

Xpert[®] MTB/RIF

REF GXMTB/RIF-10
REF GXMTB/RIF-50

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid.
Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THIS PACKAGE INSERT. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

Copyright © 2011-2023 Cepheid. All rights reserved.

Oświadczenia o znakach towarowych, patentach i prawach autorskich

Cepheid[®], logo Cepheid, GeneXpert[®] i Xpert[®] są znakami towarowymi firmy Cepheid.
Windows[®] jest znakiem towarowym firmy Microsoft Corporation.

NABYWCA TEGO PRODUKTU UZYSKUJE NIEZBYWALNE PRAWO DO UŻYWANIA TEGO PRODUKTU ZGODNIE Z NINIEJSZĄ ULOTKĄ INFORMACYJNĄ. NABYWCA NIE UZYSKUJE ŻADNYCH INNYCH PRAW W SPOSÓB WYRAŹNY, DOROZUMIANY LUB PRZEZ ESTOPPEL. PONADTO NABYWCA TEGO PRODUKTU NIE UZYSKUJE ŻADNYCH PRAW DO ODSPRZEDAŻY TEGO PRODUKTU.

Copyright © 2011-2023 Cepheid. Wszelkie prawa zastrzeżone.



Cepheid AB
Röntegenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Tel.: + 46 8 6843 7000
Faks: + 46 8 6843 7010

Centrum wsparcia klienta: TechSupport@cepheid.com

Xpert® MTB/RIF

Wyrób medyczny do diagnostyki *in vitro*

Nazwa zastrzeżona

Xpert® MTB/RIF Assay

Nazwa powszechna

Test Xpert MTB/RIF

A. Przeznaczenie

Xpert MTB/RIF, wykonywany na aparatach GeneXpert® firmy Cepheid, to test diagnostyczny *in vitro* wykorzystujący reakcję nested real-time PCR do ilościowego wykrywania:

- DNA kompleksu *Mycobacterium tuberculosis* w próbkach płwociny lub próbkach stężonego osadu przygotowanych z płwociny wywołanej lub wykrztusnej, które w rozmazach mają wynik dodatni lub ujemny pod kątem kwasooporności bakterii (AFB)
- mutacji genu *rpoB* powiązanych z opornością na ryfampicynę w próbkach pobranych od pacjentów, u których występuje ryzyko oporności na ryfampicynę

Test Xpert MTB/RIF jest przeznaczony do stosowania z próbkami pobranymi od nieleczonych pacjentów, w przypadku których istnieje kliniczne podejrzenie gruźlicy (TB). Stosowanie testu Xpert MTB/RIF do wykrywania bakterii *M. tuberculosis* (Mtb) lub badania wrażliwości na ryfampicynę nie zostało zatwierdzone w przypadku pacjentów leczonych pod kątem gruźlicy.

B. Podsumowanie i objaśnienie

Na całym świecie około 2 miliardów ludzi jest zakażonych bakterią Mtb.¹ Każdego roku u prawie 9 milionów ludzi rozwija się aktywna choroba, a 2 miliony ludzi umiera z powodu choroby. Aktywne zakażenie Mtb, które ma głównie charakter płucny, jest wysoce zakaźną chorobą przenoszoną drogą kropelkową. Z uwagi na zakaźny charakter Mtb szybka i dokładna diagnoza jest ważnym elementem leczenia i kontrolowania Mtb.

Leczenie obejmuje długotrwałe podawanie wielu leków i jest zazwyczaj bardzo skuteczne. Szczepy Mtb mogą jednak stać się odporne na co najmniej jeden z leków, co utrudnia leczenie. Do czterech powszechnych leków pierwszoliniowych używanych w leczeniu przeciwgruźliczym należą:

- izoniazyd (INH)
- ryfampicyna (zwana również rifampicyną, RIF)
- etambutol (EMB)
- pirazynamid (PZA)

Oporność na RIF jest rzadko spotykana niezależnie i zazwyczaj oznacza oporność na kilka innych leków przeciwgruźliczych.² Oporność na RIF najczęściej występuje w szczepach wielolekoopornych (MDR-TB) i według zgłoszeń w takich izolatach występuje z częstotliwością większą niż 95%.^{3,4,5} MDR-TB jest zdefiniowana jako gruźlica spowodowana szczepem bakterii opornym na co najmniej INH i RIF. Oporność na RIF lub inne leki pierwszoliniowe zazwyczaj oznacza konieczność wykonania pełnych badań wrażliwości, również pod kątem leków drugoliniowych.

Wykrywanie molekularne Mtb i mutacji genu *rpoB* powiązanych z opornością na RIF skraca czas do postawienia diagnozy zarówno w przypadku gruźlicy wrażliwej na leki, jak i gruźlicy wielolekoopornej (MDR-TB). Stosując test Xpert MTB/RIF, wyniki można uzyskać z użyciem próbek świeżej płwociny lub próbek przygotowanego osadu w czasie krótszym niż 2,5 godziny. Szybkie wykrywanie obecności Mtb i oporności na RIF umożliwia lekarzowi podejmowanie krytycznych decyzji dotyczących opieki nad pacjentem w zakresie leczenia podczas jednej wizyty medycznej.

C. Zasada procedury

Aparaty GeneXpert automatyzują i integrują przetwarzanie próbki, amplifikowanie kwasu nukleinowego i wykrywanie sekwencji docelowych w próbkach prostych lub złożonych przy pomocy reakcji real-time PCR i PCR z odwrotną transkryptazą. System składa się z aparatu, komputera, skanera kodów kreskowych oraz wstępnie zainstalowanego oprogramowania umożliwiających wykonywanie badań pobranych próbek i wyświetlanie wyników. System wymaga stosowania jednorazowych kartridży GeneXpert, które zawierają odczynniki do reakcji PCR oraz w których odbywa się reakcja PCR. Ponieważ kartridże są samowystarczalne, ryzyko zanieczyszczenia krzyżowego między próbkami jest wyeliminowane. Pełny opis systemów można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx* lub *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Infinity*.

Test Xpert MTB/RIF zawiera odczynniki umożliwiające wykrywanie obecności Mtb i oporności na RIF, a także kontrolę przetwarzania próbki (SPC) umożliwiającą kontrolowanie prawidłowości przetwarzania bakterii docelowych oraz monitorowanie obecności inhibitorów reakcji PCR. Kontrola sondy (PCC) weryfikuje nawadnianie odczynników, napełnienie próbki do PCR w kartridżu, integralność sondy i stabilność barwnika.

Startery w teście Xpert MTB/RIF amplifikują fragment genu *rpoB* zawierający region podstawowy z 81 parami bazowymi. Sondy umożliwiają rozróżnienie sekwencji zakonserwowanych typu dzikiego i mutacji w regionie podstawowym, które są powiązane z opornością na RIF.

D. Odczynniki i aparaty

D.1 Materiały dostarczone



Zestaw testu Xpert MTB/RIF (GXMTB/RIF-10) zawiera odczynniki w ilości wystarczającej do przetworzenia 10 próbek pacjentów lub próbek kontroli jakości, a zestaw testu Xpert MTB/RIF (GXMTB/RIF-50) zawiera odczynniki w ilości wystarczającej do przetworzenia 50 próbek pacjentów lub próbek kontroli jakości. Zestawy testu Xpert MTB/RIF zawierają następujące elementy:

Kartridże testu Xpert MTB/RIF ze zintegrowanymi komorami reakcyjnymi	10 na zestaw	50 na zestaw
• Kulka 1 i kulka 2 (liofilizowane)	Po 2 na kartridż	Po 2 na kartridż
• Kulka 3 (liofilizowana)	1 na kartridż	1 na kartridż
• Odczynnik 1	4,0 ml na kartridż	4,0 ml na kartridż
• Odczynnik 2	4,0 ml na kartridż	4,0 ml na kartridż
Butelki z odczynnikiem do próbek	10 na zestaw	50 na zestaw
• Odczynnik do próbek (SR) <ul style="list-style-type: none"> • Wodorotlenek sodu • Izopropanol 	8 ml na butelkę	8 ml na butelkę
Jednorazowe pipety transferowe	12 na zestaw	60 na zestaw
Płyta CD	1 na zestaw	1 na zestaw
• Plik definicji testu (ADF)		
• Instrukcja importowania pliku ADF do oprogramowania		
• Instrukcja użycia (ulotka informacyjna)		

Uwaga Odczynnik do próbek (SR) może mieć zabarwienie od bezbarwnego poprzez żółte do bursztynowego. Z czasem kolor może się stać bardziej intensywny, ale nie ma wpływu na skuteczność.

Uwaga Karty charakterystyki substancji niebezpiecznej (SDS) są dostępne na stronie internetowej www.cepheid.com lub www.cepheidinternational.com na karcie **WSPARCIE (SUPPORT)**.

Uwaga Albumina surowicy bydłowej (BSA) zawarta w kulkach w tym produkcie została uzyskana i wytworzona wyłącznie z osocza wołowego pochodzącego z USA. Zwierząt nie karmiono białkiem pochodzącym od przeżuwaczy ani białkiem pochodzącym od innych zwierząt; zwierzęta przebadano zarówno przed ubojem, jak i po nim. Podczas przetwarzania nie nastąpiło wymieszanie materiału z innymi materiałami pochodzącymi od zwierząt.

Uwaga Pipety transferowe mają pojedynczy znacznik wskazujący minimalną objętość przygotowanej próbki, którą należy przenieść do kartridża. Należy ich używać wyłącznie w tym celu. Wszystkie pozostałe pipety musi dostarczyć laboratorium.

D.2 Przechowywanie i obsługa



- Zawartość zestawu testu Xpert MTB/RIF należy przechowywać w temperaturze 2–28 °C.
- Nie używać odczynników lub kartridży po upływie daty ważności.
- Wieczko kartridża można otworzyć dopiero wtedy, gdy użytkownik będzie gotowy do wykonania badania.
- Po otwarciu woreczka kartridże zachowują stabilność przez maksymalnie 6 tygodni w temperaturze 2–45 °C.

E. Materiały wymagane, ale niedostarczone

- System GeneXpert Dx lub system GeneXpert Infinity (numer katalogowy zależy od konfiguracji): Aparat GeneXpert, komputer, skaner kodów kreskowych i instrukcja obsługi
 - W przypadku systemu GeneXpert Dx: Oprogramowanie w wersji 4.0 lub nowszej
 - W przypadku systemu GeneXpert Infinity-48: Oprogramowanie Xpertise w wersji 4.3 lub nowszej
 - W przypadku systemów GeneXpert Infinity-80 i Infinity-48s: Oprogramowanie Xpertise w wersji 6.0 lub nowszej
- Drukarka: jeśli wymagana jest drukarka, informacji o zakupie zalecanej drukarki udzieli przedstawiciel handlowy firmy Cepheid.
- Szczelne, sterylne pojemniki do pobierania próbek z zakręcanymi zatyczkami
- Jednorazowe rękawiczki i ochrona oczu
- Etykiety i/lub nieścieralny marker do etykiet
- Sterylne pipety do przetwarzania próbek

F. Uwagi, środki ostrożności i zagrożenia chemiczne

F.1 Ostrzeżenia i środki ostrożności




- Wszystkie próbki biologiczne, w tym użyte kartridże, należy traktować jako mogące przenosić czynniki zakaźne. Ponieważ często niemożliwe jest określenie, która z próbek biologicznych może być zakaźna, wszystkie należy obsługiwać z zachowaniem standardowych środków ostrożności. Wytyczne dotyczące obsługi próbek można uzyskać w amerykańskiej agencji Centers for Disease Control and Prevention⁶ oraz w instytucie Clinical and Laboratory Standards Institute.⁷
- Stosować jednorazowe rękawiczki ochronne, fartuchy laboratoryjne i ochronę oczu podczas obsługi próbek i odczynników. Dokładnie umyć ręce po użyciu próbek i odczynników testu.
- Przestrzegać procedur bezpieczeństwa obowiązujących w placówce w zakresie pracy z substancjami chemicznymi i obsługi próbek biologicznych.
- Nie wykazano skuteczności testu Xpert MTB/RIF pod kątem wykrywania kompleksu Mtb w próbkach innych niż z dróg oddechowych, takich jak krew, płyn mózgowo-rdzeniowy (CSF), kał lub mocz. Nie oceniono skuteczności testu Xpert MTB/RIF w przypadku próbek przetworzonych przy pomocy metod innych niż opisane w niniejszej ulotce informacyjnej.
- W przypadku jednoczesnego przetwarzania więcej niż jednej próbki należy otworzyć tylko jeden kartridż, dodać próbkę przygotowaną z użyciem odczynnika do próbek i zamknąć wieczko kartridża, a następnie przejść do następnej próbki. Zmieniać rękawiczki między próbkami.
- Nie wolno otwierać wieczka kartridża testu Xpert MTB/RIF w celu innym niż dodanie przygotowanej próbki.
- Nie używać kartridża, jeśli po wyjęciu z zestawu został on upuszczony.
- Nie używać kartridża, jeśli po dodaniu przygotowanej próbki został on upuszczony lub potrząśnięty bądź doszło do rozlania zawartości kartridża. Potrząsanie kartridżem lub jego upuszczenie po otwarciu wieczka może prowadzić do uzyskania wyników fałszywych lub nieokreślonych.
- Nie używać kartridża, jeśli wygląda na mokry lub jeśli uszczelnienie wieczka wygląda na uszkodzone.
- Nie używać kartridża, jeśli jego komora reakcyjna jest uszkodzona.
- Każdy kartridż testu Xpert MTB/RIF służy do wykonania jednego badania. Nie używać ponownie przetworzonych kartridży.
- Zapoznać się z regionalnymi/krajowymi wymaganiami dotyczącymi usuwania odpadów niebezpiecznych i medycznych. Jeśli przepisy nie zawierają jasnych wytycznych dotyczących właściwego usuwania próbek lub użytych kartridży, wówczas należy je traktować jako mogące przenosić czynniki zakaźne. Użyte kartridże należy usuwać jako odpady chemiczne niebezpieczne dla zdrowia w trwałych pojemnikach na odpady zgodnie z wytycznymi Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO) oraz wytycznymi dotyczącymi obsługi i usuwania odpadów medycznych.



F.2 Zagrożenia chemiczne^{8,9}**Odczynnik do próbek:**

Odczynnik do próbek zawiera wodorotlenek sodu (pH >12,5) i izopropanol.

- Piktogramy GHS ONZ określające rodzaj zagrożenia: 
- Hasło ostrzegawcze: NIEBEZPIECZEŃSTWO
- **Zwroty GHS ONZ wskazujące rodzaj zagrożenia**
 - Łatwopalna ciecz i pary
 - Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu
 - Powoduje poważne uszkodzenie oczu
 - Podejrzewa się, że powoduje wady genetyczne.
 - Podejrzewa się, że działa szkodliwie na płodność lub na dziecko w łonie matki.
 - Może powodować uszkodzenie narządów poprzez długotrwałe lub powtarzane narażenie
- **Zwroty GHS ONZ wskazujące środki ostrożności**
 - Zapobieganie
 - Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi środkami ostrożności.
 - Nie używać przed zapoznaniem się i zrozumieniem wszystkich środków bezpieczeństwa.
 - Przechowywać z dala od źródeł ciepła/iskżenia/otwartego ognia/gorących powierzchni. Palenie wzbronione.
 - Przechowywać pojemnik szczelnie zamknięty.
 - Nie wdychać mgły, par i/lub rozpylonej cieczy.
 - Dokładnie umyć po użyciu.
 - Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.
 - Stosować wymagane środki ochrony indywidualnej.
 - Reagowanie
 - W przypadku pożaru: Użyć odpowiednich środków do gaszenia.
 - W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: Wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić warunki do odpoczynku w pozycji umożliwiającej swobodne oddychanie.
 - Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem.
 - W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody/prysznicem.
 - Wyprać zanieczyszczoną odzież przed ponownym użyciem.
 - Zastosować określone instrukcje (patrz informacje uzupełniające dotyczące pierwszej pomocy).
 - W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.
 - W PRZYPADKU POŁKNIECIA: Wypłukać usta. NIE wywoływać wymiotów.
 - W PRZYPADKU narażenia lub styczości: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
 - W przypadku złego samopoczucia zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
 - Przechowywanie/usuwanie
 - Zawartość/pojemnik usuwać zgodnie z miejscowymi/regionalnymi/krajowymi/międzynarodowymi przepisami.

G. Pobieranie, transportowanie i przechowywanie próbek



Przy pomocy tego testu można przetwarzać ponownie zawieszony osad lub świeżą płwocinę. Informacje o odpowiedniej objętości próbki zawiera Tabela 1.

Tabela 1. Wymagana objętość próbki

Rodzaj próbki	Minimalna objętość do jednego badania	Minimalna łączna objętość do badania i powtórzenia badania
Osady płwociny	0,5 ml	1 ml
Świeża płwocina	1 ml	2 ml

Uwaga Aby uzyskać odpowiednią próbkę świeżej płwociny, należy postępować zgodnie z instrukcjami w niniejszej sekcji. Pacjent powinien siedzieć lub stać.

G.1 Przechowywanie i transport



W miarę możliwości przed przetwarzaniem transportować i przechowywać próbki w temperaturze 2–8 °C. W razie potrzeby próbki można przechowywać w temperaturze maksymalnie 35 °C przez ≤3 dni lub w temperaturze 2–8 °C przez 4–10 dni.

G.2 Procedura pobierania próbek

1. Poprosić pacjenta o dwukrotne przepłukanie ust wodą.
2. Otworzyć wieczko pojemnika do pobierania płwociny.
3. Poprosić pacjenta o wzięcie głębokiego wdechu, energiczne kasznięcie i wyplucie materiału do pojemnika. Zachować ostrożność, aby uniknąć rozlania materiału lub zanieczyszczenia powierzchni zewnętrznej pojemnika.
4. Zamknąć wieczko pojemnika do pobierania, a następnie przesłać pojemnik do obszaru przetwarzania.

H. Procedury testu

H.1 Przygotowanie osadów płwociny

Uwaga Próbki z widocznymi fragmentami żywności lub innymi cząstkami stałymi należy odrzucić.

Wymagania dotyczące objętości: Przy pomocy testu Xpert MTB/RIF można badać osady płwociny przygotowane zgodnie z metodą opracowaną przez Kent i Kubicę¹⁰ i ponownie zawieszony w buforze 67 mM fosforan/H₂O. Po ponownym zawieszeniu zachować co najmniej 0,5 ml ponownie zawieszony osadu na potrzeby testu Xpert MTB/RIF.

1. Oznaczyć wszystkie kartridże testu Xpert MTB/RIF identyfikatorem próbki. Patrz Ilustracja 1.

Uwaga Należy zapisać informacje na bocznej powierzchni kartridża lub przykleić etykiety z identyfikatorem. Nie należy przyklejać etykiety na wieczku kartridża ani na kodzie kreskowym 2D znajdującym się na kartridżu.

2. Przy pomocy sterylnej pipety przenieść co najmniej 0,5 ml łącznej ponownie zawieszony peletki do stożkowej próbówki z zakręcaną zatyczką na potrzeby testu Xpert MTB/RIF. Ewentualnie całą próbkę można przetworzyć w pierwotnej próbówce.



Uwaga Przechowywać ponownie zawieszony osady w temperaturze 2–8 °C, jeśli nie zostaną niezwłocznie przetworzone. Nie przechowywać przez czas dłuższy niż 12 godzin.

3. Przy pomocy pipety transferowej przenieść 1,5 ml odczynnika do próbek (SR) testu Xpert MTB/RIF do 0,5 ml ponownie zawieszony osadu.
4. Energicznie potrząsnąć 10–20 razy lub mieszać w wytrząsarce przez co najmniej 10 sekund.

Uwaga Jednokrotne potrząśnięcie polega na jednym ruchu w górę i w dół.

5. Inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej, a następnie energicznie potrząsnąć próbkę 10–20 razy lub mieszać w wytrząsarce przez co najmniej 10 sekund.
6. Inkubować próbkę w temperaturze pokojowej przez dodatkowe 5 minut.

H.2 Przygotowanie próbki płwociny wykrztuśnej

Uwaga Próbki z widocznymi fragmentami żywności lub innymi cząstkami stałymi należy odrzucić.

1. Oznaczyć wszystkie kartridże testu Xpert MTB/RIF identyfikatorem próbki. Patrz Ilustracja 1.

Uwaga Należy zapisać informacje na bocznej powierzchni kartridża lub przykleić etykietę z identyfikatorem. Nie należy przyklejać etykiety na wieczku kartridża ani na kodzie kreskowym 2D znajdującym się na kartridżu.



Ilustracja 1. Zapisywanie informacji na kartridżu przy pomocy markera permanentnego

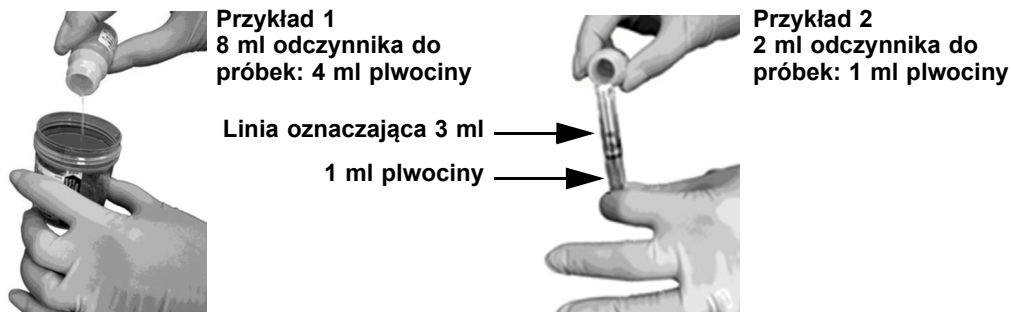
2. W szczelnym pojemniku do pobierania płwociny:
 - A. Ostrożnie otworzyć wieczko pojemnika do pobierania płwociny.



Ilustracja 2. Otwieranie pojemnika do pobierania

- B. Przebrać do płwociny około 2-krotną objętość odczynnika do próbek (rozcieńczenie 2 części odczynnika do próbek (SR) na 1 część płwociny).

Uwaga Wyrzucić pozostałość odczynnika do próbek i butelkę do pojemnika na odpady chemiczne.



Ilustracja 3. Przykłady rozcieńczeń 2:1

- C. Ponownie nałożyć i przymocować wieczko.
- D. Energicznie potrząsnąć 10–20 razy lub mieszać w wytrząsarce przez co najmniej 10 sekund.

Uwaga Jednokrotne potrząśnięcie polega na jednym ruchu w górę i w dół.

3. Inkubować próbkę przez 10 minut w temperaturze pokojowej, a następnie energicznie potrząsnąć próbkę 10–20 razy lub mieszać w wyrząsarce przez co najmniej 10 sekund.
4. Inkubować próbkę w temperaturze pokojowej przez dodatkowe 5 minut.

H.3 Przygotowywanie kartridża

Uwaga

W przypadku używania systemu GeneXpert Dx należy rozpocząć badanie w ciągu 4 godzin od momentu dodania próbki do kartridża. W przypadku używania systemu GeneXpert Infinity należy rozpocząć badanie i umieścić kartridż na przenośniku w ciągu 30 minut od momentu dodania do kartridża próbki przygotowanej z użyciem odczynnika do próbek. Oprogramowanie Xpertise monitoruje pozostały okres trwałości, tak aby badania zostały wykonane przed upływem czterogodzinnego okresu trwałości w urządzeniu.

1. Otworzyć wieczko kartridża, a następnie otworzyć pojemnik zawierający próbkę.
2. Przy pomocy dostarczonej pipety transferowej zaaspirować upłynnioną próbkę, tak aby jej objętość była równa ze wskazaniem linii na pipecie. Nie poddawać próbki dalszemu przetwarzaniu, jeśli jej objętość jest niewystarczająca. Patrz Ilustracja 4.



Ilustracja 4. Aspirowanie do linii na pipecie

3. Przenieść próbkę do komory na próbkę kartridża testu Xpert MTB/RIF. Próbkę należy przenieść powoli, tak aby ograniczyć ryzyko powstania aerozolu. Patrz Ilustracja 5.



Ilustracja 5. Przenoszenie odkażonej, upłynnionej próbki do komory na próbkę kartridża

4. Mocno zamknąć wieczko kartridża.

Ważne

W przypadku używania systemu GeneXpert Dx należy załadować kartridż do aparatu i rozpocząć badanie w ciągu 4 godzin od momentu przygotowania kartridża. W przypadku używania systemu GeneXpert Infinity należy rozpocząć badanie i umieścić kartridż na przenośniku w ciągu 30 minut od momentu dodania do kartridża próbki przygotowanej z użyciem odczynnika do próbek. Oprogramowanie Xpertise monitoruje pozostały okres trwałości, tak aby badania zostały wykonane przed upływem czterogodzinnego okresu trwałości w urządzeniu.

H.4 Rozpoczynanie badania

Ważne

Należy się upewnić, że plik definicji testu (ADF) Xpert MTB/RIF został zaimportowany do oprogramowania. Niniejsza sekcja zawiera opis podstawowych kroków umożliwiających wykonanie badania. Szczegółowe instrukcje można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx* lub *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Infinity*.

Uwaga

Wykonywane czynności mogą być inne, jeśli administrator systemu zmienił domyślny cykl pracy.

1. Włączyć aparat GeneXpert:
 - W przypadku używania aparatu GeneXpert Dx najpierw włączyć aparat, a następnie włączyć komputer. Oprogramowanie GeneXpert zostanie uruchomione automatycznie lub może wymagać dwukrotnego kliknięcia ikony skrótu oprogramowania GeneXpert Dx na pulpicie systemu Windows®.

lub

 - W przypadku używania aparatu GeneXpert Infinity, włączyć aparat. Oprogramowanie GeneXpert zostanie uruchomione automatycznie lub może wymagać dwukrotnego kliknięcia ikony skrótu oprogramowania Xpertise na pulpicie systemu Windows.
2. Zalogować się do oprogramowania aparatu GeneXpert, podając nazwę użytkownika i hasło.
3. W oknie systemu GeneXpert Dx kliknąć **Nowe badanie (Create Test)** (GeneXpert Dx) lub kliknąć **Zlecenia (Orders)** i **Zleć badanie (Order Test)** (Infinity). Zostanie wyświetlone okno Nowe badanie (Create Test).
4. Zeskanować lub wpisać Identyfikator pacjenta (Patient ID). W przypadku wpisywania Identyfikatora pacjenta (Patient ID) upewnić się, że Identyfikator pacjenta (Patient ID) jest wpisany poprawnie. Identyfikator pacjenta (Patient ID) jest powiązany z wynikami badania i wyświetlany w oknie Wyświetlanie wyników (View Results) oraz na wszystkich raportach.
5. Zeskanować lub wpisać Identyfikator próbki (Sample ID). W przypadku wpisywania Identyfikatora próbki (Sample ID) upewnić się, że Identyfikator próbki (Sample ID) jest wpisany poprawnie. Identyfikator próbki (Sample ID) jest powiązany z wynikami badania i wyświetlany w oknie Wyświetlanie wyników (View Results) oraz na wszystkich raportach.
6. Zeskanować kod kreskowy na kartridżu testu Xpert MTB/RIF. Na podstawie informacji zawartych w kodzie kreskowym oprogramowanie automatycznie wypełni następujące pola: Wybór testu (Select Assay), Identyfikator serii odczynników (Reagent Lot ID), Numer seryjny kartridża (Cartridge SN) i Data ważności (Expiration Date).
7. Kliknąć **Rozpocznij badanie (Start Test)** (GeneXpert Dx) lub **Prześlij (Submit)** (Infinity). W razie potrzeby wpisać hasło w wyświetlonym oknie dialogowym.
8. W przypadku systemu GeneXpert Infinity umieścić kartridż na taśmie transportowej. Kartridż zostanie załadowany automatycznie, rozpocznie się badanie, a użyty kartridż zostanie umieszczony w pojemniku na odpady.

lub

W przypadku aparatu GeneXpert Dx:
 - A. Otworzyć drzwiczki modułu aparatu z migającą zieloną kontrolką i załadować kartridż.
 - B. Zamknąć drzwiczki. Badanie zostanie rozpoczęte, a zielona kontrolka przestanie migać. Po zakończeniu badania kontrolka przestanie świecić.
 - C. Poczekać, aż system zwolni blokadę drzwiczek, a następnie otworzyć drzwiczki modułu i wyjąć kartridż.
 - D. Wyrzucić użyte kartridże do odpowiedniego pojemnika na odpady, zgodnie ze standardową praktyką obowiązującą w placówce.

H.5 Wyrzucanie zużytych kartridży

1. Wyrzucić użyte kartridże do sztywnego pojemnika na odpady stanowiącego zagrożenie biologiczne, zgodnie ze standardową praktyką obowiązującą w placówce. Patrz Ilustracja 6.



Ilustracja 6. Poprawne wyrzucanie użytych kartridży

2. Nie spalać użytych kartridży. Patrz Ilustracja 7.



Ilustracja 7. Nie spalać użytych kartridży

3. Nie wyrzucać użytych kartridży na wyspiskach śmieci. Patrz Ilustracja 8.



Ilustracja 8. Nie wyrzucać użytych kartridży na wyspiskach śmieci

H.6 Wyświetlanie i drukowanie wyników

Niniejsza sekcja zawiera opis podstawowych kroków umożliwiających wyświetlanie i drukowanie wyników. Szczegółowe instrukcje dotyczące wyświetlania i drukowania wyników można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx* lub *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Infinity*, w zależności od używanego modelu.

Uwaga

W przypadku raportowania wyników z użyciem systemu LIS należy się upewnić, że wyniki w systemie LIS są zgodne z wynikami w aparacie dla identyfikatora pacjenta; jeśli wyniki nie są zgodne, wówczas należy raportować wyłącznie wyniki w aparacie.

1. Kliknąć ikonę **Wyświetl wyniki (View Results)**, aby wyświetlić wyniki.
2. Po zakończeniu badania kliknąć przycisk **Raport (Report)** w oknie Wyświetlanie wyników (View Results), aby wyświetlić i/lub utworzyć plik PDF z raportem.

I. Kontrola jakości

CONTROL

Każdy test zawiera kontrolę przetwarzania próbki (SPC) oraz kontrolę sondy (PCC).

SPC: Pozwala się upewnić, że próbkę przetworzono prawidłowo. Kontrola SPC zawiera niezakaźne przetrwalniki w postaci suchej masy przetrwalnikowej, która jest umieszczona w każdym kartridżu i umożliwia weryfikację prawidłowości przetwarzania bakterii Mtb. Kontrola SPC weryfikuje, czy w przypadku obecności drobnoustrojów nastąpiła liza kompleksu Mtb oraz czy przetwarzanie próbki jest prawidłowe. Ponadto ta kontrola wykrywa hamowanie reakcji real-time PCR związane z próbką.

Wynik kontroli SPC powinien być dodatni w próbce ujemnej i może być ujemny lub dodatni w próbce dodatniej. Kontrola SPC zakończy się powodzeniem, jeśli spełni zatwierdzone kryteria akceptacji. Wynik badania będzie miał wartość **NIEWAŻNY (INVALID)**, jeśli kontrola SPC nie zostanie wykryta w próbce ujemnej.

PCC: Przed rozpoczęciem reakcji PCR aparat GeneXpert mierzy sygnał fluorescencji z sond w celu monitorowania nawadniania kulek, napełnienia komory reakcyjnej, integralności sondy i stabilności barwnika. Kontrola PCC zakończy się powodzeniem, jeśli spełni zatwierdzone kryteria akceptacji.

J. Interpretacja wyników

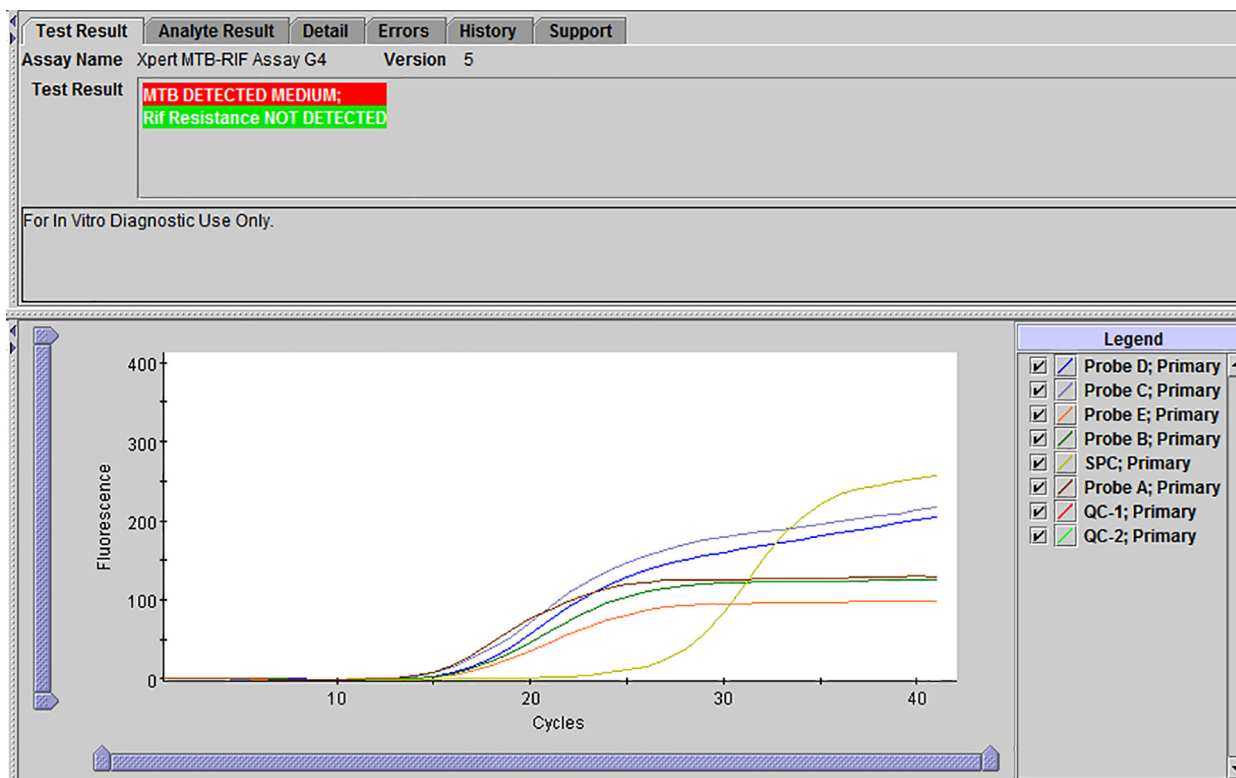
Aparat GeneXpert oblicza wyniki na podstawie zmierzonych sygnałów fluorescencji i wbudowanych algorytmów obliczeniowych. Wyniki są widoczne w oknie Wyświetlanie wyników (View Results). Ilustracja 9, Ilustracja 10 i Ilustracja 11 przedstawiają szczegółowe przykłady, a Tabela 2 zawiera listę wszystkich możliwych wyników.

Tabela 2. Wyniki testu Xpert MTB/RIF i ich interpretacja

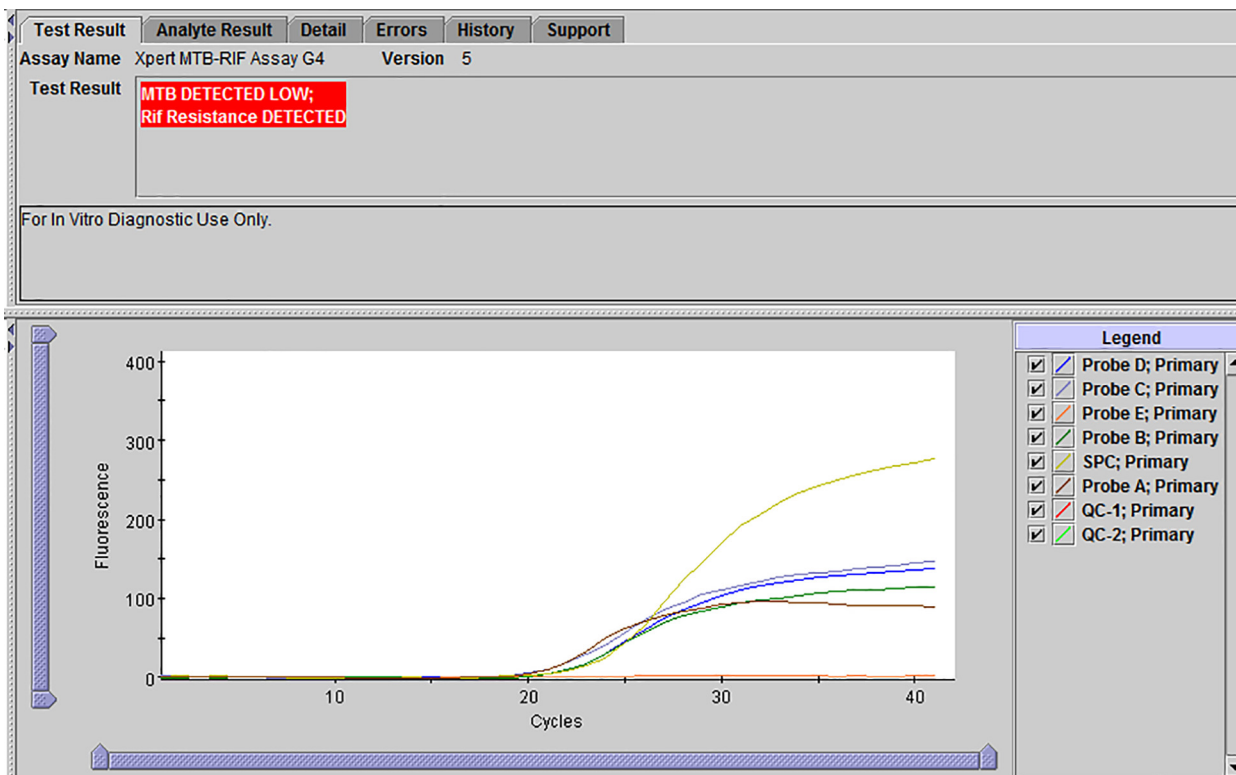
Wynik	Interpretacja
WYKRYTO ŚREDNIE STĘŻENIE PRĄTKÓW GRUŻLICY (MTB DETECTED MEDIUM); NIE WYKRYTO OPORNOŚCI NA RIF (RIF Resistance NOT DETECTED) Patrz Ilustracja 9.	Sekwencja docelowa bakterii Mtb została wykryta w próbce: <ul style="list-style-type: none"> • Nie została wykryta mutacja genu rpoB. • SPC: NIE DOTYCZY (NA). Sygnał kontroli SPC nie jest wymagany, ponieważ amplifikacja bakterii Mtb może konkurować z tą kontrolą. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS). Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.
WYKRYTO NISKIE STĘŻENIE PRĄTKÓW GRUŻLICY (MTB DETECTED LOW); WYKRYTO OPORNOŚĆ NA RIF (RIF Resistance DETECTED) Patrz Ilustracja 10.	Sekwencja docelowa bakterii Mtb została wykryta w próbce: <ul style="list-style-type: none"> • Została wykryta mutacja genu rpoB, która mieści się w prawidłowym ustawieniu delta Ct. • SPC: NIE DOTYCZY (NA). Sygnał kontroli SPC nie jest wymagany, ponieważ amplifikacja bakterii Mtb może konkurować z tą kontrolą. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS). Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.

Tabela 2. Wyniki testu Xpert MTB/RIF i ich interpretacja

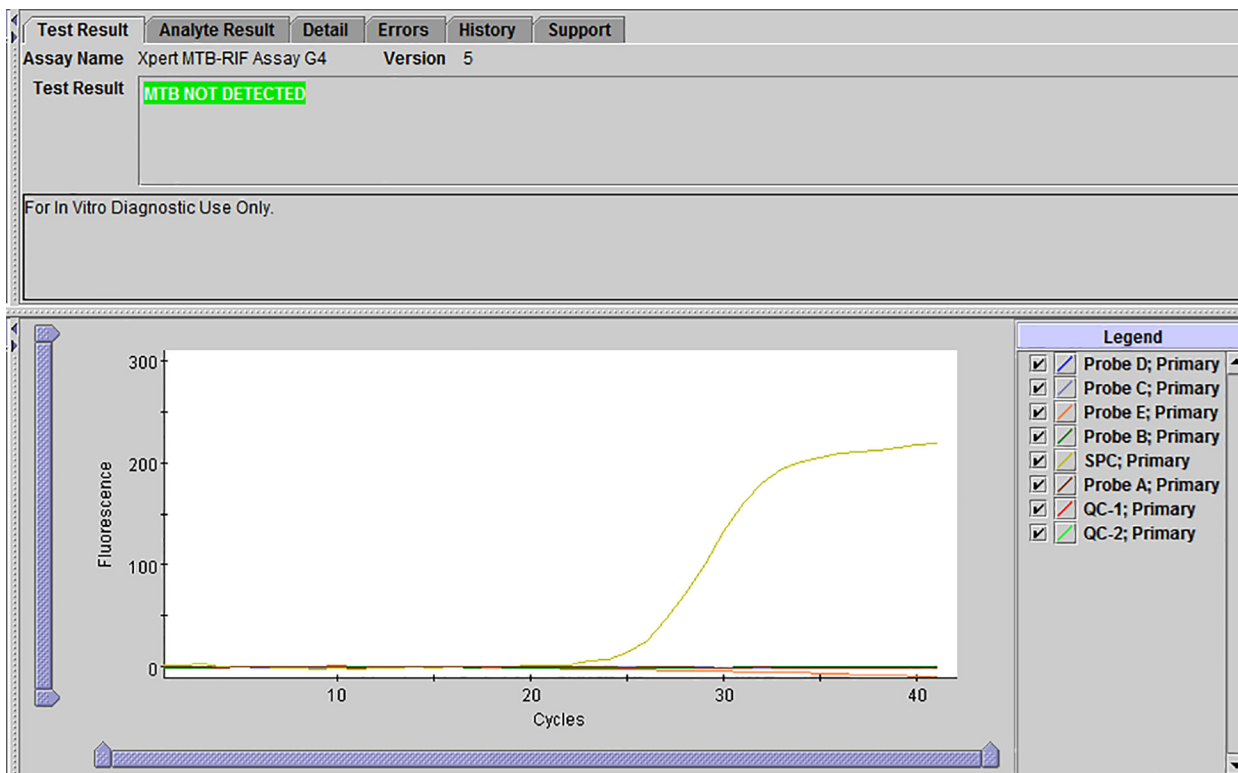
Wynik	Interpretacja
WYKRYTO PRĄTKI GRUŻLICY (MTB DETECTED); OPORNOŚĆ NA RIF NIEOKREŚLONA (RIF Resistance INDETERMINATE)	Sekwencja docelowa bakterii Mtb została wykryta w próbce: <ul style="list-style-type: none"> • Nie można określić oporności na RIF z powodu wykrycia niewystarczającego sygnału. • SPC: NIE DOTYCZY (NA). Sygnał kontroli SPC nie jest wymagany, ponieważ amplifikacja bakterii Mtb może konkurować z tą kontrolą. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS). Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.
NIE WYKRYTO PRĄTKÓW GRUŻLICY (MTB NOT DETECTED) Patrz Ilustracja 11.	Sekwencja docelowa bakterii Mtb nie została wykryta w próbce: <ul style="list-style-type: none"> • SPC: POWODZENIE (PASS). Kontrola SPC spełniła kryteria akceptacji. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS). Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.
NIEWAŻNY (INVALID)	Nie można określić obecności ani nieobecności bakterii Mtb. Kontrola SPC nie spełniła kryteriów akceptacji, próbka nie została poprawnie przetworzona lub nastąpiło zahamowanie reakcji PCR. Powtórzyć badanie. Patrz Sekcja J.2, Procedura powtórzenia badania. <ul style="list-style-type: none"> • Mtb: NIEWAŻNY (INVALID). Nie można określić obecności ani nieobecności DNA bakterii Mtb. • SPC: NIEPOWODZENIE (FAIL). Wynik badania pod kątem sekwencji docelowej bakterii Mtb jest ujemny, a wartość Ct kontroli SPC nie mieści się w prawidłowym zakresie. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS). Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.
BŁĄD (ERROR)	Nie można określić obecności ani nieobecności bakterii Mtb. Powtórzyć badanie. Patrz Sekcja J.2, Procedura powtórzenia badania. <ul style="list-style-type: none"> • Mtb: BRAK WYNIKU (NO RESULT) • SPC: BRAK WYNIKU (NO RESULT) • Kontrola sondy: NIEPOWODZENIE (FAIL). Wszystkie lub jeden wynik kontroli sondy był nieprawidłowy. Uwaga: Jeśli kontrola sondy zakończyła się powodzeniem, błąd został spowodowany awarią elementu systemu.
BRAK WYNIKU (NO RESULT)	Nie można określić obecności ani nieobecności bakterii Mtb. Powtórzyć badanie. Patrz Sekcja J.2, Procedura powtórzenia badania. BRAK WYNIKU (NO RESULT) oznacza, że zgromadzono niewystarczające dane. Taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzymał badanie będące w toku. <ul style="list-style-type: none"> • Mtb: BRAK WYNIKU (NO RESULT) • SPC: BRAK WYNIKU (NO RESULT) • Kontrola sondy: NIE DOTYCZY (NA)



Ilustracja 9. WYKRYTO ŚREDNIE STĘŻENIE PRĄTKÓW GRUŻLICY; NIE WYKRYTO OPORNOŚCI NA RIF — szczegółowy widok użytkownika w systemie GeneXpert Dx



Ilustracja 10. WYKRYTO NISKIE STĘŻENIE PRĄTKÓW GRUŻLICY; WYKRYTO OPORNOŚĆ NA RIF — szczegółowy widok użytkownika w systemie GeneXpert Dx



**Ilustracja 11. NIE WYKRYTO PRĄTKÓW GRUŻLICY —
szczegółowy widok użytkownika w systemie GeneXpert Dx**

J.1 Sytuacje, w których należy powtórzyć badanie

W przypadku wystąpienia jednego z poniższych wyników badania należy powtórzyć badanie z użyciem nowego kartridża:

- Wynik **NIEWAŻNY (INVALID)** oznacza, że kontrola SPC się nie powiodła. Próbka nie została poprawnie przetworzona lub nastąpiło zahamowanie reakcji PCR.
- Wynik **BŁĄD (ERROR)** oznacza niepowodzenie kontroli PCC i przerwanie badania prawdopodobnie spowodowane niewłaściwym napełnieniem komory reakcyjnej, wykryciem błędu dotyczącego integralności sondy odczynnika, przekroczeniem wartości granicznej ciśnienia maksymalnego lub awarią modułu aparatu GeneXpert.
- **BRAK WYNIKU (NO RESULT)** oznacza, że zgromadzono niewystarczające dane. Taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzymał badanie będące w toku.

J.2 Procedura powtórzenia badania

W przypadku pozostałości świeżej płwociny lub odtworzonego osadu należy zawsze używać nowego odczynnika do próbek w celu odkażenia i upłynnienia płwociny przed wykonaniem badania. Patrz Sekcja H.1, Przygotowanie osadów płwociny lub Sekcja H.2, Przygotowanie próbki płwociny wykrztuśnej.

Jeśli pozostałość próbki przygotowanej z użyciem odczynnika do próbek jest wystarczająca i nie upłynęły jeszcze 4 godziny od momentu dodania do próbki odczynnika do próbek, wówczas można użyć pozostałości próbki do przygotowania i przetworzenia nowego kartridża. W przypadku powtarzania badania zawsze należy użyć nowego kartridża. Patrz Sekcja H.3, Przygotowywanie kartridża.

Uwaga W przypadku używania aparatu Infinity badania należy powtarzać w modułach oznaczonych jako zarezerwowane moduły STAT.

K. Ograniczenia

Skuteczność testu Xpert MTB/RIF zatwierdzono przy pomocy procedur opisanych w niniejszej ulotce informacyjnej. Modyfikowanie tych procedur może wpłynąć na skuteczność testu. Wyniki testu Xpert MTB/RIF należy interpretować z uwzględnieniem innych danych laboratoryjnych i klinicznych dostępnych dla klinicysty.

Ponieważ wykrycie bakterii Mtb zależy od stężenia drobnoustrojów w próbce, wiarygodne wyniki zależą od odpowiedniego pobierania, obsługi i przechowywania próbek. Błędne wyniki badania mogą być spowodowane niewłaściwym pobraniem, obsługą lub przechowywaniem próbki, nieprzestrzeganiem zalecanej procedury pobierania próbek, błędem technicznym, wymieszaniem próbek bądź niewystarczającym stężeniem materiału początkowego. Uważne przestrzeganie instrukcji zawartych w niniejszej ulotce informacyjnej pozwoli uniknąć uzyskania błędnych wyników.

Wynik dodatni badania niekoniecznie oznacza obecność żywych drobnoustrojów. Zakłada się jednak obecność bakterii Mtb i oporność na RIF.

Wyniki badania mogą zależeć od poprzedzającej lub równoległej terapii antybiotykowej. Dlatego przy pomocy tego testu nie można ocenić powodzenia ani niepowodzenia terapeutycznego, ponieważ DNA może być obecne po terapii przeciwbakteryjnej.

Mutacje lub polimorfizmy w regionach łączących startera lub sondy mogą wpływać na wykrywanie nowych lub nieznanymi szczepów MDR-MTB lub szczepów opornych na RIF, co może prowadzić do uzyskania wyniku fałszywie ujemnego.

Półilościowe wyniki **WYKRYTO NISKI POZIOM PRĄTKÓW GRUŻLICY (MTB DETECTED LOW)** lub **WYKRYTO BARDZO NISKI POZIOM PRĄTKÓW GRUŻLICY (MTB DETECTED VERY LOW)** z wynikiem **WYKRYTO oporność na ryfampicynę (RIF Resistance DETECTED)** mogą wymagać potwierdzenia wyników oporności na ryfampicynę za pomocą testu DST lub innej metody, zwłaszcza w sytuacji, gdy występuje niskie podejrzenie gruźlicy MDR.

L. Charakterystyka robocza

Niniejsza sekcja zawiera opis charakterystyki roboczej i ograniczeń testu Xpert MTB/RIF.

L.1 Testy skuteczności klinicznej

Charakterystykę roboczą testu Xpert MTB/RIF pod kątem wykrywania gruźlicy i ryfampicyny oceniono w pięciu ośrodkach w Azji, Europie, Afryce i Ameryce Południowej.¹¹

Badanie wykonano zgodnie z protokołem Fundacji na Rzecz Nowych Innowacyjnych Metod Diagnostycznych (Foundation for Innovative New Diagnostics, FIND) *Xpert MTB Evaluation Study: Evaluation of the FIND/Cepheid Xpert MTB assay for the detection of pulmonary TB in sputum of symptomatic adults* (Badanie oceniające test Xpert MTB: ocena testu FIND/Cepheid Xpert MTB pod kątem wykrywania bakterii gruźlicy płucnej w próbkach płwociny pobranych od osób dorosłych z objawami).

Uczestnikami były osoby z objawami gruźlicy płucnej, u których występowało ryzyko wielolekooporności. Od zakwalifikowanych uczestników uzyskano trzy próbki płwociny w celu wykonania testów Xpert MTB/RIF oraz testów referencyjnych.

Skuteczność testu Xpert MTB/RIF porównano z:

- wynikami badań mikroskopowych rozmazów ZN¹²
- wynikami hodowli płynnych (Becton Dickinson BACTEC™ 960 MGIT™) i stałych (Löwenstein-Jenson)¹³
- wynikami badań wrażliwości na leki (DST) na podłożu z użyciem metody proporcji L-J lub na podłożu MGIT obejmujących co najmniej cztery leki pierwszoliniowe¹⁴
- wynikami standardowych testów NAAT (Gen-Probe Amplified Mycobacterium TB Direct Test i Roche AMPLICOR® MTB Test), jeśli były wykonywane

Badano próbki płwociny pobrane do badań rutynowych od pacjentów z podejrzeniem zakażenia gruźlicą, u których występowało ryzyko wielolekoopornego szczepu gruźlicy.

L.2 Wyniki ogólne

Łącznie 1448 próbek płwociny przebadano pod kątem obecności Mtb i oporności na RIF przy pomocy testu Xpert MTB/RIF, badań mikroskopowych rozmazów i hodowli bakterii. Próbki w trzech ośrodkach biorących udział w badaniu oceniono również z użyciem albo testu AMPLICOR MTB Test (UCT, RPA i Indie), albo testu Amplified Mycobacterium TB Direct Test (Azerbejdżan). Spośród 1448 uczestników 563 miało wynik dodatni w rozmazie i hodowli pod kątem gruźlicy (S+C+), 170 miało wynik ujemny w rozmazie i wynik dodatni w hodowli pod kątem gruźlicy (S-C+), a u 618 wykluczono obecność gruźlicy. W przypadku pozostałych 97 pacjentów, leczonych przeciwko gruźlicy na podstawie objawów klinicznych, nastąpiła poprawa w wyniku leczenia przeciwko gruźlicy, jednak próbek od tych pacjentów nie badano przy pomocy badań mikroskopowych rozmazów ani hodowli; ci pacjenci nie zostali uwzględnieni w analizach danych przedstawionych w tabelach.

L.3 Wyniki wykrywania Mtb

Ogólnie, biorąc pod uwagę łączne wyniki dla trzech próbek płwociny na pacjenta, w przypadku próbek z wynikiem dodatnim w hodowli test Xpert MTB/RIF wykazał czułość na poziomie 97,3% (713/733). W przypadku pacjentów z wynikiem S+C+ czułość testu Xpert MTB/RIF wyniosła 99,5% (560/563); w przypadku pacjentów z wynikiem S-C+ czułość wyniosła 90,0% (153/170). Swoistość testu Xpert MTB/RIF w przypadku pacjentów bez zakażenia gruźlicą wyniosła 97,9% (605/618). Patrz Tabela 3.

Tabela 3. Skuteczność testu Xpert MTB/RIF w przypadku próbek płwociny^{a,b}

Ośrodek	Czułość S+C+	Czułość S-C+	Swoistość
Peru	100% (199/199) [98,1%-100%]	83,3% (10/12) [55,2%-95,3%]	100% (102/102) [96,4%-100%]
Azerbejdżan	100% (76/76) [95,2%-100%]	92,3% (60/65) [83,2%-96,7%]	95,8% (69/72) [88,5%-98,6%]
RPA-1	99,0% (95/96) [94,3%-99,8%]	90,4% (47/52) [79,4%-95,8%]	98,4% (186/189) [95,4%-99,5%]
RPA-2	100% (30/30) [88,6%-100%]	86,7% (13/15) [62,1%-96,3%]	97,3% (213/219) [94,2%-98,7%]
Indie	98,8% (160/162) [95,6%-99,7%]	88,5% (23/26) [71,0%-96,0%]	97,2% (35/36) [85,8%-99,5%]
Ogółem	99,5% (560/563) [98,4%-99,8%]	90,0% (153/170) [84,6%-93,7%]	97,9% (605/618) [96,4%-98,8%]

a. Przedstawia wyniki 3 testów Xpert, 3 rozmazów i 4 hodowli.

b. S = rozmaz; C = hodowla

Biorąc pod uwagę tylko jedną próbkę nieprzetworzonej płwociny, czułość testu Xpert MTB/RIF wyniosła 97,8% (545/557) w przypadku pacjentów S+C+ i 73,1% (122/167) w przypadku pacjentów S-C+. Swoistość wyniosła 99,0% (605/611) w przypadku pacjentów bez zakażenia gruźlicą.

L.4 Oporność na RIF

Ogólnie, biorąc pod uwagę łączne wyniki dla trzech próbek płwociny na pacjenta, w przypadku pacjentów z fenotypową opornością na RIF test Xpert MTB/RIF wykazał czułość pod kątem wykrywania oporności na RIF na poziomie 96,1% (195/203). Swoistość testu Xpert MTB/RIF w przypadku pacjentów z fenotypową wrażliwością na RIF wyniosła 98,6% (502/509). Patrz Tabela 4.

Tabela 4. Skuteczność testu Xpert MTB/RIF w przypadku próbek płwociny^a

Ośrodek	Czułość w przypadkach opornych na RIF	Czułość w przypadkach wrażliwych na RIF
Peru	100% (16/16) [80,6%-100%]	98,4% (190/193) [95,5%-99,5%]
Azerbejdżan	95,5% (42/44) [84,9%-98,7%]	98,9% (90/91) [94,0%-99,8%]
RPA-1	93,8% (15/16) [71,7%-98,9%]	100% (126/126) [97,0%-100%]
RPA-2	100% (3/3) [43,8%-100%]	100% (38/38) [90,8%-100%]
Indie	96,0% (119/124) [90,9%-98,3%]	95,1% (58/61) [86,5%-98,3%]
Ogółem	96,1% (195/203) [92,4%-98,0%]	98,6% (502/509) [97,2%-99,3%]

a. Przedstawia wyniki 3 testów Xpert, 3 rozmazów i 4 hodowli.

Biorąc pod uwagę tylko jedną próbkę nieprzetworzonej płwociny, czułość testu Xpert MTB/RIF pod kątem wykrywania oporności na RIF wyniosła 97,2% (141/145) w przypadku pacjentów z opornością na RIF. Swoistość w przypadkach wrażliwych na RIF wyniosła 98,3% (412/419). Patrz Tabela 5.

Tabela 5. Skuteczność testu Xpert MTB/RIF w przypadku próbek płwociny^a

Ośrodek	Czułość w przypadkach opornych na RIF	Czułość w przypadkach wrażliwych na RIF
Peru	100% (16/16) [80,6%-100%]	98,4% (180/183) [95,3%-99,4%]
Azerbejdżan	97,4% (38/39) [86,8%-99,5%]	98,7% (74/75) [92,8%-99,8%]
RPA-1	90,9% (10/11) [62,3%-98,4%]	98,1% (102/104) [93,3%-99,5%]
RPA-2	100% (1/1) [20,7%-100%]	100% (23/23) [85,7%-100%]
Indie	97,4% (76/78) [91,1%-99,3%]	97,1% (33/34) [85,1%-99,5%]
Ogółem	97,2% (141/145) [93,1%-98,9%]	98,3% (412/419) [96,6%-99,2%]

a. Przedstawia wyniki 1 bezpośredniego testu Xpert, 3 rozmazów i 4 hodowli.

Wyniki testów Xpert MTB/RIF dla próbek z tych ośrodków, w których test NAAT był również wykonywany, przedstawia Tabela 6. Wyniki testów NAAT przedstawiono dla porównania.

Tabela 6. Porównanie skuteczności testu Xpert MTB/RIF i alternatywnego testu NAAT w przypadku próbek płuciny

Statystyka	Test ^a	Azerbejdżan	RPA-1	Indie	Ogółem
Czułość S+C+	Xpert(3)	100% (76/76) [95,2%-100%]	99,0% (95/96) [94,3%-99,8%]	98,8% (160/162) [95,6%-99,7%]	99,1% (331/334) [97,4%-99,8%]
	Xpert(1)	97,3% (73/75) [90,8%-99,3%]	96,8% (92/95) [91,1%-98,9%]	98,8% (159/161) [95,6%-99,7%]	97,9% (324/331) [95,7%-99,2%]
	NAAT	100% (76/76) [95,2%-100%]	93,7% (89/95) [86,9%-97,1%]	94,2% (147/156) [89,4%-96,9%]	95,4% (312/327) [92,3%-97,4%]
Czułość S-C+	Xpert(3)	92,3% (60/65) [83,2%-96,7%]	90,4% (47/52) [79,4%-95,8%]	88,5% (23/26) [71,0%-96,0%]	90,9% (130/143) [85,0%-95,1%]
	Xpert(1)	68,8% (44/64) [56,6%-78,8%]	86,3% (44/51) [74,3%-93,2%]	69,2% (18/26) [50,0%-83,5%]	75,2% (106/141) [67,2%-82,1%]
	NAAT	66,2% (43/65) [54,0%-76,5%]	45,7% (16/35) [30,5%-61,8%]	72,0% (18/25) [52,4%-85,7%]	61,6% (77/125) [52,5%-70,2%]
Swoistość	Xpert(3)	95,8% (69/72) [88,5%-98,6%]	98,4% (186/189) [95,4%-99,5%]	97,2% (35/36) [85,8%-99,5%]	97,6% (290/297) [95,2%-99,1%]
	Xpert(1)	97,2% (69/71) [90,3%-99,2%]	99,5% (185/186) [97,0%-99,9%]	100% (35/35) [90,1%-100%]	99,0% (289/292) [97,0%-99,8%]
	NAAT	95,8% (69/72) [88,5%-98,6%]	100% (187/187) [98,0%-100%]	100% (36/36) [90,4%-100%]	99,0% (292/295) [97,1%-99,8%]

a. Xpert(3) = wyniki 3 testów Xpert, 3 rozmazów i 4 hodowli; Xpert(1) = wyniki 1 bezpośredniego testu Xpert, 3 rozmazów i 4 hodowli; NAAT = ProbeTec (Azerbejdżan) i AMPLICOR (RPA i Indie); wynik „graniczny” testu NAAT traktowany jako ujemny.

Spśród testów Xpert MTB/RIF wykonanych w ramach tego badania 96,5% (4327/4484) zakończyło się powodzeniem przy pierwszej próbie. Pozostałe 157 próbek miało przy pierwszej próbie wyniki nieokreślone. Sto osiem ze 157 próbek miało prawidłowe wyniki po powtórzeniu badań. Ogólny wskaźnik powodzenia testu wyniósł 98,9% (4435/4484).

L.5 Substancje interferujące

Przeprowadzono badanie w celu określenia potencjalnego działania hamującego substancji mogących się znajdować w próbkach płuciny przetwarzanych przy pomocy testu Xpert MTB/RIF. Należą do nich między innymi: krew, ropa, komórki ssaków i hemoglobina. Te substancje badano w stężeniu wynoszącym 5% końcowego stężenia próbki (krew, ropa, komórki ssaków) lub 0,2% końcowego stężenia próbki (hemoglobina) w celu określenia ich wpływu, jeśli taki występuje, na skuteczność testu Xpert MTB/RIF. Każdą substancję dodano do próbki zawierającej komórki docelowe BCG w stężeniu wynoszącym około 5-krotności granicy wykrywalności (LoD) oraz badano w dwóch kopiach.

W przypadku żadnej z powyższych potencjalnie interferujących substancji nie zaobserwowano działania hamującego.

L.6 Czulość analityczna

Przeprowadzono dodatkowe badania w celu określenia 95% przedziału ufności dla analitycznej granicy wykrywalności (LoD) tego testu. Granica wykrywalności jest zdefiniowana jako najmniejsza liczba jednostek tworzących kolonie (CFU) na próbkę, która w sposób odtwarzalny może być odróżniona od próbek ujemnych z ufnością na poziomie 95%. Analityczną granicę wykrywalności określono poprzez przebadanie 20 powtórzeń różnych stężeń komórek bakterii *M. tuberculosis* dodanych do klinicznych próbek ujemnych płwociny. W warunkach badania wyniki wskazują, że szacunkowa wartość punktu granicy wykrywalności dla bakterii *M. tuberculosis* wynosi 131 CFU/ml przy 95% przedziale ufności w zakresie od 106,2 CFU do 176,4 CFU. Wartość szacunkowa i poziomy ufności określono przy pomocy regresji logistycznej z użyciem danych (liczba wyników dodatnich na liczbę badań na każdym poziomie) uzyskanych dla różnych stężeń.

Przedziały ufności określono na podstawie szacunków maksymalnego prawdopodobieństwa z użyciem parametrów modelu logistycznego i macierzy wariancji-kowariancji w dużej próbie.

L.7 Swoistość analityczna (wyłączność)

Hodowle 18 szczepów prątków niegruźliczych, NTM (dawniej MOTT), badano przy pomocy testu Xpert MTB/RIF. Co najmniej dwa powtórzenia każdego izolatu dodano do ujemnych próbek płwociny i badano w stężeniu wynoszącym 10^6 CFU/ml. Patrz Tabela 7.

Tabela 7. Szczepy bakterii NTM badane pod kątem swoistości

Badane szczepy bakterii NTM (10^6 CFU/ml)			
1	<i>M. avium</i> , SmT Mc2, 2500	10	<i>M. genevenses</i> , #51233
2	<i>M. avium</i> , SmD Mc2, 2501	11	<i>M. xenopi</i> , #2278
3	<i>M. intracellulare</i> , #35790	12	<i>M. szulgai</i> , Cap E9-1997
4	<i>M. intracellulare</i> , #35771	13	<i>M. celatum</i> , #51131
5	<i>M. kansasii</i> , #12478	14	<i>M. marinum</i> , Cap E10
6	<i>M. scrofulaceum</i> , Cap E5-1985	15	<i>M. simiae</i> , #25275
7	<i>M. malmoense</i> , #29571	16	<i>M. asiaticum</i> , E1-1985
8	<i>M. fortuitum</i> , #35754	17	<i>M. thermoresistable</i> , e22-1985
9	<i>M. chelonae</i> , #35749	18	<i>M. flavescens</i> , PoH 193D

W warunkach badania wszystkie izolaty prątków NTM zostały zgłoszone z wynikiem ujemnym pod kątem Mtb.

Ponadto w celu określenia, czy wysokie stężenia prątków NTM mogą zakłócać wykrywanie niskich poziomów prętka gruźlicy, szczepy, które zawiera Tabela 7, wymieszano ze szczepem H37Rv prętka gruźlicy w płwocinie, tak aby uzyskać stężenie docelowe wynoszące 10^6 CFU/ml dla prątków NTM i 200 CFU/ml dla szczepu H37Rv.

Do szczepów NTM badanych pod kątem zakłócania wykrywania prętka gruźlicy należały:

- *M. avium*, SmT Mc2, 2500
- *M. avium*, SmD Mc2, 2501
- *M. intracellulare*, #35790
- *M. intracellulare*, #35771
- *M. kansasii*, #12478
- *M. malmoense*, #29571

Pięć z sześciu szczepów nie zakłócało wykrywania bakterii *M. tuberculosis* w stężeniu 200 CFU/ml; sygnały były takie same, jak przy badaniu samego szczepu H37Rv. Szósty, *M. malmoense*, spowodował słabą interferencję przy stężeniu 10^6 CFU/ml, ale nie spowodował żadnej interferencji przy stężeniu 10^5 CFU/ml lub niższej. Dlatego nie wystąpiła żadna interferencja w wykrywaniu bakterii *M. tuberculosis* nawet przy stężeniu 10^5 CFU/ml prątków NTM.

Drobnoustroje inne niż prątki ($n = 59$) reprezentujące szeroki zakres patogenów, powszechne substancje zanieczyszczające i mikroflorę zwykle obecną w płwocinie lub w jamie ustnej badano w stężeniu wynoszącym 10^6 kopii DNA na końcową objętość reakcyjną. Wszystkie drobnoustroje zostały poprawnie zidentyfikowane przez test Xpert MTB/RIF jako ujemne pod kątem bakterii Mtb. W badaniu uwzględniono kontrole dodatnie i ujemne. Swoistość wyniosła 100%.

L.8 Gatunki/szczepy badane pod kątem swoistości

Tabela 8 przedstawia gatunki i szczepy badane pod kątem swoistości.

Tabela 8. Gatunki/szczepy badane pod kątem swoistości

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Haemophilus parahemolyticus</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Actinomyces meyeri</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Staphylococcus capitis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Listeria grayi</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus equi</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Neisseria lactamica</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Escherichia coli</i> (szczep typu 2)	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Escherichia coli</i> O157H7 (szczep typu 1)	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	

L.9 Reaktywność analityczna (inkluzywność)

Próbki DNA z łącznie 79 szczepów bakterii Mtb badano w aparacie GeneXpert z użyciem protokołu Xpert MTB/RIF zmodyfikowanym pod kątem badania DNA. Końcowe składniki reakcji i warunki cykli PCR nie uległy zmianie w porównaniu z protokołem opracowanym pod kątem badania próbek pacjentów. Siedemdziesiąt szczepów pochodziło z kolekcji WHO/TDR, a 9 z kolekcji laboratorium Uniwersytetu Medyczno-Stomatologicznego New Jersey (University of Medicine and Dentistry of New Jersey, UMDNJ). Łącznie te szczepy stanowią izolaty z 31 krajów i obejmowały 37 izolatów opornych na RIF zawierających 13 unikatowych mutacji regionu podstawowego genu *rpoB*. Obejmują one wszystkie unikatowe mutacje genu *rpoB* znajdujące się w bazie danych TDR. Do reakcji ujemnych jako próbki użyto wody.

Końcowa mieszanina reakcyjna zawierała 90 kopii genomu izolatów w 100 µl łącznej objętości.

Tabela 9 zawiera dane wskazujące, że test Xpert MTB/RIF poprawnie wykrył wszystkie szczepy bakterii Mtb i poprawnie zidentyfikował izolaty odporne na RIF.

Tabela 9. Wykrywanie szczepów bakterii Mtb i izolatów opornych na RIF

		Wynik GeneXpert			
		Dodatni pod kątem Mtb (MTB Positive)		Ujemny pod kątem Mtb (MTB Negative)	
		Wykryto RIF (RIF Detected)	Nie wykryto RIF (RIF Not Detected)		
Piśmiennictwo	Mtb +	Oporność na RIF	37	0	0
		Wrażliwość na RIF	0	42	0
	Mtb –		0	0	52

L.10 Analityczna dezaktywacja prątków w próbkach płwociny

Właściwości dezynfekujące odczynnika do próbek testu Xpert MTB/RIF określono z użyciem standaryzowanej metody hodowli ilościowej pod kątem działania tuberkulobójczego.¹⁵ Do próbek płwociny dodano wysokie stężenie żywotnych bakterii *M. bovis*, wymieszanych z odczynnikami do próbek w stosunku 2:1, a następnie inkubowano je przez 15 minut. Po inkubacji mieszanina odczynnika do próbek i płwociny została zneutralizowana poprzez rozcieńczenie i filtrację, a następnie poddana hodowli. Żywotność bakterii *M. bovis* w próbkach przetworzonej płwociny uległa redukcji o co najmniej 6 log w porównaniu z nieprzetworzoną kontrolą.

Każde laboratorium musi określić właściwości dezynfekujące odczynnika do próbek z użyciem własnych standaryzowanych metod i musi przestrzegać zalecanych przepisów dotyczących bezpieczeństwa biologicznego.

M. Piśmiennictwo

1. WHO report 2008. http://www.who.int/tb/publications/global_report/2008
2. Anti-tuberculosis resistance in the world: fourth global report. WHO/HTM/TB/2008.394
3. Morris SL, Bai G, Suffys P, Portillo-Gomez L, Fairchok M, Rouse D. *Molecular mechanisms of multidrug resistance in clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis*. J Infect Dis 1995; 171:954-60.
4. Ashok Rattan, Awdhesh Kalia, and Nishat Ahmad. *Multidrug-Resistant Mycobacterium tuberculosis: Molecular Perspectives*, Emerging Infectious Diseases, Vol.4 No.2, <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no2/rattan.htm>
5. Francis J. Curry National Tuberculosis Center and California Department of Public Health, 2008: *Drug-Resistant Tuberculosis, A Survival Guide for Clinicians*, Second Edition.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
8. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpart Z).
10. Kent PT, Kubica GP 1985. Public Health Mycobacteriology—*A Guide for Level III Laboratory*, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546.
11. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, et al. *Rapid Molecular Detection of Tuberculosis and Rifampin Resistance*. N Engl J Med 2010;363:1005-15.
12. Laboratory Services in Tuberculosis Control: Part II, Microscopy WHO/TB/98.258; p 1-61.
13. Laboratory Services in Tuberculosis control: Part III Culture. WHO/TB/98.258. p 1- 74.
14. NCCLS, Susceptibility testing of Mycobacteria, Nocardia, and other Aerobic Actinomycetes: Approved Standard. NCCLS document M24-A (ISBN 1- 56238-500-3). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 – 1898, USA. 2003.
15. Banada, P. et al. Containment of Bioaerosol Infection Risk by the Xpert MTB/RIF Assay and Its Applicability to Point-of-Care Settings. Journal of Clinical Microbiology. 2010. 48:10. 3551-3557.

N. Lokalizacja siedziby głównej firmy Cepheid

Siedziba główna firmy

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Stany Zjednoczone
Telefon: + 1 408 541 4191
Faks: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Siedziba główna w Europie

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francja
Telefon: + 33 563 825 300
Faks: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

O. Pomoc techniczna

Przed skontaktowaniem się z Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid, zbierz następujące informacje:

- Nazwa produktu
- Numer serii
- Numer seryjny aparatu
- Komunikaty o błędach (jeśli występują)
- Wersja oprogramowania i numer znacznika serwisowego komputera (w odpowiednim przypadku)





















Informacje kontaktowe

Stany Zjednoczone
Telefon: + 1 888 838 3222
Email: techsupport@cepheid.com

Francja
Telefon: + 33 563 825 319
Email: support@cepheideurope.com

Dane kontaktowe wszystkich Centrów wsparcia klienta firmy Cepheid są dostępne na naszej stronie:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

P. Tabela symboli

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Oznaczenie CE — zgodność z wymogami UE
	Nie używać ponownie
	Kod serii
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Przeostoga
	Producent
	Kraj produkcji
	Zawiera ilość wystarczającą do wykonania <n> badań
	Kontrola
	Data ważności
	Zakres temperatury
	Zagrozenie biologiczne
	Łatwopalne ciecze
	Działanie żrące na skórę
	Działanie szkodliwe na rozrodczość i na narządy
	Uwaga
	Upoważniony przedstawiciel w Szwajcarii
	Importer



Cepheid AB
Röntegenvägen 5
SE-171 54 Solna
Szwecja
Tel.: + 46 8 6843 7000
Faks: + 46 8 6843 7010



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



