten Proben. Jeder Analyt war mindestens fünfmal im Probensatz vorhanden. Alle Proben wurden auf beiden Systemen evaluiert. Die Ergebnisse der FilmArray Tests sind in Tabelle 16 dargestellt (die Ergebnisse des FilmArray 2.0 sind als Zähler, die Ergebnisse des FilmArray als Nenner dargestellt).

Tabelle 16. Überblick über die klinische Vergleichsuntersuchung der Leistungsmerkmale des FilmArray ME Panel beim Testen auf FilmArray 2.0 (FA2.0) und FilmArray (FA)

Analyt		Positive prozentuale Übereinstimmung			Negative prozentuale Übereinstimmung		
		FA2.0/FA	%	95 % CI	FA2.0/FA	%	95 % CI
Bakterien							
<i>E. coli</i> K1	Klinisch	0/0	-	-	21/21	100 %	84,5–100 %
	Aufbereitet	5/6	83,3 %	43,7–97,0 %	122/122	100 %	97,0–100 %
	Insgesamt	5/6	83,3 %	43,7–97,0 %	143/143	100 %	97,4–100 %
<i>H. influenzae</i>	Klinisch	0/0	-	-	21/21	100 %	84,5–100 %
	Aufbereitet	10/10	100 %	72,3–100 %	118/118	100 %	96,9–100 %
	Insgesamt	10/10	100 %	72,3–100 %	139/139	100 %	97,3–100 %
<i>L. monocytogenes</i>	Klinisch	0/0	-	-	21/21	100 %	84,5–100 %
	Aufbereitet	5/5	100 %	56,6–100 %	123/123	100 %	97,0–100 %
	Insgesamt	5/5	100 %	56,6–100 %	144/144	100 %	97,4–100 %
<i>N. meningitidis</i>	Klinisch	0/0	-	-	21/21	100 %	84,5–100 %
	Aufbereitet	11/11	100 %	74,1–100 %	117/117	100 %	96,8–100 %
	Insgesamt	11/11	100 %	74,1–100 %	138/138	100 %	97,3–100 %
<i>S. agalactiae</i>	Klinisch	1/1	100 %	20,7–100 %	20/20	100 %	83,9–100 %
	Aufbereitet	5/5	100 %	56,6–100 %	123/123	100 %	97,0–100 %
	Insgesamt	6/6	100 %	61,0–100 %	143/143	100 %	97,4–100 %
<i>S. pneumoniae</i>	Klinisch	1/1	100 %	20,7–100 %	20/20	100 %	83,9–100 %
	Aufbereitet	6/7	85,7 %	48,7–97,4 %	120/121	99,2 %	95,5–99,9 %
	Insgesamt	7/8	87,5 %	52,9–97,8 %	140/141	99,3 %	96,1–99,9 %

Viren							
CMV	Klinisch	1/1	100 %	20,7–100 %	20/20	100 %	83,9–100 %
	Aufbereitet	5/5	100 %	56,6–100 %	123/123	100 %	97,0–100 %
	Insgesamt	6/6	100 %	61,0–100 %	143/143	100 %	97,4–100 %
EV	Klinisch	1/1	100 %	20,7–100 %	20/20	100 %	83,9–100 %
	Aufbereitet	11/12	91,7 %	64,6–98,5 %	114/116	98,3 %	93,9–99,5 %
	Insgesamt	12/13	92,3 %	66,7–98,6 %	134/136	98,5 %	94,8–99,6 %
HSV-1	Klinisch	3/3	100 %	43,9–100 %	18/18	100 %	82,4–100 %
	Aufbereitet	3/3	100 %	43,9–100 %	125/125	100 %	97,0–100 %
	Insgesamt	6/6	100 %	61,0–100 %	143/143	100 %	97,4–100 %
HSV-2	Klinisch	2/2	100 %	34,2–100 %	19/19	100 %	83,2–100 %
	Aufbereitet	3/3	100 %	43,9–100 %	125/125	100 %	97,0–100 %
	Insgesamt	5/5	100 %	56,6–100 %	144/144	100 %	97,4–100 %
HHV-6	Klinisch	3/3	100 %	43,9–100 %	18/18	100 %	82,4–100 %
	Aufbereitet	9/9	100 %	70,1–100 %	117/119	98,3 %	94,1–99,5 %
	Insgesamt	12/12	100 %	75,8–100 %	135/137	98,5 %	94,8–99,6 %
HPeV	Klinisch	0/0	-	-	21/21	100 %	84,5–100 %
	Aufbereitet	8/8	100 %	67,6–100 %	120/120	100 %	96,9–100 %
	Insgesamt	8/8	100 %	67,6–100 %	141/141	100 %	97,4–100 %
VZV	Klinisch	3/3	100 %	43,9–100	18/18	100 %	82,4–100 %
	Aufbereitet	4/4	100 %	51,0–100 %	124/124	100 %	97,0–100 %
	Insgesamt	7/7	100 %	64,6–100 %	142/142	100 %	97,4–100 %
Hefe							
C. neoformans/gattii	Klinisch	2/2	100 %	34,2–100 %	19/19	100 %	83,2–100 %
	Aufbereitet	15/15	100 %	79,6–100 %	112/113	99,1 %	95,2–99,9 %
	Insgesamt	17/17	100 %	81,6–100 %	131/132	99,2 %	95,8–99,9 %
Übereinstimmung insgesamt		117/120	97,5 %	92,9–99,2 %	1960/1966	99,7 %	99,3–99,9 %

Das FilmArray ME Panel wies 100 % Übereinstimmung für 18 individuelle klinische Proben auf. Des Weiteren konnte für neun der 14 Analyte bei der Untersuchung präparierter Proben eine 100%ige Übereinstimmung beobachtet werden. Es wurden vereinzelte diskrepante Ergebnisse beobachtet. Dies war vermutlich auf die unterschiedliche Erkennung dotierter Organismen nahe der LoD oder unerwartete Nachweise schwach prävalenter (unterhalb LoD) Analyte, die im Hintergrund der klinischen Matrix vorhanden waren und die ursprünglich als negativ charakterisiert wurden, zurückzuführen. Die PPA lag für alle klinischen und präparierten Proben insgesamt bei 97,5 % mit einer Untergrenze des zweiseitigen 95 %-Konfidenzintervalls (95 %-CI) bei 92,9 % und die NPA lag insgesamt bei 99,7 % mit einer Untergrenze des zweiseitigen 95 %-CI bei 99,3 %.

Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze (LoD) für FilmArray ME Panel-Analyte wurde durch Testen von Grenzverdünnungen präparierter Proben mit bekannten Konzentrationen von einem bis zu fünf Organismen (Bakterien, Viren und Hefe) bestimmt. Die Bestätigung der LoD erfolgte durch Testen von 20 Replikaten einer präparierten Probe aufgestockt mit Analyten in ihrer geschätzten LoD-Konzentration. Die Nachweisgrenze wurde bestätigt, da der Organismus in mindestens 19 der 20 getesteten Replikate nachgewiesen wurde (19/20 = 95 %).

Die bestätigte LoD für jeden FilmArray ME Panel-Organismus ist in Tabelle 17 aufgelistet. Ein Nachweis in mindestens 95 % der Replikate mit dieser LoD-Konzentration wurde für jedes Analyt mit FilmArray, FilmArray 2.0 und FilmArray Torch-Systemen gezeigt. Für Bakterien und Hefe ist die LoD in der Maßeinheit CFU/ml oder Zellen/ml angegeben und für die Mehrzahl der Viren ist die LoD als Maß der Infektiosität (infektiöse Dosis in Gewebekultur oder TCID₅₀/ml) angegeben. Für einige Viren und Bakterien ist die durch molekulare Quantifizierung mit einem Real-Time-PCR-Assay bestimmte LoD (zusätzlich) in Kopien einer Nukleinsäure/ml angegeben.

HINWEIS: CFU/ml ist eine Einheit lebensfähiger Zellen und kann eine Unterbewertung der Menge an genetischem Material in einer Probe sein, insbesondere bei anspruchsvollen Bakterien (z. B. *N. meningitidis* und *S. pneumoniae*). Ähnlich verhält es sich bei der molekularen Quantifizierung, die von der Effizienz des Assays und der Charakterisierung der für die Bestimmung von Kopien/ml verwendeten Standardvorlage abhängig ist.

Tabelle 17. Nachweisgrenze (LOD) für Organismen, die mit FilmArray ME Panel nachgewiesen werden

ME Panel Testergebnisse	Getestete Spezies/Isolat	LoD-Konzentration	Nachweis bei LoD-Konzentration ^a
BAKTERIEN			
<i>E. coli</i> K1	<i>E. coli</i> K1, Stamm C5 [Bort]; Typ O18ac:K1:H7 ATCC 700973	1×10 ³ CFU/ml	20/20 100 %
<i>H. influenzae</i>	<i>H. influenzae</i> , Stamm AMC 36-A-1 [572] Typ b, Biotyp I ATCC 10211	1×10 ³ CFU/ml	20/20 100 %
<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i> , Stamm 1071/53, Typ 4b ATCC 13932	1×10 ³ CFU/ml	20/20 100 %
<i>N. meningitidis</i>	<i>N. meningitidis</i> , Stamm M-1574 [199W135] ATCC 43744	100 CFU/ml (~1,80×10 ³ Kopien/ml)	19/20 95 %
<i>S. agalactiae</i>	<i>S. agalactiae</i> , Typ Stamm, G19, Gruppe B ATCC 13813	1×10 ³ CFU/ml	20/20 100 %
<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i> , Stamm SV 1, Serotyp 1 ATCC 33400	100 Zellen/ml (~1,50×10 ³ Kopien/ml)	19/20 95 %
VIREN			
CMV ^b	CMV, Stamm AD-169 Zeptomatrix 0810003CF	100 TCID ₅₀ /ml (4,30×10 ³ Kopien/ml)	20/20 100 %
EV (Spezies A-D)	Coxsackievirus A6, Spezies A, Stamm Gdula ATCC VR-1801	50 TCID ₅₀ /ml	20/20 100 %
	Coxsackievirus A9, Spezies B Zeptomatrix 0810017CF	5 TCID ₅₀ /ml	20/20 100 %
	Coxsackievirus A17, Spezies C, Stamm G-12 ATCC VR-1023	5 TCID ₅₀ /ml	20/20 100 %
	EV 70, Spezies D, Stamm J670/71 ATCC VR-836	50 TCID ₅₀ /ml	20/20 100 %
HSV-1	HSV-1, Stamm MacIntyre Zeptomatrix 0810005CF	250 TCID ₅₀ /ml (1,51×10 ³ Kopien/ml)	20/20 100 %
HSV-2	HSV-2, Stamm MS Zeptomatrix 0810006CF	50 TCID ₅₀ /ml (1,29×10 ³ Kopien/ml)	20/20 100 %
HHV-6	HHV-6A, Stamm U1102 NCPV 0003121v	1×10 ⁴ Kopien/ml	19/20 95 %
	HHV-6B, Stamm HST NCPV 0006111v	1×10 ⁴ Kopien/ml	19/20 95 %
HPeV	HPeV, Typ 3 Zeptomatrix 0810147CF	500 TCID ₅₀ /ml	19/20 95 %
VZV	VZV, Stamm Ellen Zeptomatrix 0810171CF	0,10 TCID ₅₀ /ml (1,66×10 ³ Kopien/ml)	20/20 100 %

ME Panel Testergebnisse	Getestete Spezies/Isolat	LoD-Konzentration	Nachweis bei LoD-Konzentration ^a
HEFE			
C. neoformans/gattii	<i>C. neoformans</i> Var. <i>grubii</i> , Typ Stamm, H99 [H99JP, NYSD 1649] ATCC 208821	100 CFU/ml	20/20 100 %
	<i>C. gattii</i> , Stamm A6MR38, AFLP6C, VGIIc ATCC MYA-4877	100 CFU/ml	20/20 100 %

^a Nachweisdaten aus LoD-Bestätigungstest durchgeführt im FilmArray-System.

^b Eine Verdünnungsreihe des internationalen Standards für CMV (NIBSC 09/162) der Weltgesundheitsorganisation (WHO) wurde ebenfalls mit FilmArray und FilmArray 2.0-Systemen getestet. CMV wurde in 100 % der Replikate (10/10) nachgewiesen bei einer niedrigen Konzentration ab $5,0 \times 10^3$ IU/ml (IU = International Units (Internationale Einheiten)).

Analytische Reaktivität (Inklusivität)

Die analytische Reaktivität (Inklusivität) des FilmArray ME Panel wurde mit einer Auswahl von 96 Isolaten evaluiert, die die Vielfalt der FilmArray ME Panel Analyte widerspiegeln. Die Auswahl der Isolate erfolgte gemäß der Repräsentation relevanter Spezies, Subspezies oder Serotypen. Die Isolate wurden anfangs bei Konzentrationen nahe (1–3x) der Nachweisgrenze (LoD) getestet und alle 98 Isolate wurden vom FilmArray ME Panel bei Konzentrationen innerhalb 10x LoD erkannt. Wenn möglich, wurde eine *in silico*-Analyse der Sequenzdaten ausgeführt, um Voraussagen über die Reaktivität des Assays für weniger verbreitete Stämme oder Serotypen treffen zu können, die nicht getestet wurden, vom FilmArray ME Panel jedoch erkannt werden könnten.

Eine Zusammenfassung der ME Panel Reaktivität auf Grundlage empirischer Daten inklusive Hinweisen zu Reaktivitäts-Voraussagen basierend auf der *in silico*-Analyse ist in Tabelle 18 zu finden und alle getesteten Isolate sind in den Tabellen 19–20 aufgeführt. Es konnten keine Beschränkungen zur Reaktivität des FilmArray ME Panel bestimmt werden.

Tabelle 18. Überblick über die Analytische Reaktivität (Inklusivität) des FilmArray ME Panels

FilmArray ME Panel Testergebnisse	Anz. der getesteten und nachgewiesenen Isolate	Nachgewiesene Konzentration	Getestete und nachgewiesene Isolate
Bakterien			
<i>E. coli</i> K1	5	1.000–3.000 CFU/ml	<i>E. coli</i> nur Stämme des K1 Serotyps
<i>H. influenzae</i>	9	1.000–3.000 CFU/ml	Nicht typisierbare und typisierbare (Typ a–f) Stämme von <i>H. influenzae</i>
<i>L. monocytogenes</i>	6	1.000–3.000 CFU/ml	Typ 1/2a, 1/2b, und 4b des <i>L. monocytogenes</i> ^a
<i>N. meningitidis</i>	7	100–300 CFU/ml	Verkapselte <i>N. meningitidis</i> (Serotyp W135, A, B, C, D, Y und DNA eines Stammes mit einer Variante des <i>ctrA</i> -Gens)
<i>S. agalactiae</i>	5	1.000–3.000 CFU/ml	Multiple Serotypen oder Isolate von <i>S. agalactiae</i> (Gruppe B <i>Streptococcus</i>)
<i>S. pneumoniae</i>	6	100–300 Zellen/ml	Multiple Serotypen von <i>S. pneumoniae</i>
Viren			
CMV	5	100–300 TCID ₅₀ /ml ($4,3 \times 10^3$ – $1,3 \times 10^4$ Kopien/ml)	Multiple Stämme des Zytomegalievirus (CMV)
EV	18	5–50 TCID ₅₀ /ml	Repräsentative Isolate aller Spezies (A–D) und mehrere Serotypen des humanen Enterovirus, Coxsackievirus und Echovirus ^b

FilmArray ME Panel Testergebnisse	Anz. der getesteten und nachgewiesenen Isolate	Nachgewiesene Konzentration	Getestete und nachgewiesene Isolate
HSV-1	5	250–750 TCID ₅₀ /ml (1,5×10 ³ –4,5×10 ³ Kopien/ml)	Multiple Stämme des Herpes-simplex-Virus 1 (HSV-1)
HSV-2	5	50–150 TCID ₅₀ /ml (1,3×10 ³ –3,9×10 ³ Kopien/ml)	Multiple Stämme des Herpes-simplex-Virus 2 (HSV-2)
HHV-6	4	1×10 ⁴ –3×10 ⁴ Kopien/ml	A- und B-Varianten des Humanen Herpesvirus 6 (HHV-6)
HPeV	6	500–5.000 TCID ₅₀ /ml	Serotypen 1–6 des Humanen Parechovirus (HPeV) ^c
VZV	5	0,1–0,3 TCID ₅₀ /ml (1,7×10 ³ –5×10 ³ Kopien/ml)	Multiple Stämme des Varizella-Zoster-Virus (VZV)
Hefe			
<i>C. neoformans/gattii</i>	10 (5 pro Spezies)	100–300 CFU/ml	Multiple Stämme, Serotypen und Genotypen von <i>Cryptococcus neoformans</i> und <i>Cryptococcus gattii</i>

^a Die *in silico*-Analyse verfügbarer Sequenzen prognostiziert eine Reaktion des FilmArray ME Panel auf alle derzeit charakterisierten Stämme und Serotypen von *L. monocytogenes*.

^b Die *in silico*-Analyse verfügbarer Sequenzen prognostiziert eine Reaktion des FilmArray ME Panel mit allen derzeit charakterisierten Serotypen (> 100) der humanen Enteroviren (einschließlich Enteroviren, Coxsackie-Viren und Echoviren).

^c Basierend auf der Sequenzanalyse wird zudem eine Reaktion des FilmArray ME Panel mit den HPeV Serotypen 7 und 8 vorausgesagt. Es waren keine Sequenzdaten für eine Reaktivitätsvoraussage mit anderen Serotypen verfügbar.

Tabelle 19. Getestete und vom FilmArray ME Panel erkannte Bakterienisolate nahe der (1–3×) LoD

Isolat	Information zu Stamm/Serotyp	Isolat-ID	Information zu Stamm/Serotyp
<i>E. coli</i> K1		<i>S. agalactiae</i>	
ATCC 700973	Serotyp O18ac:K1:H7	ATCC 13813	Serotyp Ia/c
BEI NR-17666	Serotyp O2:K1:H4	ATCC 12403	Serotyp III
BEI NR-17674	Serotyp O16:K1:H-	ATCC BAA-611	Serotyp V
NCTC 9007	Serotyp O9:K1:H-	Klinisches Isolat – 2010	Unbekannter Serotyp
NCTC 9045	Serotyp O45:K1:H10	NCTC 8017	Unbekannter Serotyp
<i>H. influenzae</i>		<i>N. meningitidis</i>	
ATCC 51907	Nicht typisierbar [Stamm Rd [KW20]]	ATCC 43744	Serotyp W135
ATCC 11116	Nicht typisierbar, <i>aegyptius</i>	ATCC 13077	Serotyp A
ATCC 9006	Typ a [Stamm AMC 36-A-3]	ATCC 13090	Serotyp B
ATCC 31512	Typ b [Stamm Rab]	ATCC 13102	Serotyp C
ATCC 10211	Typ b [Biotyp 1]	ATCC 13113	Serotyp D
ATCC 49699	Typ c [Stamm C 9007]	ATCC 35561	Serotyp Y
ATCC 9008	Typ d [Stamm AMC 36-A-6]	<i>ctrA</i> Variante	Stamm mit <i>ctrA</i> Genvariante ⁸⁰
ATCC 8142	Typ e [Stamm AMC 36-A-7]		
ATCC 700223	Typ f [Stamm GA-1264]		
<i>L. monocytogenes</i>		<i>S. pneumoniae</i>	
FSL-J2-020	Typ 1/2a	ATCC 33400	Serotyp 1

Isolat	Information zu Stamm/Serotyp	Isolat-ID	Information zu Stamm/Serotyp
FSL-C1-056	Typ 1/2a	ATCC BAA-334	Serotyp 4
FSL-J2-064	Typ 1/2b	ATCC BAA-341	Serotyp 5
Klinisches Isolat – 2009 CDPH	Typ 1/2b	NCTC 11900	Serotyp 11A
FSL-J1-110	Typ 4b	ATCC 700672	Serotyp 14
ATCC 13932	Typ 4b	ATCC 700673	Serotyp 19A

Tabelle 20. Getestete und vom FilmArray ME Panel erkannte Virusisolate nahe der (1–3x) LoD

Isolat	Information zu Stamm/Serotyp	Isolat-ID	Information zu Stamm/Serotyp
CMV		HSV-1	
Zeptomatrix 0810003CF	Stamm AD-169	Zeptomatrix 0810005CF	Stamm MacIntyre
ATCC VR-977	Stamm Towne	ATCC VR-733	Stamm F
ATCC VR-1590	Stamm Merlin	ATCC VR-260	Stamm HF
ATCC VR-807	Stamm Davis	ATCC VR-1493	Stamm KOS
NCPV 0302162v	Stamm Toledo	ATCC VR-1778	Aka ATCC-2011-1
EV		HSV-2	
ATCC VR-1801	Coxsackievirus A6	Zeptomatrix 0810006CF	Stamm MS
ATCC VR-168	Coxsackievirus A10	ATCC VR-734	Stamm G
NCPV 0812071v	Coxsackievirus A16	ATCC VR-1779	Aka ATCC-2011-2
NCPV 0812215v	Enterovirus 71	NCPV 0406272v	Stamm 131596
Zeptomatrix 0810017CF	Coxsackievirus A9	NCPV 0104152v	Stamm HG52
NCPV 0812078v	Coxsackievirus B1	HHV-6	
NCPV 0812142v	Coxsackievirus B2	NCPV 0003121v	6A – Stamm U1102
Zeptomatrix 0810074CF	Coxsackievirus B3	NCPV 0006111v	6B – Stamm HST
Zeptomatrix 0810075CF	Coxsackievirus B4	ATCC VR-1480	6B – Stamm SF
Zeptomatrix 0810019CF	Coxsackievirus B5	Zeptomatrix 0810072CF	6B – Stamm Z29
Zeptomatrix 0810076CF	Echovirus 6	HPeV	
Zeptomatrix 0810077CF	Echovirus 9	Zeptomatrix 0810145CF	Serotyp 1
NCPV 0901047v	Echovirus 18	Zeptomatrix 0810146CF	Serotyp 2
ATCC VR-1023	Coxsackievirus A17	Zeptomatrix 0810147CF	Serotyp 3
ATCC VR-850	Coxsackievirus A21	Zeptomatrix 0810148CF	Serotyp 4
ATCC VR-583	Coxsackievirus A24	Zeptomatrix 0810149CF	Serotyp 5 ^a
ATCC VR-836	Enterovirus 70	Zeptomatrix 0810150CF	Serotyp 6
Zeptomatrix 0810237CF	Enterovirus 68 (aka Rhinovirus 87)	VZV	
		Zeptomatrix 0810171CF	Ellen (aka ATCC VR-1367)
		Zeptomatrix 0810172CF	Isolat A
		Zeptomatrix 0810173CF	Isolat B
		Zeptomatrix 0810168 CF	Stamm 275
		ATCC VR-916	Webster

^a Erkannt bei einer Konzentration von 5.000 TCID₅₀/ml (10x LoD). Alle anderen getesteten Serotypen wurden bei 500–1.500 TCID₅₀/ml (1–3x LoD) erkannt.

Tabelle 21. Getestete und vom FilmArray ME Panel erkannte Hefeisolate nahe der (1–3×) LoD

Isolat	Information zu Stamm	Isolat-ID	Information zu Stamm
<i>C. neoformans</i>		<i>C. gattii</i>	
ATCC 32045	Unbekannter Serotyp Typ Stamm, CBS 132	ATCC MYA-4560	Serotyp B Stamm WM179, Typ VGI
ATCC 208821	Serotyp A, Stamm H99 Typ Stamm der Var. <i>grubii</i>	ATCC MYA-4094	Serotyp B Stamm R272, Typ VGIIb
ATCC MYA-4564	Serotyp A Stamm WM148, Typ VNI	ATCC MYA-4877	Unbekannter Serotyp Stamm R38, Typ VGIIc
ATCC MYA-4566	Serotyp AD Stamm WM628, Typ VNIII	ATCC MYA-4562	Serotyp B Stamm WM161, Typ VGIII
ATCC MYA-4567	Serotyp D Stamm WM629, Typ VNIV	ATCC MYA-4563	Serotyp C Stamm WM779, Typ VGIV

Analytische Spezifität (Kreuzreaktivität und Exklusivität)

Das Potenzial für eine unspezifische Amplifikation und Erkennung durch die FilmArray ME Panel-Assays (Kreuzreaktivität) wurde durch Testen hoher Konzentrationen von Organismen aus dem Panel (nachgewiesen durch die ME Panel-Assays) und Organismen außerhalb des Panel (nicht für den Nachweis durch die ME Panel Assays vorgesehen) evaluiert.

Es wurden insgesamt 19 Organismen des Panels (siehe Tabelle 17 im Abschnitt Nachweisgrenze) und 107 Organismen außerhalb des Panels (siehe unten) getestet zusätzlich zu einer *in silico*-Analyse zur Bestimmung potenzieller kreuzreagierender Sequenzen oder Organismen. Die zu testenden Organismen außerhalb des Panels wurden auf Basis einer Kombination mehrerer Faktoren ausgewählt, einschließlich (1) ihrer Verwandtschaft mit den vom ME Panel erkannten Spezies (benachbart), (2) ihrer klinischen Relevanz, (3) ihrer voraussichtlichen Prävalenz in CSF und (4) ihrer genetischen Ähnlichkeit zu den im ME Panel-Assay enthaltenen Primer, wie sie durch die *in silico*-Analysen bestimmt wurden.

Im Vorfeld des Tests ergab die *in silico*-Analyse eine mögliche Kreuzreaktion des (der) FilmArray ME Panel *Haemophilus influenzae* Assay(s) mit *Haemophilus haemolyticus* sowie ein möglicher Nachweis vieler eng verwandter Serotypen des humanen Rhinovirus durch das FilmArray ME Panel Enterovirus Assay. Sowohl *H. haemolyticus* als auch Rhinoviren sind im oberen Respirationstrakt zu finden, können jedoch selten in der CSF isoliert werden.

Die vom FilmArray ME Panel getesteten Bakterien, Viren, Pilze und Protisten außerhalb des Panel sind in Tabelle 22 aufgeführt. Alle Organismen wurden auf Basis der in der Kultur vorhandenen Konzentration bei der höchstmöglichen Konzentration getestet (in der Regel $\geq 1,0 \times 10^6$ CFU/ml für Bakterien, $\geq 1,0 \times 10^4$ Einheiten/ml für Viren und $\geq 1,0 \times 10^5$ Zellen/ml für Pilze und Protisten). Die durch die *in silico*-Analyse prognostizierte Kreuzreaktion von *H. haemolyticus* und Rhinoviren wurde durch die Tests bestätigt und es wurde zudem eine Kreuzreaktivität mit *Cryptococcus amyloletus*, einem engen Verwandten des *Cryptococcus neoformans*, das den Menschen nicht infiziert, beobachtet. Es wurde keine weitere Kreuzreaktivität vorausgesagt oder beobachtet.

HINWEIS: Bei der Handhabung von CSF-Proben sollten Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden, um einer Kontamination mit potenziell kreuzreaktiven Kommensalen oder pathogenen Organismen des Respirationstrakts vorzubeugen.

Tabelle 22. Vom FilmArray ME Panel getestete Organismen außerhalb des Panels (kreuzreaktive Organismen fett gedruckt)

Grampositive Bakterien	Gramnegative Bakterien	Viren	
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	Adenovirus A12	Parainfluenzavirus 2
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Citrobacter koseri</i>	Adenovirus B35	Parainfluenzavirus 3
<i>Corynebacterium striatum</i>	<i>Cronobacter sakazakii</i>	Adenovirus C2	Parainfluenzavirus 4
<i>Corynebacterium urealyticus</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Adenovirus D20	Parvovirus B19
<i>Listeria ivanovii</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	Adenovirus E4	Respiratory-Syncytial-Virus
<i>Listeria innocua</i>	<i>Escherichia coli</i> (nicht K1)	Adenovirus F41	Rotavirus
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	BK-Polyomavirus	Rubella-Virus
<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Escherichia hermannii</i>	Coronavirus 229E	St.-Louis-Enzephalitis-Virus
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia vulneris</i>	Coronavirus NL63	West-Nil-Virus
<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	Coronavirus OC43	Pilze
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Haemophilus haemolyticus</i>^a	Dengue-Virus (Typ 2)	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	Epstein-Barr-Virus	<i>Candida albicans</i>
<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	Hepatitis-B-Virus (HBV)	<i>Candida krusei</i>
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Hepatitis-C-Virus (HCV)	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Morganella morganii</i>		<i>Candida tropicalis</i>
<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> (Unverkapselt)	Humanes Herpesvirus 8	<i>Cryptococcus albidus</i>
<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Humanes Immundefizienz-Virus	<i>Cryptococcus amyloletus</i>^c
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	<i>Neisseria lactamica</i>	Humanes Rhinovirus A1^b	<i>Cryptococcus laurentii</i>
<i>Streptococcus intermedius</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	Humanes Rhinovirus A16^b	<i>Cryptococcus uniguttulatus</i>
<i>Streptococcus mitis</i> (tigurinus)	<i>Neisseria sicca</i>	Humanes Rhinovirus B3^b	<i>Filobasidium capsuligenum</i>
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>	Humanes Rhinovirus B83^b	
<i>Streptococcus oralis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	Influenza A H1N1	Pathogene Protisten
<i>Streptococcus pseudopneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Influenza A H1N1-2009	<i>Naegleria fowleri</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Salmonella bongori</i>		<i>Toxoplasma gondii</i>
<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Salmonella enterica</i>	Influenza B	
<i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>Serratia marcescens</i>	JC polyoma virus	
	<i>Shigella boydii</i>	La Crosse-Enzephalitis-Virus	
	<i>Shigella flexneri</i>	Measles Virus	
	<i>Shigella sonnei</i>	Mumpsvirus	
	<i>Treponema pallidum</i>		

^a Vom FilmArray ME Panel erkannt als *Haemophilus influenzae*. *H. haemolyticus* ist eine kommensales Bakterium des oberen Respirationstrakts, nur selten aus CSF isoliert. Kreuzreaktivität wurde nur bei Konzentrationen > 1×10⁵ CFU/ml beobachtet.

^b Vom FilmArray ME Panel erkannt als Enterovirus. Humane Rhinoviren sind respiratorische Pathogene und werden selten aus der CSF isoliert.

^c Vom FilmArray ME Panel erkannt als *Cryptococcus neoformans/gattii*. *C. amyloletus* wird nicht von Menschen isoliert (normales Habitat ist Insektenkot).

Reproduzierbarkeit

Es wurden multizentrische und systemübergreifende Reproduzierbarkeitsstudien des FilmArray und FilmArray 2.0 durchgeführt, um die Reproduzierbarkeit des FilmArray Meningitis/Encephalitis (ME) Panels zu bestimmen. Die Reproduzierbarkeitstests präparierter Proben wurden an drei Standorten (FilmArray) oder an einem Standort an drei Systemen (FilmArray 2.0) ausgeführt. Die Studie umfasste eine Auswahl möglicher Variationen durch den Standort oder das System, das Datum, den Anwender (mindestens zwei pro Standort oder System), Riegelchargen (mindestens drei) und Gerät (mindestens drei pro Standort und sechs pro System). Die Proben enthielten verschiedene Kombinationen neun unterschiedlicher ME Panel Analyte, jeder davon mit drei unterschiedlichen Konzentrationen (Negativ, Schwach Positiv und Mäßig Positiv). Eingefrorene Proben wurden an fünf unterschiedlichen Tagen auf 90 Datenpunkte pro Probe auf dem FilmArray und 90 Datenpunkte pro Probe auf dem FilmArray 2.0 getestet.

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse (prozentuale (%) Übereinstimmung mit dem erwarteten Ergebnis) nach Analyt ist in Tabelle 23 aufgeführt. Die Reproduzierbarkeit der T_m für jedes positive Assay (innerhalb eines Standortes oder Systems) ist in Tabelle 24 angegeben.

Das FilmArray ME Panel wies für alle Analyte eine ähnliche Reproduzierbarkeit auf dem FilmArray und dem FilmArray 2.0 auf, bei einer Standardabweichung in T_m für alle Assays von $\pm 0,5$ °C oder weniger.

HINWEIS: Die Reproduzierbarkeit der FilmArray ME Panel-Ergebnisse mit dem FilmArray Torch-System wurde ebenfalls in einer vergleichbaren Studie untersucht und zeigte äquivalente Ergebnisse (Übereinstimmung mit den zu erwartenden Ergebnissen für „Detected“ (Nachgewiesen) und „Not Detected“ (Nicht nachgewiesen) in $\geq 95,6$ % der getesteten Proben, mit einer T_m-Standardabweichung für jeden Assay von $\pm 0,5$ °C oder weniger).

Tabelle 23. Reproduzierbarkeit der FilmArray ME Panel Testergebnisse auf dem FilmArray und FilmArray 2.0

Testergebnis (Getesteter Organismus/ Isolat)	Getestete Konzentration	Erwartetes Ergebnis	Übereinstimmung mit erwartetem Ergebnis							
			FilmArray				FilmArray 2.0			
			Standort A	Standort B	Standort C	Alle Standorte (95 % Konfidenzintervall)	System A	System B	System C	Alle Systeme (95 % Konfidenzintervall)
BAKTERIEN										
<i>E. coli</i> K1 (ATCC 700973)	Mäßig Positiv 3x LoD 3x10 ³ CFU/ml	Nachgewiesen	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0–100 %)	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0 %–100 %)
	Schwach Positiv 1x LoD 1x10 ³ CFU/ml	Nachgewiesen	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0–100 %)	29/30 96,7 %	29/30 96,7 %	29/30 96,7 %	87/90 96,7 % (90,6 %–99,3 %)
	Negativ (kein Analyt)	Nicht Nachgewiesen	60/60 100 %	60/60 100 %	60/60 100 %	180/180 100 % (98,0–100 %)	60/60 100 %	60/60 100 %	60/60 100 %	180/180 100 % (98,0 %–100 %)
<i>H. influenzae</i> (ATCC 10211)	Mäßig Positiv 3x LoD 3x10 ³ CFU/ml	Nachgewiesen	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0–100 %)	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0 %–100 %)
	Schwach Positiv 1x LoD 1x10 ³ CFU/ml	Nachgewiesen	29/30 96,7 %	30/30 100 %	30/30 100 %	89/90 98,9 % (94,0–100 %)	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0 %–100 %)
	Negativ (kein Analyt)	Nicht Nachgewiesen	60/60 100 %	60/60 100 %	60/60 100 %	180/180 100 % (98,0–100 %)	60/60 100 %	60/60 100 %	60/60 100 %	180/180 100 % (98,0 %–100 %)
<i>L. monocytogenes</i> (ATCC 13932)	Mäßig Positiv 3x LoD 3x10 ³ CFU/ml	Nachgewiesen	29/30 96,7 %	30/30 100 %	30/30 100 %	89/90 98,9 % (94,0–100 %)	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0 %–100 %)
	Schwach Positiv 1x LoD 1x10 ³ CFU/ml	Nachgewiesen	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0–100 %)	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0 %–100 %)
	Negativ (kein Analyt)	Nicht Nachgewiesen	60/60 100 %	60/60 100 %	60/60 100 %	180/180 100 % (98,0–100 %)	60/60 100 %	60/60 100 %	60/60 100 %	180/180 100 % (98,0 %–100 %)
<i>N. meningitidis</i>	Negativ (kein Analyt)	Nicht Nachgewiesen	120/120 100 %	120/120 100 %	120/120 100 %	360/360 100 % (99,0–100 %)	120/120 100 %	120/120 100 %	120/120 100 %	360/360 100 % (99,0 %–100 %)

Testergebnis (Getesteter Organismus/ Isolat)	Getestete Konzentration	Erwartetes Ergebnis	Übereinstimmung mit erwartetem Ergebnis							
			FilmArray				FilmArray 2.0			
			Standort A	Standort B	Standort C	Alle Standorte (95 % Konfidenzintervall)	System A	System B	System C	Alle Systeme (95 % Konfidenzintervall)
<i>S. agalactiae</i> (ATCC 13813)	Mäßig Positiv 3x LoD 3x10 ³ CFU/ml	Nachgewiesen	29/30 96,7 %	30/30 100 %	27/30 90,0 %	86/90 95,6 % (89,0–98,8 %)	29/30 96,7 %	30/30 100 %	29/30 96,7 %	88/90 97,8 % (92,2 %–99,7 %)
	Schwach Positiv 1x LoD 1x10 ³ CFU/ml	Nachgewiesen	26/30 86,7 %	30/30 100 %	27/30 90,0 %	83/90 92,2 % (84,6–96,8 %)	29/30 96,7 %	29/30 96,7 %	30/30 100 %	88/90 97,8 % (92,2 %–99,7 %)
	Negativ (kein Analyt)	Nicht Nachgewiesen	60/60 100 %	60/60 100 %	60/60 100 %	180/180 100 % (98,0–100 %)	60/60 100 %	60/60 100 %	60/60 100 %	180/180 100 % (98,0 %–100 %)
<i>S. pneumoniae</i>	Negativ (kein Analyt)	Nicht Nachgewiesen	118/120 98,3 %	118/120 98,3 %	118/120 98,3 %	354/360 ^a 98,3 % (96,4–99,4 %)	120/120 100 %	120/120 100 %	120/120 100 %	360/360 100 % (99,0 %–100 %)
VIREN										
CMV	Negativ (kein Analyt)	Nicht Nachgewiesen	120/120 100 %	120/120 100 %	120/120 100 %	360/360 100 % (99,0–100 %)	120/120 100 %	120/120 100 %	120/120 100 %	360/360 100 % (99,0 %–100 %)
EV Coxsackievirus A9 (Zeptomatrix 0810017CF)	Mäßig Positiv 3x LoD 15 TCID ₅₀ /ml	Nachgewiesen	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0–100 %)	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0 %–100 %)
	Schwach Positiv 1x LoD 5 TCID ₅₀ /ml	Nachgewiesen	30/30 100 %	30/30 100 %	28/30 93,3 %	88/90 97,8 % (92,2–99,7 %)	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0 %–100 %)
	Negativ (kein Analyt)	Nicht Nachgewiesen	60/60 100 %	60/60 100 %	60/60 100 %	180/180 100 % (98,0–100 %)	60/60 100 %	60/60 100 %	60/60 100 %	180/180 100 % (98,0 %–100 %)
HSV-1	Negativ (kein Analyt)	Nicht Nachgewiesen	120/120 100 %	120/120 100 %	120/120 100 %	360/360 100 % (99,0–100 %)	120/120 100 %	120/120 100 %	120/120 ¹ 00 %	360/360 100 % (99,0 %–100 %)
HSV-2 (Zeptomatrix 0810006CF)	Mäßig Positiv 3x LoD 150 TCID ₅₀ /ml	Nachgewiesen	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0–100 %)	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0 %–100 %)
	Schwach Positiv 1x LoD 50 TCID ₅₀ /ml	Nachgewiesen	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0–100 %)	30/30 100 %	30/30 100 %	29/30 96,7 %	89/90 98,9 % (94,0 %–100 %)
	Negativ (kein Analyt)	Nicht Nachgewiesen	60/60 100 %	60/60 100 %	60/60 100 %	180/180 100 % (98,0–100 %)	60/60 100 %	60/60 100 %	60/60 100 %	180/180 100 % (98,0 %–100 %)

Testergebnis (Getesteter Organismus/ Isolat)	Getestete Konzentration	Erwartetes Ergebnis	Übereinstimmung mit erwartetem Ergebnis							
			FilmArray				FilmArray 2.0			
			Standort A	Standort B	Standort C	Alle Standorte (95 % Konfidenzintervall)	System A	System B	System C	Alle Systeme (95 % Konfidenzintervall)
HHV-6	Negativ (kein Analyt)	Nicht Nachgewiesen	120/120 100 %	119/120 99,2 %	120/120 100 %	359/360 99,7 % (98,5–100 %)	120/120 100 %	120/120 100 %	120/120 100 %	360/360 100 % (99,0 %–100 %)
HPeV (Zeptomatrix 0810147CF)	Mäßig Positiv 3x LoD 1,5x10 ³ TCID ₅₀ /ml	Nachgewiesen	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0–100 %)	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0 %–100 %)
	Schwach Positiv 1x LoD 500 TCID ₅₀ /ml	Nachgewiesen	29/30 96,7 %	30/30 100 %	30/30 100 %	89/90 98,9 % (94,0–100 %)	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0 %–100 %)
	Negativ (kein Analyt)	Nicht Nachgewiesen	60/60 100 %	60/60 100 %	60/60 100 %	180/180 100 % (98,0–100 %)	60/60 100 %	60/60 100 %	60/60 100 %	180/180 100 % (98,0 %–100 %)
VZV (Zeptomatrix 0810171CF)	Mäßig Positiv 3x LoD 0,3 TCID ₅₀ /ml	Nachgewiesen	29/30 96,7 %	30/30 100 %	30/30 100 %	89/90 98,9 % (94,0–100 %)	30/30 100 %	30/30 100 %	29/30 96,7 %	89/90 98,9 % (94,0 %–100 %)
	Schwach Positiv 1x LoD 0,1 TCID ₅₀ /ml	Nachgewiesen	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0–100 %)	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0 %–100 %)
	Negativ (kein Analyt)	Nicht Nachgewiesen	60/60 100 %	60/60 100 %	60/60 100 %	180/180 100 % (98,0–100 %)	60/60 100 %	60/60 100 %	60/60 100 %	180/180 100 % (98,0 %–100 %)
HEFE										
C. neoformans/ gattii	Mäßig Positiv 30x^b oder 3x LoD 3x10 ³ CFU/ml (FilmArray) 300 CFU/ml (FilmArray 2.0)	Nachgewiesen	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0–100 %)	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0 %–100 %)
	Schwach Positiv 10x^b oder 1x LoD 1x10 ³ CFU/ml (FilmArray) 100 CFU/ml (FilmArray 2.0)	Nachgewiesen	30/30 100 %	30/30 100 %	30/30 100 %	90/90 100 % (96,0–100 %)	30/30 100 %	30/30 100 %	28/30 93,3 %	88/90 97,8 % (92,2 %–99,7 %)
	Negativ (kein Analyt)	Nicht Nachgewiesen	60/60 100 %	60/60 100 %	60/60 100 %	180/180 100 % (98,0–100 %)	60/60 100 %	60/60 100 %	60/60 100 %	180/180 100 % (98,0 %–100 %)

^a Es wurden sechs falsch positive *S. pneumoniae*-Ergebnisse ausgegeben. Die unerwarteten Ergebnisse wurden an allen drei Test-Standorten in unterschiedlichen Proben, an unterschiedlichen Tagen und mit unterschiedlichen Riegelchargen beobachtet. Die Gesamtinzidenz der Reproduzierbarkeitstests für falsche *S. pneumoniae* Ergebnisse lag unter 1 %.

^b *C. gattii* wurde für Testergebnisse der Kombination *Cryptococcus neoformans/gattii* bei Konzentrationen entsprechend zu 10x und 30x LoD auf dem FilmArray-System getestet, während *C. gattii* bei den vorgesehenen 1x und 3x LoD-Konzentrationen auf dem FilmArray 2.0-System getestet wurde.

Tabelle 24. Reproduzierbarkeit von Tm (°C) für ausgewählte FilmArray ME Panel Assays auf dem FilmArray und dem FilmArray 2.0

Testergebnis (Getesteter Organismus/Isolat)	Assay	Getestete Konzentration (x LoD)	Mittel Tm (°C) (±StDev)							
			FilmArray				FilmArray 2.0			
			Standort A	Standort B	Standort C	Alle Standorte	System A	System B	System C	Alle Systeme
RNA- Prozesskontrolle	HefeRNA		82,4 ±0,2	82,5 ±0,3	82,0 ±0,2	82,3 ±0,3	81,7 ±0,3	81,9 ±0,3	81,7 ±0,3	81,8 ±0,3
PCR2-Kontrolle	PCR2		76,5 ±0,1	76,6 ±0,3	76,1 ±0,2	76,4 ±0,3	75,5 ±0,3	75,7 ±0,3	75,5 ±0,3	75,6 ±0,3
BAKTERIEN										
<i>E. coli</i> K1 (ATCC 700973)	Ecoli 3	3x LoD	82,9 ±0,1	82,8 ±0,3	82,6 ±0,1	82,8 ±0,3	82,1 ±0,3	82,3 ±0,3	82,1 ±0,3	82,2 ±0,3
		1x LoD	83,0 ±0,1	83,1 ±0,3	82,6 ±0,2	82,9 ±0,3	82,2 ±0,3	82,4 ±0,3	82,3 ±0,3	82,3 ±0,3
<i>H. influenzae</i> (ATCC 10211)	Hinfluenzae 1	3x LoD	78,6 ±0,1	78,6 ±0,4	78,2 ±0,2	78,5 ±0,4	77,9 ±0,3	77,9 ±0,3	77,7 ±0,2	77,8 ±0,3
		1x LoD	78,6 ±0,2	78,7 ±0,3	78,3 ±0,2	78,5 ±0,3	78,0 ±0,3	78,0 ±0,3	77,9 ±0,3	78,0 ±0,3
	Hinfluenzae 2	3x LoD	82,0 ±0,1	81,9 ±0,4	81,6 ±0,2	81,8 ±0,3	81,0 ±0,2	81,1 ±0,2	81,0 ±0,2	81,0 ±0,2
		1x LoD	82,0 ±0,1	82,0 ±0,3	81,7 ±0,2	81,9 ±0,3	81,2 ±0,2	81,3 ±0,2	81,2 ±0,3	81,2 ±0,2
<i>L. monocytogenes</i> (ATCC 13932)	Lmonocytogenes	3x LoD	80,4 ±0,2	80,6 ±0,3	80,2 ±0,2	80,4 ±0,3	80,0 ±0,4	80,1 ±0,3	80,0 ±0,3	80,0 ±0,3
		1x LoD	80,5 ±0,2	80,6 ±0,4	80,1 ±0,2	80,4 ±0,4	80,0 ±0,4	80,1 ±0,3	79,9 ±0,2	80,0 ±0,3
<i>S. agalactiae</i> (ATCC 13813)	Sagalactiae	3x LoD	82,0 ±0,1	82,0 ±0,3	81,6 ±0,2	81,9 ±0,3	81,1 ±0,3	81,3 ±0,3	81,2 ±0,2	81,2 ±0,3
		1x LoD	82,1 ±0,1	82,2 ±0,3	81,7 ±0,2	82,0 ±0,3	81,2 ±0,3	81,4 ±0,2	81,2 ±0,2	81,3 ±0,3
VIREN										
EV (Coxsackievirus A9) (Zeptomatrix 0810017CF)	EV2	3x LoD	89,7 ±0,1	89,7 ±0,3	89,3 ±0,2	89,6 ±0,3	89,1 ±0,3	89,3 ±0,3	89,2 ±0,3	89,2 ±0,3
		1x LoD	89,7 ±0,1	89,7 ±0,4	89,3 ±0,2	89,6 ±0,3	89,1 ±0,3	89,3 ±0,3	89,2 ±0,2	89,2 ±0,3
HSV-2 (Zeptomatrix	HSV2 1	3x LoD	75,6 ±0,3	75,5 ±0,3	75,1 ±0,3	75,4 ±0,3	74,6 ±0,3	74,8 ±0,3	74,6 ±0,3	74,7 ±0,3

Testergebnis (Getesteter Organismus/Isolat)	Assay	Getestete Konzentration (x LoD)	Mittel Tm (°C) (±StDev)							
			FilmArray				FilmArray 2.0			
			Standort A	Standort B	Standort C	Alle Standorte	System A	System B	System C	Alle Systeme
0810006CF)	HSV2 2	1x LoD	75,9 ±0,2	76,0 ±0,2	75,4 ±0,3	75,7 ±0,4	74,9 ±0,3	75,1 ±0,3	74,9 ±0,3	75,0 ±0,3
		3x LoD	88,8 ±0,2	88,9 ±0,4	88,4 ±0,2	88,7 ±0,3	88,1 ±0,3	88,3 ±0,3	88,2 ±0,2	88,2 ±0,3
		1x LoD	88,9 ±0,2	89,0 ±0,3	88,5 ±0,2	88,8 ±0,4	88,2 ±0,3	88,5 ±0,3	88,3 ±0,2	88,3 ±0,3
HPeV (Zeptomatrix 0810147CF)	HPeV	3x LoD	82,8 ±0,2	82,8 ±0,4	82,5 ±0,2	82,7 ±0,3	82,2 ±0,3	82,3 ±0,3	82,1 ±0,2	82,2 ±0,3
		1x LoD	82,8 ±0,2	82,9 ±0,3	82,5 ±0,2	82,7 ±0,3	82,3 ±0,3	82,3 ±0,2	82,2 ±0,3	82,3 ±0,3
VZV (Zeptomatrix 0810171CF)	VZV 1	3x LoD	88,9 ±0,2	89,0 ±0,4	88,5 ±0,2	88,8 ±0,4	88,5 ±0,4	88,5 ±0,2	88,4 ±0,2	88,5 ±0,3
		1x LoD	89,0 ±0,2	89,0 ±0,5	88,5 ±0,2	88,8 ±0,4	88,5 ±0,3	88,5 ±0,3	88,3 ±0,2	88,4 ±0,3
	VZV 2	3x LoD	82,0 ±0,1	82,1 ±0,3	81,7 ±0,2	81,9 ±0,3	81,5 ±0,3	81,5 ±0,2	81,4 ±0,2	81,5 ±0,2
		1x LoD	82,1 ±0,1	82,1 ±0,4	81,7 ±0,2	82,0 ±0,3	81,5 ±0,3	81,5 ±0,2	81,4 ±0,2	81,5 ±0,2
HEFE										
<i>C. neoformans/gattii</i> (<i>C. gattii</i>) (ATCC MYA-4877)	Cryptococcus	30x ^a (FilmArray) 3x LoD (FilmArray 2.0)	82,0 ±0,1	82,0 ±0,3	81,6 ±0,2	81,8 ±0,3	81,2 ±0,3	81,4 ±0,3	81,3 ±0,3	81,3 ±0,3
		10x ^a (FilmArray) 1x LoD (FilmArray 2.0)	82,0 ±0,2	82,1 ±0,2	81,6 ±0,2	81,9 ±0,3	81,3 ±0,3	81,5 ±0,4	81,3 ±0,2	81,4 ±0,3

^a *C. gattii* wurde für Testergebnisse der Kombination *Cryptococcus neoformans/gattii* bei Konzentrationen entsprechend zu 10x und 30x LoD auf dem FilmArray-System getestet, während *C. gattii* bei den vorgesehenen 1x und 3x LoD-Konzentrationen auf dem FilmArray 2.0-System getestet wurde.

Wechselwirkungen

Potenziell wechselwirkende Substanzen, die in CSF-Proben vorhanden sein oder bei der Vorbereitung oder dem Testen der Proben eingeführt werden könnten, wurden auf ihre potentielle Wechselwirkung mit der Leistungsfähigkeit des FilmArray ME Panel evaluiert. Jede der Substanzen wurde präparierten Proben zugefügt, die repräsentative ME Panel Organismen bei ungefähr 3x ihrer jeweiligen LoD enthielten. Die Konzentration der den Proben zugefügten Substanzen entsprach oder übertraf das höchste, in CSF-Proben erwartete Niveau (basierend auf den Referenz-Konzentrationen für normale oder Meningitis-/Enzephalitis-CSF, wie in Tabelle 25 angegeben).

Die Mehrzahl aller evaluierten Substanzen hatte keine Wirkung auf die Kontroll-Assays oder die Testergebnisse der Organismen auf dem FilmArray ME Panel. Es konnten gültige Ergebnisse erzielt werden und jeder Organismus konnte in Proben nachgewiesen werden, die relevante und/oder erhöhte Konzentrationen endogener Substanzen, wie Laktat, Glukose, Proteine (≤ 15 mg/ml), Leukozyten, menschliche genomische DNA und Blut enthielten, sowie in Proben, die Transportmedien zugefügt wurden und in Proben mit enthaltenem Ethanol (siehe Tabelle 25). Wechselwirkungen oder Schäden an der Probe konnten bei hohem Proteinspiegel (Albumin > 15 mg/ml) oder bei Bleiche bei einer Konzentration $> 0,1$ % (v/v) beobachtet werden.

Tabelle 25. Wirkung potenziell wechselwirkenden Substanzen auf das FilmArray ME Panel

Endogene Substanzen	Referenzkonzentration für CSF		Getestete Konzentration	Wechselwirkung Ergebnisse
	Normal	Meningitis/Enzephalitis		
Glukose	40–70 mg/dl ⁸¹ (0,4–0,7 mg/ml)	≤ 70 mg/dl ($\leq 0,7$ mg/ml) ⁸²	990 mg/dl (9,9 mg/ml)	Keine Wechselwirkung
Laktat	10–20 mg/dl ⁸¹ (0,1–0,2 mg/ml)	> 30 mg/dl ($> 0,3$ mg/ml) ⁸³	220 mg/dl (2,2 mg/ml)	Keine Wechselwirkung
Protein [Albumin]^a	45 mg/dl Gesamtprotein (0,45 mg/ml) ⁸²	50–500 mg/dl Gesamtprotein (0,5–5,0 mg/ml) ⁸²	5.000 mg/dl (50 mg/ml)	Wechselwirkung ^b
			4.000 mg/dl (40 mg/ml)	Wechselwirkung ^b
			1.500 mg/dl (15 mg/ml)	Keine Wechselwirkung
			500 mg/dl (5 mg/ml)	Keine Wechselwirkung
			100 mg/dl (1 mg/ml)	Keine Wechselwirkung
Immunglobulin (IgG)	0–8,0 mg/dl (0,0–0,08 mg/ml) ⁸⁴	$> 8,0$ mg/dl ($> 0,08$ mg/ml)	1.000 mg/dl (10 mg/ml)	Keine Wechselwirkung
Weißer Blutkörperchen (WBC)	0–20 Zellen/ μ l ⁸⁵	5–5.000 Zellen/ μ l ⁸¹	10.000 Zellen/ μ l	Keine Wechselwirkung
Humane Genomische DNS^c	$\leq 0,068$ ng/ μ l	≤ 17 ng/ μ l	20 ng/ μ l	Keine Wechselwirkung
Humanes Vollblut^c	Keine ^d		10 % (v/v)	Keine Wechselwirkung
Hämoglobin	Keine ^d		200 mg/dl (2 mg/ml)	Keine Wechselwirkung
Transportmedium	Getestete Konzentration			Ergebnis
Trans-Isolat (T-I) Medium	50 % (v/v)			Keine Wechselwirkung
Virales Transportmedium (VTM)	50 % (v/v)			Keine Wechselwirkung
Desinfektionsmittel	Getestete Konzentration			Ergebnis
Ethanol	7 % (v/v)			Keine Wechselwirkung

Bleiche	1 % (v/v) [570 ppm Chlorgehalt in Probe]	Wechselwirkung ^e
	0,1 % (v/v) [57 ppm Chlorgehalt]	Keine Wechselwirkung
	0,01 % (v/v) [5,7 ppm Chlorgehalt]	Keine Wechselwirkung

^a Der normale Albuminspiegel in der CSF liegt zwischen 0,0–0,27 mg/ml⁸³ oder bei etwa der Hälfte des Gesamtproteins.

^b Eine Wechselwirkung (Ein Nicht-Nachgewiesen-Ergebnis für einen oder mehrere Analyte in einer Probe) wurde nur bei Konzentrationen beobachtet, die weit über dem zu erwartenden Gesamtproteinspiegel einer CSF-Probe liegen.

^c Ein zusätzlicher Nachweis von HHV-6 wurde beobachtet. Der Nachweis dieses Virus wurde als Konsequenz einer viralen Integration vermutet oder bestätigt⁸⁶ anstatt einer unspezifischen Kreuzreaktivität oder Wechselwirkung der Substanz selbst.

^d Möglicherweise ist aufgrund eines blutigen Einstichs (Lumbalpunktion) oder einer Subarachnoidalblutung Blut (und Hämoglobin) in den CSF-Proben vorhanden.

^e Trotz einer normalen Funktionsweise der Riegel-Kontrollassays wurden keine Organismen erkannt. Weitere Untersuchungen ergaben, dass die Organismen aufgrund der durch die Bleiche hervorgerufenen Schäden (Oxidation oder sonstige) an Nukleinsäuren bei der Vorbereitung der Proben nicht erkannt wurden.

HINWEIS: Aufgrund der potenziellen Wechselwirkung von Protein und der möglichen Beschädigung der Proben durch Bleiche, sollte bei der Interpretation negativer FilmArray ME Panel-Befunde von CSF-Proben, die einen ungewöhnlich hohen Proteinspiegel (> 15 mg/ml) aufweisen, oder Proben, die vor dem Test möglicherweise Bleiche ausgesetzt waren, mit großer Vorsicht vorgegangen werden.

HINWEIS: Obwohl keine Wechselwirkung von Trägermedien mit dem FilmArray ME Panel-Test nachgewiesen wurde, ist die Verwendung des Panels mit CSF-Proben in Transportmedien nicht validiert.

Zudem wurden potenziell konkurrierende oder wechselwirkende Viren und sonstige Mikroorganismen auf ihre Wirkung auf die Leistungsfähigkeit des FilmArray ME Panels (Tabelle 26) untersucht. Präparierte Proben mit repräsentativen FilmArray ME Panel-Organismen mit Konzentrationen, die etwa 3x LoD entsprechen wurden mit hohen Konzentrationen anderer Viren, Bakterien oder Pilze aufgestockt, die vom ME Panel (kompetitive Hemmung) erkannt oder vom ME Panel (virale oder mikrobielle Störung) nicht erkannt werden. Es wurden gültige Ergebnisse erzielt und jeder der 3x LoD ME Panel-Organismen konnte in Proben mit einer hohen Konzentration zusätzlicher im Panel enthaltener oder nicht enthaltener Organismen nachgewiesen werden.

Tabelle 26. Wirkung potenziell konkurrierender oder wechselwirkender Viren und sonstiger Mikroorganismen auf das FilmArray ME Panel

Kompetitive Hemmung	Getestete Konzentration	Ergebnisse
<i>Escherichia coli</i> (K1)	1,02×10 ⁸ CFU/ml	Keine Hemmung /Wechselwirkung
Coxsackievirus A9 (Enterovirus)	2,19×10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	Keine Hemmung /Wechselwirkung
Herpes-simplex-Virus 1	1,95×10 ⁶ TCID ₅₀ /ml	Keine Hemmung /Wechselwirkung
<i>Cryptococcus neoformans</i>	8,10×10 ⁵ CFU/ml	Keine Hemmung /Wechselwirkung
Virale oder Mikrobielle Störung	Getestete Konzentration	Ergebnisse
Epstein-Barr-Virus	1,64×10 ⁹ TCID ₅₀ /ml	Keine Wechselwirkung
Influenza A H1N1-2009	2,45×10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	Keine Wechselwirkung
<i>Propionibacterium acnes</i>	1,12×10 ⁷ Zellen/ml	Keine Wechselwirkung
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,95×10 ⁷ CFU/ml	Keine Wechselwirkung
<i>Escherichia coli</i> (nicht K1)	1,38×10 ⁸ CFU/ml	Keine Wechselwirkung
<i>Staphylococcus aureus</i>	8,55×10 ⁶ CFU/ml	Keine Wechselwirkung
<i>Candida albicans</i>	1,01×10 ⁶ CFU/ml	Keine Wechselwirkung

LITERATURSTELLEN

1. Thigpen, M. C. *et al.* Bacterial meningitis in the United States, 1998-2007. *N. Engl. J. Med.* **364**, 2016–2025 (2011).
2. Versalovic, J. & American Society for Microbiology. *Manual of clinical microbiology*. (ASM Press, 2011).
3. Kim, B. Y., Kang, J. & Kim, K. S. Invasion processes of pathogenic Escherichia coli. *Int. J. Med. Microbiol.* **295**, 463–470 (2005).
4. Gaschignard, J. *et al.* Neonatal Bacterial Meningitis: 444 Cases in 7 Years. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **30**, 212–217 (2011).
5. Lu, C. H., Chang, W. N., Chuang, Y. C. & Chang, H. W. The prognostic factors of adult gram-negative bacillary meningitis. *J. Hosp. Infect.* **40**, 27–34 (1998).
6. Gower, D. J., Barrows, A. A., 3rd, Kelly, D. L., Jr & Pegram, S., Jr. Gram-negative bacillary meningitis in the adult: review of 39 cases. *South. Med. J.* **79**, 1499–1502 (1986).
7. Agrawal, A. & Murphy, T. F. Haemophilus influenzae infections in the H. influenzae type b conjugate vaccine era. *J. Clin. Microbiol.* **49**, 3728–3732 (2011).
8. Ladhani, S. *et al.* Invasive Haemophilus influenzae Disease, Europe, 1996-2006. *Emerging Infect. Dis.* **16**, 455–463 (2010).
9. Brouwer, M. C., van de Beek, D., Heckenberg, S. G. B., Spanjaard, L. & de Gans, J. Community-acquired Haemophilus influenzae meningitis in adults. *Clin. Microbiol. Infect.* **13**, 439–442 (2007).
10. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. (Elsevier).
11. Wing, E. J. & Gregory, S. H. Listeria monocytogenes: clinical and experimental update. *J. Infect. Dis.* **185 Suppl 1**, S18–24 (2002).
12. Disson, O. & Lecuit, M. Targeting of the central nervous system by Listeria monocytogenes. *Virulence* **3**, 213–221 (2012).
13. Vázquez-Boland, J. A. *et al.* Listeria pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clin. Microbiol. Rev.* **14**, 584–640 (2001).
14. World Health Organization. Meningococcal meningitis fact sheet, February, 2015. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs141/en/>
15. Munro, R. Meningococcal disease: treatable but still terrifying. *Intern Med J* **32**, 165–169 (2002).
16. Pollard, A. J., Nadel, S., Ninis, N., Faust, S. N. & Levin, M. Emergency management of meningococcal disease: eight years on. *Arch. Dis. Child.* **92**, 283–286 (2007).
17. Cohn, A. C. *et al.* Prevention and control of meningococcal disease: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* **62**, 1–28 (2013).
18. McIntyre, P. B., O'Brien, K. L., Greenwood, B. & van de Beek, D. Effect of vaccines on bacterial meningitis worldwide. *Lancet* **380**, 1703–1711 (2012).
19. Andersen, J., Christensen, R. & Hertel, J. Clinical features and epidemiology of septicaemia and meningitis in neonates due to Streptococcus agalactiae in Copenhagen County, Denmark: a 10 year survey from 1992 to 2001. *Acta Paediatr.* **93**, 1334–1339 (2004).

20. Verani, J. R., McGee, L., Schrag, S. J. & Division of Bacterial Diseases, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of perinatal group B streptococcal disease--revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR Recomm Rep* **59**, 1–36 (2010).
21. Schrag, S. J. *et al.* Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *N. Engl. J. Med.* **342**, 15–20 (2000).
22. Rodriguez-Granger, J. *et al.* Prevention of group B streptococcal neonatal disease revisited. The DEVANI European project. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **31**, 2097–2104 (2012).
23. Heath, P. T. *et al.* Group B streptococcal disease in UK and Irish infants younger than 90 days. *Lancet* **363**, 292–294 (2004).
24. Dunne, D. W. & Quagliarello, V. Group B streptococcal meningitis in adults. *Medicine (Baltimore)* **72**, 1–10 (1993).
25. Domingo, P. *et al.* Group B streptococcal meningitis in adults: report of twelve cases and review. *Clin. Infect. Dis.* **25**, 1180–1187 (1997).
26. Brouwer, M. C., Tunkel, A. R. & van de Beek, D. Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis. *Clin. Microbiol. Rev.* **23**, 467–492 (2010).
27. Scarborough, M. *et al.* Corticosteroids for bacterial meningitis in adults in sub-Saharan Africa. *N. Engl. J. Med.* **357**, 2441–2450 (2007).
28. Baraff, L. J., Lee, S. I. & Schriger, D. L. Outcomes of bacterial meningitis in children: a meta-analysis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **12**, 389–394 (1993).
29. Østergaard, C., Konradsen, H. B. & Samuelsson, S. Clinical presentation and prognostic factors of *Streptococcus pneumoniae* meningitis according to the focus of infection. *BMC Infect. Dis.* **5**, 93 (2005).
30. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine and 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine among children aged 6-18 years with immunocompromising conditions: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **62**, 521–524 (2013).
31. Musher, D. M. How effective is vaccination in preventing pneumococcal disease? *Infect. Dis. Clin. North Am.* **27**, 229–241 (2013).
32. Kothari, A., Ramachandran, V. G., Gupta, P., Singh, B. & Talwar, V. Seroprevalence of cytomegalovirus among voluntary blood donors in Delhi, India. *J Health Popul Nutr* **20**, 348–351 (2002).
33. Staras, S. A. S. *et al.* Seroprevalence of cytomegalovirus infection in the United States, 1988-1994. *Clin. Infect. Dis.* **43**, 1143–1151 (2006).
34. Rafailidis, P. I., Mourtzoukou, E. G., Varbobitis, I. C. & Falagas, M. E. Severe cytomegalovirus infection in apparently immunocompetent patients: a systematic review. *Virology* **5**, 47 (2008).
35. Drew, W. L. Cytomegalovirus Disease in the Highly Active Antiretroviral Therapy Era. *Curr Infect Dis Rep* **5**, 257–265 (2003).
36. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Nonpolio enterovirus and human parechovirus surveillance --- United States, 2006-2008. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **59**, 1577–1580 (2010).
37. Specter, S. *Clinical virology manual*. (ASM Press, 2009).

38. Cabrerizo, M. *et al.* Molecular characterization of enteroviruses associated with neurological infections in Spain, 2008. *J. Med. Virol.* **85**, 1975–1977 (2013).
39. Slika, S., Abbas, F. & Mahfouz, R. Implementation of the Cepheid Xpert EV assay for rapid detection of enteroviral meningitis: experience of a tertiary care center and a technical review. *Genet Test Mol Biomarkers* **17**, 232–235 (2013).
40. Dupuis, M. *et al.* Molecular detection of viral causes of encephalitis and meningitis in New York State. *J. Med. Virol.* **83**, 2172–2181 (2011).
41. Xu, F. *et al.* Trends in herpes simplex virus type 1 and type 2 seroprevalence in the United States. *JAMA* **296**, 964–973 (2006).
42. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Seroprevalence of herpes simplex virus type 2 among persons aged 14-49 years--United States, 2005-2008. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **59**, 456–459 (2010).
43. Wald, C. in *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis* (eds. Arvin, A., Campadelli-Fiume, G. & Mocarski, E. al, et) (Cambridge University Press, 2007).
44. Read, S. J. & Kurtz, J. B. Laboratory diagnosis of common viral infections of the central nervous system by using a single multiplex PCR screening assay. *J. Clin. Microbiol.* **37**, 1352–1355 (1999).
45. Salahuddin, S. Z. *et al.* Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science* **234**, 596–601 (1986).
46. Braun, D. K., Dominguez, G. & Pellett, P. E. Human herpesvirus 6. *Clin. Microbiol. Rev.* **10**, 521–567 (1997).
47. Bates, M. *et al.* Predominant human herpesvirus 6 variant A infant infections in an HIV-1 endemic region of Sub-Saharan Africa. *Journal of Medical Virology* **81**, 779–789 (2009).
48. Álvarez-Lafuente, R., las Heras, V. De, Bartolomé, M., Picazo, J. J. & Arroyo, R. Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis and Human Herpesvirus 6 Active Infection. *Archives of Neurology* **61**, 1523 (2004).
49. Luppi, M., Barozzi, P., Maiorana, A., Marasca, R. & Torelli, G. Human herpesvirus 6 infection in normal human brain tissue. *J. Infect. Dis.* **169**, 943–944 (1994).
50. Hall, C. B. *et al.* Human herpesvirus-6 infection in children. A prospective study of complications and reactivation. *N. Engl. J. Med.* **331**, 432–438 (1994).
51. Chan, P. K., Ng, H. K., Hui, M. & Cheng, A. F. Prevalence and distribution of human herpesvirus 6 variants A and B in adult human brain. *J. Med. Virol.* **64**, 42–46 (2001).
52. Ogata, M. *et al.* Human Herpesvirus 6 (HHV-6) Reactivation and HHV-6 Encephalitis After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: A Multicenter, Prospective Study. *Clinical Infectious Diseases* **57**, 671–681 (2013).
53. Stanway, G., Joki-Korpela, P. & Hyypiä, T. Human parechoviruses--biology and clinical significance. *Rev. Med. Virol.* **10**, 57–69 (2000).
54. Tauriainen, S. *et al.* Human parechovirus 1 infections in young children--no association with type 1 diabetes. *J. Med. Virol.* **79**, 457–462 (2007).
55. Westerhuis, B. *et al.* Human parechovirus seroprevalence in Finland and the Netherlands. *J. Clin. Virol.* **58**, 211–215 (2013).
56. Harvala, H., Wolthers, K. C. & Simmonds, P. Parechoviruses in children: understanding a new infection. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **23**, 224–230 (2010).

57. Sharp, J. *et al.* Characteristics of young infants in whom human parechovirus, enterovirus or neither were detected in cerebrospinal fluid during sepsis evaluations. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **32**, 213–216 (2013).
58. Walters, B. *et al.* Detection of human parechovirus (HPeV)-3 in spinal fluid specimens from pediatric patients in the Chicago area. *J. Clin. Virol.* **52**, 187–191 (2011).
59. Renaud, C. *et al.* Introduction of a novel parechovirus RT-PCR clinical test in a regional medical center. *J. Clin. Virol.* **51**, 50–53 (2011).
60. Verboon-Maciolek, M. A. *et al.* Human parechovirus causes encephalitis with white matter injury in neonates. *Ann. Neurol.* **64**, 266–273 (2008).
61. Pierik, J. G., Gumbs, P. D., Fortanier, S. A., Van Steenwijk, P. C. & Postma, M. J. Epidemiological characteristics and societal burden of varicella zoster virus in the Netherlands. *BMC Infectious Diseases* **12**, 110 (2012).
62. Bonanni, P. *et al.* Varicella vaccination in Europe – taking the practical approach. *BMC Medicine* **7**, 26 (2009).
63. Dworkin, R. H. *et al.* Recommendations for the management of herpes zoster. *Clin. Infect. Dis.* **44 Suppl 1**, S1–26 (2007).
64. Thomas, S. L. & Hall, A. J. What does epidemiology tell us about risk factors for herpes zoster? *Lancet Infect Dis* **4**, 26–33 (2004).
65. Yawn, B. P. & Gildea, D. The global epidemiology of herpes zoster. *Neurology* **81**, 928–930 (2013).
66. Mainka, C., Fuss, B., Geiger, H., Höfelmayr, H. & Wolff, M. H. Characterization of viremia at different stages of varicella-zoster virus infection. *J. Med. Virol.* **56**, 91–98 (1998).
67. Schünemann, S., Mainka, C. & Wolff, M. H. Subclinical reactivation of varicella-zoster virus in immunocompromised and immunocompetent individuals. *Intervirology* **41**, 98–102 (1998).
68. Gildea, D., Mahalingam, R., Nagel, M. A., Pugazhenti, S. & Cohrs, R. J. Review: The neurobiology of varicella zoster virus infection. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **37**, 441–463 (2011).
69. Hasimoto e Souza, L. K. *et al.* Clinical and microbiological features of cryptococcal meningitis. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **46**, 343–347 (2013).
70. Marr, K. A. *Cryptococcus gattii* as an important fungal pathogen of western North America. *Expert Rev Anti Infect Ther* **10**, 637–643 (2012).
71. McCulloh, R. J. *et al.* *Cryptococcus gattii* genotype VGI infection in New England. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **30**, 1111–1114 (2011).
72. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Emergence of *Cryptococcus gattii*-- Pacific Northwest, 2004-2010. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **59**, 865–868 (2010).
73. Hagen, F. *et al.* Autochthonous and Dormant *Cryptococcus gattii* Infections in Europe. *Emerging Infectious Diseases* **18**, 1618–1624 (2012).
74. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. (2009).
75. Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline M29.
76. Adams, D. A. *et al.* Summary of Notifiable Diseases - United States, 2012. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **61**, 1–122 (2014) at <<http://www.cdc.gov/mmwr/PDF/wk/mm6153.pdf>>

77. *CIFOR Analysis of State Legal Authorities*. at <<http://www.cifor.us/>>
78. Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions; NCCLS Approved Guideline. (2006).
79. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; NCCLS Approved Guideline. (2008).
80. Jaton, K., Ninet, B., Bille, J. & Greub, G. False-Negative PCR Result Due to Gene Polymorphism: the Example of *Neisseria meningitidis*. *Journal of Clinical Microbiology* **48**, 4590–4591 (2010).
81. Braunwald, E. *Principles of Internal Medicine*. (2001).
82. Solomon, T., Hart, I. J. & Beeching, N. J. Viral encephalitis: a clinician's guide. *Practical Neurology* **7**, 288–305 (2007).
83. R A Komorowski, S G Farmer, G A Hanson, and L L Hause. Cerebrospinal fluid lactic acid in diagnosis of meningitis. *J Clin Microbiol.* **8**, 89–92 (1978).
84. SFIN - Clinical: Cerebrospinal Fluid (CSF) IgG Index. at <<http://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/8009>>
85. Seehusen, D. A., Reeves, M. M. & Fomin, D. A. Cerebrospinal fluid analysis. *Am Fam Physician* **68**, 1103–1108 (2003).
86. Morissette, G. & Flamand, L. Herpesviruses and Chromosomal Integration. *Journal of Virology* **84**, 12100–12109 (2010).

GARANTIEINFORMATIONEN

Informationen zur Produktgarantie sind online einsehbar unter:

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

Garantieinformationen für Kunden außerhalb der Vereinigten Staaten erhalten Sie bei einem bioMérieux-Verkaufsvertreter vor Ort oder bei einem autorisierten Händler.



A BIOMÉRIEUX COMPANY

*Weitere Informationen zu unseren Produkten
und Anwendungen erhalten Sie von der
BioFire Diagnostics Kundendienstabteilung, dem
lokalen bioMérieux-Vertreter oder einem
autorisierten Vertragshändler.*