

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

REF GXMTB/RIF-ULTRA-10

REF GXMTB/RIF-ULTRA-50

Upute za upotrebu



Izjave o zaštitnom znaku, patentima i vlasničkim pravima

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, and Xpert® are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2017–2025 Cepheid.

Cepheid®, logotip Cepheid, GeneXpert® i Xpert® žigovi su društva Cepheid registrirani u SAD-u i drugim državama.

Svi ostali žigovi vlasništvo su pripadnih vlasnika.

KUPNJOM OVOG PROIZVODA KUPCU SE DODJELJUJE NEPRENOSIVO PRAVO NA NJEGOVU UPOTREBU U SKLADU S OVIM UPUTAMA ZA UPOTREBU. NIKAKVA SE DRUGA PRAVA NE DODJELJUJU IZRIČITO, IMPLICITNO ILI PREKLIZIJOM. NADALJE, KUPNJOM OVOG PROIZVODA NE DODJELJUJU SE NIKAKVA PRAVA NA PREPRODAJU.

© 2017 – 2024. Cepheid.

Pogledajte Odjeljak 21, Povijest revizija za opis promjena.

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu

1 Zaštićeni naziv

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

2 Uobičajeni ili ustaljeni naziv

Xpert MTB/RIF Ultra

3 Namjena

Test Xpert MTB/RIF Ultra, koji se provodi na instrumentu GeneXpert[®] Instrument Systems polukvantitativni je, ugniježđeni *in vitro* dijagnostički test lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu (PCR) za otkrivanje kompleksa DNK bakterije *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) u neobrađenim uzorcima iskašljaja ili koncentriranim sedimentima pripremljenima iz inducirano ili ekspektoriranog iskašljaja. U uzorcima u kojima je otkriven kompleks bakterije *Mycobacterium tuberculosis* test Xpert MTB/RIF Ultra može otkriti i mutacije koje se povezuju s otpornosti na rifampin gena *rpoB*.

Test Xpert MTB/RIF Ultra namijenjen je za upotrebu s uzorcima od bolesnika kod kojih postoji klinička sumnja u tuberkulozu (TB) i koji ne primaju antituberkuloznu terapiju ili su je primali manje od tri dana u proteklih šest mjeseci. Ovaj je test namijenjen kao pomoć u dijagnozi plućne tuberkuloze kad se upotrebljava zajedno s kliničkim i ostalim laboratorijskim nalazima.

4 Sažetak i objašnjenje

Globalno, oko 1,7 milijardu ljudi zaraženo je MTB-om.¹ U 2018. godini 10,0 milijuna ljudi razvilo je aktivnu bolest, a 1,45 milijuna ljudi izgubilo je život zbog te bolesti.² Put prijenosa plućnog TB-a je putem zraka, što ovu bolest čini vrlo prenosivom. S obzirom na zaraznu prirodu plućnog TB-a, brza i precizna dijagnoza važan je element u liječenju i kontroli TB-a.

Liječenje uključuje produljeno davanje više lijekova i obično je vrlo učinkovito. No sojevi bakterije *M. tuberculosis* mogu postati otporni na jedan ili više lijekova, što otežava postizanje izlječenja. Četiri česta lijeka prvog izbora koja se koriste u antituberkuloznoj terapiji su izoniazid (INH), rifampin (poznat i kao rifampicin, RIF), etambutol (EMB) i pirazinamid (PZA). Kako je dokumentirala Svjetska zdravstvena organizacija (World Health Organization, WHO), otpornost na RIF rijetko se susreće samostalno te obično ukazuje na otpornost na brojne druge antituberkulotske lijekove.³ Najčešće se opažava kod multirezistentnih sojeva (MDR-TB) (koji se definiraju kao oni otporni i na RIF i na INH) te ima prijavljenu učestalost veću od 95 % u takvim izolatima.^{4,5,6} Otpornost na RIF ili ostale lijekove prvog izbora obično ukazuje na potrebu za cjelokupnim testiranjem osjetljivosti, uključujući testiranje na agense drugog izbora.

Molekularno otkrivanje mutacija gena TB i *rpoB* koje se povezuju s otpornosti na RIF značajno smanjuje vrijeme do dijagnoze tuberkuloze osjetljive na lijekove i multirezistentne tuberkuloze (MDR). Pomoću testa Xpert MTB/RIF Ultra to se može postići u uzorcima neobrađenog iskašljaja te u pripremljenim sedimentima za manje od 80 minuta. Brzo otkrivanje MTB-a i otpornosti na RIF omogućuje liječniku donošenje ključnih odluka o postupanju s bolesnikom po pitanju terapije tijekom jednog posjeta liječniku.

5 Načelo postupka

GeneXpert Instrument Systems integriraju i automatiziraju obradu uzorka, amplifikaciju nukleinske kiseline te otkrivanje ciljnih sekvenci u jednostavnim ili složenim uzorcima pomoću testova lančane reakcije polimerazom (PCR) u stvarnom vremenu i otkrivanja vrhunca taljenja. Sustav se sastoji od instrumenta, osobnog računala, čitača crtičnih kodova i unaprijed instaliranog softvera za pokretanje testova na uzorcima bolesnika i pregled rezultata. Sa sustavima je potrebno upotrebljavati jednokratne uloške GeneXpert koji primaju PCR reagens i provode postupak PCR. Budući da su ulošci autonomni, križna kontaminacija između uzoraka svedena je na minimum. Za potpuni opis sustava proučite *GeneXpert Dx System Operator Manual*, *GeneXpert Edge System User's Guide* ili *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Test Xpert MTB/RIF Ultra uključuje reagens za otkrivanje MTB-a i otpornosti na RIF te kontrolu obrade uzorka (SPC) za kontrolu odgovarajuće obrade ciljnih bakterija i praćenje prisutnosti inhibitora u reakciji PCR i naknadno otkrivanje vrhunca taljenja. Kontrola provjere sonde (PCC) provjerava rehidraciju reagensa, napunjenost epruvete za PCR u ulošku, cjelovitost sonde i stabilnost boje.

Početak u testu Xpert MTB/RIF Ultra provode amplifikaciju dijela gena *rpoB* koji sadrži „jezgrenu” regiju s 81 baznim parom i dijelove višestrukih kopija ciljnih sekvenci elemenata za umetanje *IS1081* i *IS6110*. Analiza taljenja pomoću četiri sonde *rpoB* u stanju je razlikovati sačuvanu sekvencu divljeg tipa od mutacija u jezgrenoj regiji koje se povezuju s otpornosti na RIF. Dvije sonde s elementima za umetanje poboljšavaju otkrivanje kompleksa bakterije *Mycobacterium tuberculosis* zbog višestrukih kopija ciljnih sekvenci elemenata za umetanje u većini sojeva TB-a.

6 Reagensi i instrumenti

6.1 Isporučeni materijali

Kompleti testa Xpert MTB/RIF Ultra sadrže dovoljno reagensa za obradu 10 ili 50 uzoraka. Kompleti sadrže sljedeće:

Xpert MTB/RIF Ultra Uloške s ugrađenim reakcijskim epruvetama	10 po kompletu	50 po kompletu
- Kuglicu 1 i kuglicu 2 (osušene zamrzavanjem) - Kuglicu 3 (osušenu zamrzavanjem) - Reagens 1 - Reagens 2	2 od svake po ulošku po 1 od svake po ulošku 4 ml po ulošku 4 ml po ulošku	2 od svake po ulošku po 1 od svake po ulošku 4 ml po ulošku 4 ml po ulošku
Bočice s reagensom za uzorak	10	50
Reagens za uzorak	8 ml po bočici	8 ml po bočici
Jednokratne prijenosne pipete	12 po kompletu	60 po kompletu
CD	1 po kompletu	1 po kompletu
- Datoteke definicije analize (ADF) - Upute za uvoz ADF-a u softver - Upute za upotrebu (Uputa)		

Napomena Reagens za uzorak (SR) može biti bezbojan ili žuto-smeđe boje. Boja se može pojačati s vremenom, no ona ne utječe na učinkovitost.

Napomena Sigurnosno-tehnički listovi (SDS) dostupni su na www.cepheid.com ili www.cepheidinternational.com pod karticom **PODRŠKA (SUPPORT)**.

Napomena Goveđi serumski albumin (BSA) kao u kuglicama u ovom proizvodu proizveden je isključivo od goveđe plazme koja potječe iz Sjedinjenih Američkih Država. Životinje nisu hranjene proteinima preživača ili nekih drugih životinja; životinje su podvrgnute testiranju prije i nakon smrti. Tijekom obrade nije bilo miješanja materijala s drugim životinjskim materijalima.

Napomena Prijenosne pipete imaju jednu oznaku koja predstavlja minimalni volumen obrađenog uzorka potreban za prijenos u uložak. Koristite ih samo u tu svrhu. Laboratorij mora osigurati sve ostale pipete.

6.2 Čuvanje i rukovanje

- Čuvajte uloške testa Xpert MTB/RIF Ultra na 2 – 28 °C.
- Ne otvarajte poklopac uloška dok niste spremni provesti testiranje.
- Nemojte upotrebljavati reagense ili uloške kojima je istekao rok valjanosti.

7 Potrebni materijali koji nisu isporučeni

- GeneXpert Dx System, GeneXpert Infinity System or GeneXpert Edge System (kataloški broj ovisi o konfiguraciji): Instrument GeneXpert, računalo sa zakonom zaštićenim softverom GeneXpert serije 4.7b ili noviji (GeneXpert Dx System), Xpertise™ 6.4b ili noviji (GeneXpert Infinity System), softverom GeneXpert Edge verzije 1.0 (GeneXpert Edge System), čitač crtičnih kodova i korisnički priručnik
- Pisač: Ako je potreban pisač, obratite se prodajnom predstavniku društva Cepheid da biste dogovorili kupnju preporučenog pisača.
- Spremnici za prikupljanje s navojnim čepom otporni na curenje
- Jednokratne rukavice
- Etikete i/ili neizbrisiv flomaster za označavanje
- Sterilne pipete za obradu uzorka

8 Upozorenja, mjere opreza i kemijske opasnosti

8.1 Upozorenja i mjere opreza

- Sa svim biološkim uzorcima, uključujući iskorištene uloške, postupajte kao da mogu prenijeti uzročnike zaraznih bolesti. Budući da često nije moguće znati koji bi biološki uzorci mogli biti zarazni, sa svim biološkim uzorcima treba postupati primjenjujući standardne mjere opreza. Smjernice za rukovanje uzorcima dostupne su u Centrima za kontrolu i prevenciju bolesti⁷ i Institutu za kliničke i laboratorijske standarde u SAD-u.⁸
- Prilikom rukovanja uzorcima i reagensima nosite jednokratne zaštitne rukavice, laboratorijske kute i zaštitu za oči. Nakon rukovanja uzorcima i reagensima testa dobro operite ruke.
- Slijedite sigurnosne procedure svoje ustanove za rad s kemikalijama i rukovanje biološkim uzorcima.
- Nemojte zamjenjivati reagense testa Xpert MTB/RIF Ultra drugim reagensima.
- Nemojte otvarati poklopac uloška testa Xpert MTB/RIF Ultra osim za dodavanje obrađenog uzorka.
- Nemojte upotrebljavati uložak koji vam je ispao nakon što ste ga izvadili iz kompleta.
- Nemojte upotrebljavati uložak koji vam je ispao ili koji ste protresli ili čiji se sadržaj prolio nakon što ste dodali obrađeni uzorak. Ako protresete uložak nakon otvaranja poklopca uloška ili vam ispadne, možete dobiti lažne ili neodređene rezultate.
- Nemojte stavljati ID naljepnicu uzorka na poklopac uloška ili na naljepnicu s crtičnim kodom.
- Nemojte upotrebljavati uložak ako djeluje mokro ili ako vam se čini da je brtva na poklopcu potrgana.
- Nemojte upotrebljavati uložak s oštećenom reakcijskom epruvetom.
- Prilikom obrade više od jednog uzorka istovremeno otvorite samo jedan uložak; dodajte uzorak obrađen reagensom za uzorak i zatvorite poklopac uloška prije obrade sljedećeg uzorka. Promijenite rukavice između uzoraka.
- Svaki uložak testa Xpert MTB/RIF Ultra koristi se za obradu jednog testa. Nemojte ponovno upotrebljavati obrađene uloške.
- Jednokratna pipeta upotrebljava se za prijenos jednog uzorka. Nemojte višekratno upotrebljavati jednokratne pipete.
- Potrebno je slijediti dobru laboratorijsku praksu i mijenjati rukavice između rukovanja svakim uzorkom bolesnika kako bi se izbjegla kontaminacija uzoraka ili reagensa. Redovito čistite radnu površinu/prostore 10 %-tnim izbjeljivačem, a zatim ponovno prebrišite površinu 70 %-tnim etanolom ili izopropilnim alkoholom prije i nakon obrade uzoraka.
- Biološki uzorci, prijenosni pribor i iskorišteni ulošci trebaju se smatrati sposobnima za prijenos uzročnika zaraznih bolesti te su potrebne standardne mjere opreza. Za pravilno odlaganje iskorištenih uložaka i neiskorištenih reagensa slijedite postupke za upravljanje otpadom svoje ustanove. Ti materijali mogu pokazivati značajke opasnog kemijskog otpada, za što su potrebni posebni nacionalni ili regionalni postupci za odlaganje. Ako nacionalni ili regionalni propisi ne pružaju jasne upute o pravilnom odlaganju, biološki uzorci i iskorišteni ulošci trebaju se odložiti prema smjernicama za rukovanje i odlaganje medicinskog otpada Svjetske zdravstvene organizacije (World Health Organization, WHO).

8.2 Kemijske opasnosti^{9, 10}

Reagens za uzorak

- Sadrži izopropilni alkohol
- Sadrži natrijev hidroksid
- Oznaka opasnosti: OPASNOST
- Piktogrami prema Globalno usklađenom sustavu razvrstavanja i označivanja kemikalija Ujedinjenih naroda

(UN GHS): 

Oznake upozorenja prema Globalno usklađenom sustavu razvrstavanja i označivanja kemikalija Ujedinjenih naroda (UN GHS)

- Zapaljiva tekućina i para
- Uzrokuje teške opekline na koži i oštećenje oka.
- Uzrokuje ozbiljno oštećenje oka.
- Sumnja se da uzrokuje genetska oštećenja.
- Sumnja se da oštećuje plodnost kod majke ili nerođenog djeteta.
- Može uzrokovati oštećenje organa produženom ili ponovljenom izloženosti.

Oznake obavijesti

Prevenција

- Nabavite posebne upute prije upotrebe.
- Nemojte upotrebljavati dok ne pročitate i shvatite sve sigurnosne mjere opreza.
- Držati podalje od topline, iskrenja, otvorenog plamena i/ili vrućih površina. Zabranjeno pušenje.
- Držite spremnik čvrsto zatvorenim.
- Nemojte udisati maglice, pare i/ili raspršivač.
- Nakon rukovanja proizvodom temeljito oprati ruke.
- Nosite zaštitne rukavice/zaštitnu odjeću/zaštitu za oči/zaštitu za lice.
- Ako je potrebno, koristite se osobnom zaštitnom opremom.

Reakcija

- U slučaju požara: Upotrijebite odgovarajuće sredstvo za gašenje.
- U SLUČAJU UDISANJA: premjestiti osobu na svjež zrak i postaviti ju u položaj koji olakšava disanje.
- Odmah nazovite CENTAR ZA KONTROLU TROVANJA ili liječnika.
- U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM (ili kosom): odmah skinite svu kontaminiranu odjeću. Isperite kožu vodom/tuširanjem.
- operite kontaminiranu odjeću prije ponovne upotrebe.
- Specifično liječenje potražite u dodatnim informacijama o prvoj pomoći.
- U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: pažljivo ispirite vodom nekoliko minuta. Skinite kontaktne leće, ako ih nosite i ako se lako skidaju. Nastaviti ispiranje.
- U SLUČAJU GUTANJA: Isperite usta. NEMOJTE izazivati povraćanje.
- U SLUČAJU izloženosti ili razloga za zabrinutost: potražite savjet/liječničku pomoć.
- ako se ne osjećate dobro, potražite savjet/liječničku pomoć.

Skladištenje/odlaganje

- Odložite sadržaj i/ili spremnik u otpad u skladu s lokalnim, regionalnim, nacionalnim i/ili međunarodnim propisima.

9 Prikupljanje, transport i čuvanje uzoraka

Prikupljanje uzorka

Pridržavajte se protokola svoje ustanove za prikupljanje uzorka.

Prikupite iskašljaj ili iskašljaj induciran aerosolom pridržavajući se standardnih postupaka svoje ustanove. Testirajte neobrađeni iskašljaj ili koncentriran/dekontaminiran sediment iskašljaja. Pogledajte tablicu u nastavku da biste odredili odgovarajući volumen uzorka.

Tablica 1. Potreban volumen uzorka

Vrsta uzorka	Minimalni volumen za jedan test	Maksimalni volumen uzorka	Omjer uzorka i reagensa za uzorak (SR)
Sediment iskašljaja	0,5 ml	2,5 ml	1.3 ^a
Neobrađeni iskašljaj	1 ml	4,0 ml	1:2

^a Omjer uzorka i SR-a od 1:2 treba upotrebljavati s volumenom uzorka od 0,7 ml ili većim za jedan test.

Čuvanje i transport

Prije obrade reagensom za uzorak

Sediment iskašljaja: čuvajte resuspendirani sediment na 2 – 8 °C do 7 dana.

Neobrađeni iskašljaj: Prevozite i čuvajte iskašljaj na 2 – 8 °C prije obrade kad god je to moguće. Ako je potrebno, neobrađeni uzorci iskašljaja mogu se čuvati na najviše 35 °C do tri dana, a zatim na 2 – 8 °C dodatnih sedam dana.

10 Postupak testa

10.1 Postupak za dekontaminirane, koncentrirane taloge iskašljaja

Napomena Isključite uzorke s vidljivim česticama hrane ili drugim krutim česticama.

Zahtjevi volumena: sedimenti iskašljaja pripremljeni prema metodi Kent i Kubica¹¹ i resuspendirani u 67 mmol pufera fosfata/H₂O) mogu se testirati pomoću testa Xpert MTB/RIF Ultra. Nakon resuspendiranja sačuvajte najmanje 0,5 ml resuspendiranog sedimenta za test Xpert MTB/RIF Ultra. Za sve volumene manje od 0,7 ml provedite korake 1 – 6. Ti koraci zahtijevaju tri dijela reagensa za uzorak (SR) i 1 dio sedimenta kako bi se izradio odgovarajući volumen (otprilike 2 ml) za optimalnu učinkovitost testa.

Ako je volumen uzorka jednak ili veći od 0,7 ml, odgovarajući volumen testa može se proizvesti dodavanjem dvaju dijelova SR-a jednom dijelu sedimenta. U tom primjeru 1,4 ml SR-a dodat će se u 0,7 ml sedimenta. Ti se volumeni provode u omjeru od 2 dijela SR-a na 1 dio taloga.

1. Pustite da uložak dosegne sobnu temperaturu. Označite svaki uložak testa Xpert MTB/RIF Ultra ID oznakom uzorka. Pogledajte Slika 1.

Napomena Napišite je na bočnu stranu uložka ili nalijepite etiketu s ID oznakom. Nemojte stavljati etiketu na poklopac uložka ili preko postojećeg 2D crtičnog koda na uložku.

2. Pomiješajte sediment miješanjem u vrtložnoj miješalici ili upotrijebite pipetu za aspiraciju i izbacite materijal dovoljno puta kako biste bili sigurni da su svi organizmi u suspenziji.
3. Prenesite 0,5 ml ukupne resuspendirane kuglice u konusnu epruvetu s navojnim čepom za test Xpert MTB/RIF Ultra pomoću prijenosne pipete.

Napomena Čuvajte resuspendirane sedimente na 2 do 8 °C ako se neće odmah obrađivati. Nemojte pokretati test Xpert MTB/RIF Ultra na resuspendiranom sedimentu koji ste čuvali u hladnjaku > 7 dana.

4. Prenesite 1,5 ml reagensa za uzorak (SR) Xpert MTB/RIF Ultra u 0,5 ml resuspendiranog taloga pomoću prijenosne pipete. Čvrsto zatvorite čep.
5. Snažno protresite 10 do 20 puta ili promiješajte u vrtložnoj miješalici najmanje 10 sekundi.

Napomena Jedno protresanje predstavlja jedan pokret gore-dolje.

6. Inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, a zatim snažno protresite uzorak 10 do 20 puta ili ga promiješajte u vrtložnoj miješalici najmanje 10 sekundi.
7. Inkubirajte uzorak na sobnoj temperaturi dodatnih pet minuta.

10.2 Postupak za neobrađeni iskašljaj

Zahtjevi volumena: potrebno je ≥ 1 ml neobrađenog iskašljaja.

1. Pustite da uložak dosegne sobnu temperaturu. Označite svaki uložak testa Xpert MTB/RIF Ultra ID oznakom uzorka. Pogledajte Sliku 1.

Napomena

Napišite je na bočnu stranu uložka ili nalijepite etiketu s ID oznakom. Nemojte stavljati etiketu na poklopac uložka ili preko postojećeg 2D crtičnog koda na ulošku.



Slika 1. Pisanje po ulošku trajnim flomasterom

2. Nakon dobivanja uzorka u spremniku za prikupljanje iskašljaja otpornom na curenje pažljivo otvorite poklopac spremnika za prikupljanje iskašljaja i pregledajte sadržaj kako biste bili sigurni da nema čestica hrane ili drugih krutih čestica. Pogledajte Sliku 2.

Napomena

Isključite uzorke s vidljivim česticama hrane ili drugim krutim česticama.



Slika 2. Otvaranje spremnika za uzorak

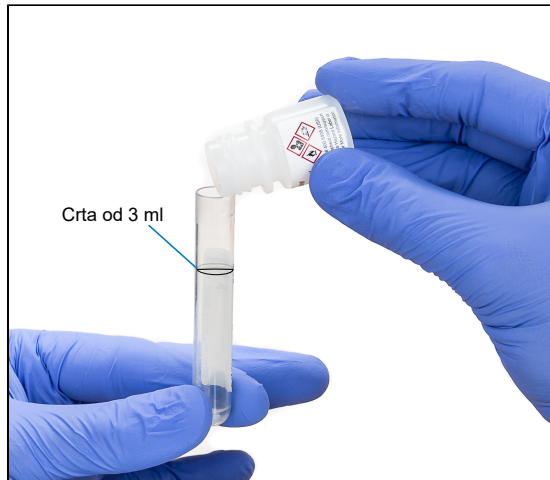
3. Izlijte otprilike dvostruki volumen SR-a u iskašljaj (razrjeđivanje 2:1, SR:iskašljaj).

Napomena

Odložite preostali SR u otpad, a bočicu u spremnik za kemijski otpad.



Slika 3. Primjer razrjeđivanja u omjeru 2:1 (8 ml SR-a:4 ml iskašljaja)



Slika 4. Primjer razrjeđivanja u omjeru 2:1 (2 ml SR-a:1 ml iskašljaja)

4. Vratite i pričvrstite poklopac. Snažno protresite 10 do 20 puta ili promiješajte u vrtložnoj miješalici najmanje 10 sekundi.

Napomena Jedno protresanje predstavlja jedan pokret gore-dolje.

5. Inkubirajte uzorak 10 minuta na sobnoj temperaturi.
6. Snažno protresite uzorak 10 do 20 puta ili ga promiješajte u vrtložnoj miješalici najmanje 10 sekundi. Inkubirajte uzorak na sobnoj temperaturi dodatnih pet minuta.

Napomena Provjerite je li uzorak potpuno ukapljen. Ako uzorak nije ukapljen, ponovite taj korak.

10.3 Priprema uložka

Napomena Ako upotrebljavate GeneXpert Dx System ili GeneXpert Edge System, pokrenite test u roku od četiri sata nakon dodavanja uzorka obrađenog reagensom za uzorak u uložak. Nakon što ste dodali uzorak u uložak, uložak treba ostati na sobnoj temperaturi prije pokretanja testa u roku od četiri sata. Ako upotrebljavate sustav GeneXpert Infinity System, obavezno pokrenite test i stavite uložak na pokretnu traku u roku od 30 minuta nakon dodavanja uzorka obrađenog reagensom za uzorak u uložak. Softver Xpertise prati preostali vijek trajanja kako bi se testovi pokrenuli prije isteka četiri sata u instrumentu.

1. Otvorite poklopac uloška, a zatim otvorite spremnik za uzorak.
2. Pomoću isporučene prijenosne pipete aspirirajte ukapljeni uzorak neznatno iznad crte na pipeti. Pogledajte Slika 5. Nemojte dodatno obrađivati uzorak ako nema dovoljno volumena.



Slika 5. Aspiracija do crte na pipeti

3. Prenesite uzorak u komoru za uzorak u ulošku Xpert MTB/RIF Ultra. Polako dozirajte uzorak kako biste umanjili rizik od stvaranja aerosola. Pogledajte Slika 6.



Slika 6. Doziranje dekontaminiranog ukapljenog uzorka u komoru za uzorak u ulošku

4. Čvrsto zatvorite poklopac uloška. Preostali ukapljeni uzorak može se čuvati do 4 sata na 2 do 8 °C u slučaju potrebe za ponovljenim testiranjem.

11 Pokretanje testa

- Za pogledajte Odjeljak 11.1.
- Za pogledajte Odjeljak 11.2.
- Za pogledajte Odjeljak 11.3.

11.1 GeneXpert Dx System

11.1.1 Započinjanje testa

Prije pokretanja testa pobrinite se da:

- Važno**
- Sustav radi s verzijom softvera GeneXpert Dx prikazanom u odjeljku – Potrebni materijali koji nisu isporučeni.
 - Pobrinite se da je u softver uvezena ispravna datoteka definicije analize.

Ovaj odjeljak navodi osnovne korake pokretanja testa. Za detaljne upute pogledajte *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Napomena Koraci koje je potrebno slijediti mogu se razlikovati ako je administrator sustava promijenio zadani tijek rada sustava.

1. Uključite GeneXpert Dx System, a zatim uključite računalo i prijavite se. Softver GeneXpert automatski će se pokrenuti. U suprotnom, dvaput kliknite na ikonu prečaca za softver GeneXpert Dx na radnoj površini sustava Windows®.
2. Prijavite se svojim korisničkim imenom i lozinkom.
3. U prozoru sustava **GeneXpert** kliknite na **Izradi test (Create Test)**.
Prikazuje se prozor **Izradi test (Create Test)**. Prikazuje se dijaloški okvir **Očitajte crtični kod s ID oznakom bolesnika (Scan Patient ID barcode)**.
4. Očitajte ili upišite ID bolesnika (Patient ID). Ako upisujete ID bolesnika (Patient ID), pripazite da ga točno upišete. ID bolesnika povezan je s rezultatima testa i prikazuje se u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** i svim izvješćima. Prikazuje se dijaloški okvir **Očitajte crtični kod s ID oznakom uzorka (Scan Sample ID barcode)**.
5. Očitajte ili upišite ID uzorka. Ako upisujete ID uzorka (Sample ID), pripazite da ga točno upišete. ID uzorka povezan je s rezultatom testa i prikazuje se u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** te u svim izvješćima. Prikazuje se dijaloški okvir **Očitajte crtični kod uložka (Scan Cartridge barcode)**.
6. Očitajte crtični kod na ulošku. Pomoću informacija na crtičnom kodu softver će automatski ispuniti okvire za sljedeća polja: Odaberi test (Select Assay), ID serije reagensa (Reagent Lot ID), Serijski broj uložka (Cartridge SN) i Rok valjanosti (Expiration Date).

Napomena Ako nije moguće skenirati crtični kod uložka testa, ponovite test s novim uloškom. Ako ste očitali crtični kod uložka u softveru, a datoteka definicije analize nije dostupna, prikazat će se zaslon koji označava da datoteka definicije analize nije učitana u sustav. Ako se prikaže taj zaslon, obratite se Tehničkoj podršci društva Cepheid.

7. Kliknite na **Pokreni test (Start Test)**. U dijaloškom okviru koji se prikaže upišite svoju lozinku, prema potrebi.
8. Otvorite vrata modula instrumenta dok trepti zeleno svjetlo i postavite uložak.
9. Zatvorite vrata. Test se pokreće, a zeleno svjetlo prestaje treperiti.
Kad test završi, svjetlo se gasi.
10. Prije nego što otvorite vrata modula, pričekajte da sustav otključa vrata, a zatim izvadite uložak.
11. Odložite iskorištene uloške u odgovarajuće spremnike za otpad od uzoraka u skladu sa standardnim praksama vaše ustanove.

Napomena Nemojte otvarati niti pokušavati izmijeniti bilo koji dio iskorištenog uložka radi odlaganja u otpad. Nemojte isključivati ili iskopčavati instrument dok je test u tijeku. Isključivanjem ili iskopčavanjem instrumenta ili računala zaustavit ćete test.

11.1.2 Prikaz i ispis rezultata

Ovaj odsječak navodi osnovne korake za prikaz i ispis rezultata. Detaljnije upute o prikazu i ispisu rezultata potražite u *Korisničkom priručniku za sustav GeneXpert Dx*.

1. Za prikaz rezultata kliknite ikonu **Prikaz rezultata (View Results)**.
2. Nakon završetka testa kliknite gumb **Izvešće (Report)** u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** za prikaz i/ili izradu PDF datoteke s izvješćem.

11.2 GeneXpert Edge System

(Možda nije dostupan u svim zemljama)

11.2.1 Pokretanje novog testa

Nakon što prvi test bude u tijeku, moguće je pokrenuti dodatni test.

1. Dodirnite gumb **POČETNI ZASLON (HOME)**.
Početni zaslon (Home) prikazat će modul koji se koristi kao blago zasivljen uz oznaku da je prikupljanje podataka u tijeku.
2. Dodirnite gumb **POKRENI NOVI TEST (RUN NEW TEST)** i nastavite s novim testom pridržavajući se koraka iz Pokretanje testa.
3. Nakon što drugi test bude u tijeku, dodirnite gumb **POČETNI ZASLON (HOME)**.
Pojavljuje se status oba testa. Kada se test dovrši, tekst ikone promijenit će se u **Prikupljanje podataka dovršeno (Data collection complete)** te će se na ikoni prikazati oznaka kvačice.
4. Dodirnite ikonu **Prikupljanje podataka dovršeno (Data collection complete)** za prikaz zaslona **Izvadite uložak (Remove Cartridge)**. Pridržavajte se uputa na zaslonu za vađenje uložka.

11.2.2 Prikaz i ispis rezultata

Ovaj odsječak navodi osnovne korake za prikaz i ispis rezultata. Detaljnije upute o prikazu i ispisu rezultata potražite u *GeneXpert Edge System User's Guide*.

Napomena

Ako prijavljujete rezultate putem sustava LIS, potvrdite da rezultati LIS odgovaraju rezultatima sustava za polje s ID oznakom bolesnika; ako se rezultati razlikuju, prijavite samo rezultate sustava.

1. Dodirnite gumb **PRIKAŽI PRETHODNE TESTOVE** na **Početnom zaslonu (Home)**.
2. Na zaslonu **Odaberi test (Select Test)** odaberite test dodirom naziva testa ili upotrebom strelica za odabir testa.

11.3 GeneXpert Infinity System

11.3.1 Započinjanje testa

Prije pokretanja testa pobrinite se da:

- Važno**
- Sustav radi s verzijom softvera Xpertise prikazanom u odjeljku – Potrebni materijali koji nisu isporučeni.
 - Pobrinite se da je u softver uvezena ispravna datoteka definicije analize.

Ovaj odjeljak navodi osnovne korake pokretanja testa. Za detaljne upute pogledajte *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Napomena

Koraci koje je potrebno slijediti mogu se razlikovati ako je administrator sustava promijenio zadani tijek rada sustava.

1. Uključite instrument. Softver Xpertise automatski će se pokrenuti. U suprotnom, dvaput kliknite na ikonu prečaca za softver Xpertise na radnoj površini sustava Windows®.
2. Prijavite se u računalo, a zatim se prijavite u softver GeneXpert Xpertise svojim korisničkim imenom i lozinkom.
3. Na radnoj površini **početne stranice softvera Xpertise** kliknite na **Nalozi (Orders)**, a na radnoj površini **Nalozi (Orders)** kliknite na **Izdaj nalog za test (Order Test)**.
Prikazuje se radna površina **Izdaj nalog za test – ID bolesnika (Order Test - Patient ID)**.
4. Očitajte ili upišite ID bolesnika (Patient ID). Ako upisujete ID bolesnika (Patient ID), pripazite da ga točno upišete. ID bolesnika povezan je s rezultatima testa i prikazuje se u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** i svim izvješćima.
5. Unesite sve dodatne informacije koje zahtijeva vaša ustanova i kliknite na gumb **NASTAVITE (CONTINUE)**.

Prikazuje se radna površina **Izdaj nalog za test – ID uzorka (Order Test - Sample ID)**.

6. Očitajte ili upišite ID uzorka. Ako upisujete ID uzorka (Sample ID), pripazite da ga točno upišete. ID uzorka povezan je s rezultatom testa i prikazuje se u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** te u svim izvješćima.
7. Kliknite na gumb **NASTAVITE (CONTINUE)**.
Prikazuje se radna površina **Izdaj nalog za test – Test (Order Test - Assay)**.
8. Očitajte crtični kod na ulošku. Pomoću informacija na crtičnom kodu softver će automatski ispuniti okvire za sljedeća polja: Odaberi test (Select Assay), ID serije reagensa (Reagent Lot ID), Serijski broj uloška (Cartridge SN) i Rok valjanosti (Expiration Date).

Napomena

Ako nije moguće skenirati crtični kod uloška testa, ponovite test s novim uloškom. Ako ste očitali crtični kod uloška u softveru, a datoteka definicije analize nije dostupna, prikazat će se zaslon koji označava da datoteka definicije analize nije učitana u sustav. Ako se prikaže taj zaslon, obratite se Tehničkoj podršci društva Cepheid.

Nakon očitavanja uloška prikazuje se radna površina **Izdaj nalog za test – podaci o testu (Order Test - Test Information)**.

9. Provjerite jesu li podaci točni i kliknite na **Pošalji (Submit)**. U dijaloškom okviru koji se prikaže upišite svoju lozinku, prema potrebi.
10. Stavite uložak na pokretnu traku.

Napomena

Nemojte isključivati ili iskopčavati sustav dok je test u tijeku. Isključivanjem ili iskopčavanjem instrumenta GeneXpert ili računala zaustaviti ćete test.

Uložak se automatski puni, test se pokreće, a iskorišteni uložak premješta se u spremnik za otpad.

11.3.2 Prikaz i ispis rezultata

Ovaj odsječak navodi osnovne korake za prikaz i ispis rezultata. Detaljnije upute o prikazu i ispisu rezultata potražite u *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. Na radnoj površini **početne stranice softvera Xpertise** kliknite na ikonu **REZULTATI (RESULTS)**. Prikazat će se izbornik Rezultati.
2. U izborniku Rezultati odaberite gumb **PRIKAZ REZULTATA (VIEW RESULTS)**. Prikazat će se radna površina **Prikaz rezultata (View Results)** s rezultatima testa.
3. Kliknite na gumb **IZVJEŠĆE (REPORT)** za prikaz i/ili izradu PDF datoteke s izvješćem.

12 Kontrola kvalitete

Svaki test uključuje kontrolu obrade uzoraka (SPC) i kontrolu za provjeru sonde (PCC).

Kontrola obrade uzoraka (SPC)

Osigurava ispravnu obradu uzorka. SPC sadrži neinfektivne spore u obliku suhe pogače sa sporama uključene u svaki uložak radi provjere prikladnosti obrade MTB-a. SPC potvrđuje da je došlo do lize MTB-a ako su prisutni organizmi te potvrđuje da je obrada uzorka odgovarajuća. Uz to, ova kontrola otkriva inhibiciju reakcije PCR u stvarnom vremenu koja se povezuje s uzorkom.

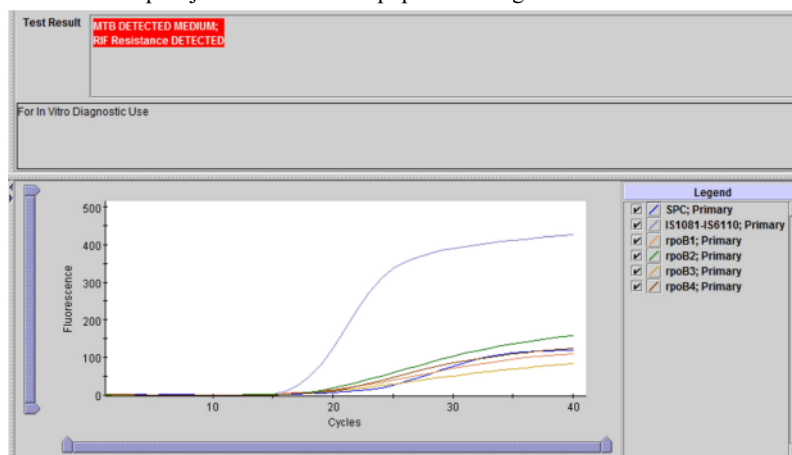
SPC bi trebala biti pozitivna u negativnom uzorku, a može biti negativna ili pozitivna u pozitivnom uzorku. SPC zadovoljava ako ispunjava potvrđene kriterije za prihvatanje. Rezultat testa bit će „Nevažeći” ako SPC nije otkriven u negativnom testu.

Kontrola provjere sonde (PCC)

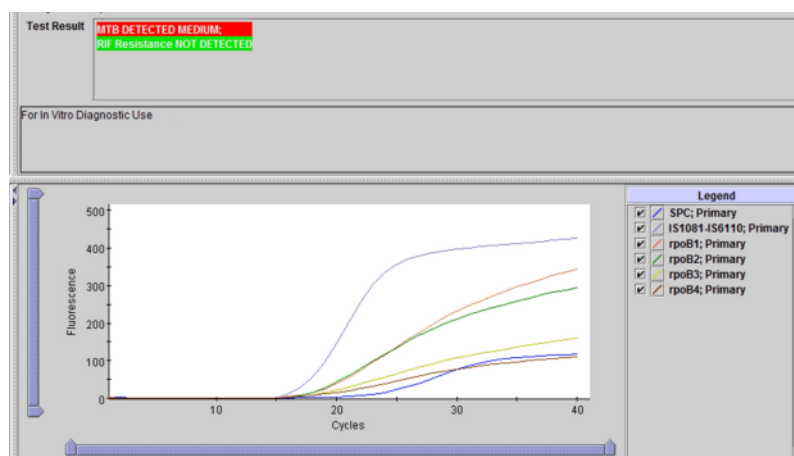
Prije početka reakcije PCR-a test Xpert MTB/RIF Ultra mjeri fluorescentni signal iz sonde s ciljem praćenja rehidracije kuglica, punjenja reakcijske epruvete, cjelovitosti sonde i stabilnosti boje. PCC zadovoljava ako ispunjava dodijeljene kriterije za prihvatanje.

13 Tumačenje rezultata

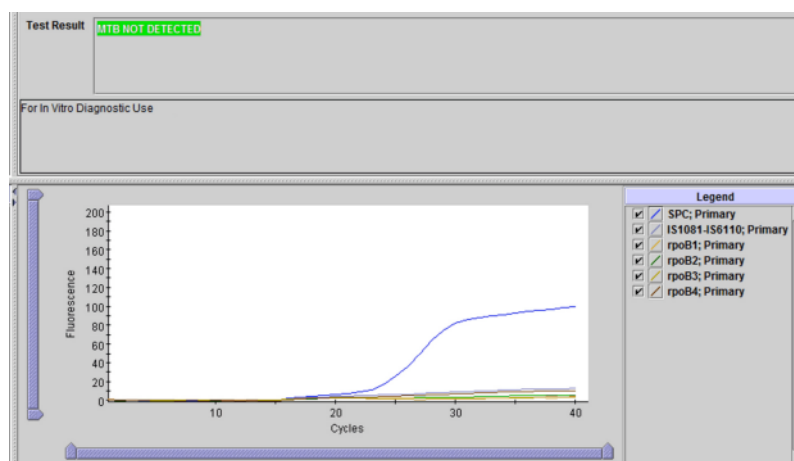
Sustav instrumenta GeneXpert stvara rezultate na temelju izmjerenih fluorescentnih signala i ugrađenih algoritama za izračun. Rezultati se mogu vidjeti u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)**. Pogledajte Sliku 7, Sliku 8, Sliku 9, Sliku 10, Sliku 11 i Sliku 12 za određene primjere te Tablica 3 za popis svih mogućih rezultata.



Slika 7. OTKRIVENA SREDNJA RAZINA MTB-a; otpornost na RIF OTKRIVENA (detaljni korisnički prikaz instrumenta GeneXpert Dx)



Slika 8. OTKRIVENA SREDNJA RAZINA MTB-a; otpornost na RIF NIJE OTKRIVENA (detaljni korisnički prikaz instrumenta GeneXpert Dx)



Slika 9. MTB NIJE OTKRIVEN (detaljni korisnički prikaz instrumenta GeneXpert Dx)

Patient/Sample ID	Cartridge S/N
6319-2PUHPLOT020	681696130
Assay	
Xpert MTB-RIF Ultra	
Result	Start Time
MTB DETECTED LOW; RIF Resistance DETECTED	11/06/19 13:11:15
	User Name
	<None>
	Test Disclaimer
	For In Vitro Diagnostic Use Only

Slika 10. OTKRIVENA NISKA RAZINA MTB-a; otpornost na RIF OTKRIVENA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance DETECTED) (GeneXpert Edge)

Patient/Sample ID	Cartridge S/N
2PUHPLOT05	681696113
Assay	
Xpert MTB-RIF Ultra	
Result	Start Time
MTB DETECTED LOW; RIF Resistance NOT DETECTED	07/06/19 10:02:55
	User Name
	<None>
	Test Disclaimer
	For In Vitro Diagnostic Use Only.

Slika 11. OTKRIVENA NISKA RAZINA MTB-a; otpornost na RIF NIJE OTKRIVENA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance NOT DETECTED) (GeneXpert Edge)

Patient/Sample ID	Cartridge S/N
2PUHPLOT05	681696136
Assay	
Xpert MTB-RIF Ultra	
Result	Start Time
MTB NOT DETECTED	24/05/19 10:39:43
	User Name
	<None>
	Test Disclaimer
	For In Vitro Diagnostic Use Only.

Slika 12. MTB NIJE OTKRIVEN (MTB NOT DETECTED) (GeneXpert Edge)

Tablica 2. Xpert MTB/RIF Ultra Rezultati i tumačenje testa

Rezultat	Tumačenje
OTKRIVENA VISOKA RAZINA MTB-a; otpornost na RIF OTKRIVENA (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance DETECTED)	MTB cilj prisutan je u uzorku: - Otkrivena je mutacija u ciljnoj sekvenci gena <i>rpoB</i>. - SPC: NP (nije primjenjivo) (NA (not applicable)). SPC signal nije potreban jer amplifikacija MTB-a može biti konkurentna toj kontroli. - Provjera sonde: ZADOVOLJAVA (PASS). Svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju.
OTKRIVENA SREDNJA RAZINA MTB-a; otpornost na RIF OTKRIVENA (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance DETECTED)	
OTKRIVENA NISKA RAZINA MTB-a; otpornost na RIF OTKRIVENA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance DETECTED)	
OTKRIVENA VRLO NISKA RAZINA MTB-a; otpornost na RIF OTKRIVENA (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance DETECTED)	
OTKRIVENA VISOKA RAZINA MTB-a; otpornost na RIF NIJE OTKRIVENA (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance NOT DETECTED)	MTB cilj prisutan je u uzorku: - Nije otkrivena mutacija u ciljnoj sekvenci gena <i>rpoB</i>. - SPC: NP (nije primjenjivo) (NA (not applicable)). SPC signal nije potreban jer amplifikacija MTB-a može biti konkurentna toj kontroli. - Provjera sonde: ZADOVOLJAVA (PASS). Svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju.
OTKRIVENA SREDNJA RAZINA MTB-a; otpornost na RIF NIJE OTKRIVENA (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance NOT DETECTED)	
OTKRIVENA NISKA RAZINA MTB-a; otpornost na RIF NIJE OTKRIVENA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance NOT DETECTED)	
OTKRIVENA VRLO NISKA RAZINA MTB-a; otpornost na RIF NIJE OTKRIVENA (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance NOT DETECTED)	

Rezultat	Tumačenje
OTKRIVENA VISOKA RAZINA MTB-a; otpornost na RIF NEODREĐENA (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance INDETERMINATE)	MTB cilj prisutan je u uzorku: - Otpornost na RIF nije se mogla odrediti zbog nevažećih vrhunaca taljenja. - SPC: NP (nije primjenjivo) (NA (not applicable)). SPC signal nije potreban jer amplifikacija MTB-a može biti konkurentna toj kontroli. - Provjera sonde: ZADOVOLJAVA (PASS). Svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju.
OTKRIVENA SREDNJA RAZINA MTB-a; otpornost na RIF NEODREĐENA (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance INDETERMINATE)	
OTKRIVENA NISKA RAZINA MTB-a; otpornost na RIF NEODREĐENA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance INDETERMINATE)	
OTKRIVENA VRLO NISKA RAZINA MTB-a; otpornost na RIF NEODREĐENA (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance INDETERMINATE)	
MTB OTKRIVEN u tragovima; otpornost na RIF NEODREĐENA (MTB Trace DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)	MTB cilj prisutan je u uzorku: - Otpornost na RIF ne može se odrediti zbog nedovoljnog otkrivanja signala. - SPC: NP (nije primjenjivo) (NA (not applicable)). SPC signal nije potreban jer amplifikacija MTB-a može biti konkurentna toj kontroli. - Provjera sonde: ZADOVOLJAVA (PASS). Svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju.
MTB NIJE OTKRIVEN (MTB NOT DETECTED)	MTB cilj nije otkriven u uzorku: - SPC: ZADOVOLJAVA (PASS). SPC je ispunio kriterije za prihvatanje. - Provjera sonde: ZADOVOLJAVA (PASS). Svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju.
NEVAŽEĆI (INVALID)	Ne može se utvrditi prisutnost niti odsutnost MTB-a. SPC ne ispunjava kriterije za prihvatanje, uzorak nije ispravno obrađen ili je PCR bio spriječen. Ponovite test. Pogledajte odjeljak Postupak ponovnog testiranja u ovom dokumentu. - MTB NEVAŽEĆI (INVALID): Ne može se utvrditi prisutnost niti odsutnost DNK za MTB. - SPC: NEUSPJEŠAN (FAIL). Rezultat za MTB cilj je negativan, a Ct za SPC nije unutar valjanog raspona. - Provjera sonde: ZADOVOLJAVA (PASS). Svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju.

Rezultat	Tumačenje
POGREŠKA (ERROR)	Ne može se utvrditi prisutnost niti odsutnost MTB-a. Ponovite test. Pogledajte odjeljak Postupak ponovnog testiranja u ovom dokumentu. • MTB: NEMA REZULTATA (NO RESULT) • SPC: NEMA REZULTATA (NO RESULT) • Provjera sonde: NEUSPJESAN (FAIL). Svi ili jedan rezultat provjere sonde nije uspio.
Napomena	Ako je provjera sonde zadovoljila, pogrešku je uzrokovao kvar dijela sustava.
NEMA REZULTATA (NO RESULT)	Ne može se utvrditi prisutnost niti odsutnost MTB-a. Ponovite test. Pogledajte odjeljak Postupak ponovnog testiranja u ovom dokumentu. Poruka NEMA REZULTATA (NO RESULT) ukazuje na to da je prikupljeno nedovoljno podataka. Na primjer, korisnik je zaustavio test koji je bio u tijeku. • MTB: NEMA REZULTATA (NO RESULT) • SPC: NEMA REZULTATA (NO RESULT) • Provjera sonde: NP (nije primjenjivo) (NA (not applicable))

Tablica 3. Xpert MTB/RIF Ultra: svi mogući rezultati

Rezultati za TB	Rezultati za RIF
OTKRIVENA VISOKA RAZINA MTB-a (MTB DETECTED HIGH)	Otpornost na RIF OTKRIVENA (RIF Resistance DETECTED)
OTKRIVENA VISOKA RAZINA MTB-a (MTB DETECTED HIGH)	Otpornost na RIF NIJE OTKRIVENA (RIF Resistance NOT DETECTED)
OTKRIVENA VISOKA RAZINA MTB-a (MTB DETECTED HIGH)	Otpornost na RIF NEODREĐENA (RIF Resistance INDETERMINATE)
OTKRIVENA SREDNJA RAZINA MTB-a (MTB DETECTED MEDIUM)	Otpornost na RIF OTKRIVENA (RIF Resistance DETECTED)
OTKRIVENA SREDNJA RAZINA MTB-a (MTB DETECTED MEDIUM)	Otpornost na RIF NIJE OTKRIVENA (RIF Resistance NOT DETECTED)
OTKRIVENA SREDNJA RAZINA MTB-a (MTB DETECTED MEDIUM)	Otpornost na RIF NEODREĐENA (RIF Resistance INDETERMINATE)
OTKRIVENA NISKA RAZINA MTB-a (MTB DETECTED LOW)	Otpornost na RIF OTKRIVENA (RIF Resistance DETECTED)
OTKRIVENA NISKA RAZINA MTB-a (MTB DETECTED LOW)	Otpornost na RIF NIJE OTKRIVENA (RIF Resistance NOT DETECTED)
OTKRIVENA NISKA RAZINA MTB-a (MTB DETECTED LOW)	Otpornost na RIF NEODREĐENA (RIF Resistance INDETERMINATE)
OTKRIVENA VRLO NISKA RAZINA MTB-a (MTB DETECTED VERY LOW)	Otpornost na RIF OTKRIVENA (RIF Resistance DETECTED)
OTKRIVENA VRLO NISKA RAZINA MTB-a (MTB DETECTED VERY LOW)	Otpornost na RIF NIJE OTKRIVENA (RIF Resistance NOT DETECTED)
OTKRIVENA VRLO NISKA RAZINA MTB-a (MTB DETECTED VERY LOW)	Otpornost na RIF NEODREĐENA (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB u tragovima (MTB Trace) ^a OTKRIVEN	Otpornost na RIF NEODREĐENA (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB NIJE OTKRIVEN (MTB NOT DETECTED)	

Rezultati za TB	Rezultati za RIF
NEVAŽEĆI (INVALID)	
POGREŠKA (ERROR)	
NEMA REZULTATA (NO RESULT)	

- ^a Rezultat Tragovi znači da su otkrivene niske razine MTB-a, ali nije otkriven rezultat Otporan na RIF. To se javlja zbog povećane osjetljivosti otkrivanja TB-a pomoću ciljeva višestrukih kopija IS6110 i IS1081, za razliku od otkrivanja otpornosti na RIF pomoću gena *rpoB* jedne kopije. Stoga se rezultat Otporan ili osjetljiv na RIF ne može odrediti u uzorku Tragovi. Uzorak Tragovi uvijek je **Otpornost na RIF NEODREĐENA (RIF Resistance INDETERMINATE)**.

13.1 Razlozi za ponavljanje testa

Ponovite test pomoću novog uložka ako dođe do nekog od sljedećih rezultata testa.

- Rezultat **NEVAŽEĆE (INVALID)** označava da SPC nije uspio. Uzorak nije ispravno obrađen ili je PCR spriječen.
- Rezultat **POGREŠKA (ERROR)** označava da je PCC bio neuspješan i da je test prekinut vjerojatno zato što je reakcijska epruveta bila pogrešno napunjena, uočen je problem s cjelovitošću sonde, premašeno je maksimalno ograničenje tlaka ili je modul GeneXpert bio neuspješan.
- Poruka **NEMA REZULTATA (NO RESULT)** ukazuje na to da je prikupljeno nedovoljno podataka. Na primjer, korisnik je zaustavio test koji je bio u tijeku.

13.2 Postupak ponovnog testiranja

Ako imate preostalog svježeg iskašljaja ili rekonstituiranog sedimenta, obavezno upotrijebite novi SR za dekontaminaciju i ukupljivanje iskašljaja ili sedimenta prije pokretanja testa. Pogledajte Odjeljak 10 ili Postupak za neobrađeni iskašljaj.

Ako imate dovoljno preostalog uzorka obrađenog SR-om i nije prošlo više od četiri sata od dodavanja SR-a u uzorak, možete upotrijebiti preostali uzorak za pripremu i obradu novog uložka. Prilikom ponovljenog testiranja obavezno upotrijebite novi uložak i odmah pokrenite test. Pogledajte Priprema uložka.

14 Ograničenja

Budući da otkrivanje MTB-a ovisi o broju organizama prisutnih u uzorku, pouzdani rezultati ovise o ispravnom prikupljanju, rukovanju i pohrani uzorka. Pogrešni rezultati testa mogu se javiti zbog neispravnog prikupljanja uzorka, rukovanja ili pohrane, tehničke pogreške, miješanja uzoraka ili nedovoljne koncentracije početnog materijala. Da bi se izbjegli pogrešni rezultati, potrebno je pažljivo se pridržavati uputa za upotrebu.

Oni pojedinci s rezultatima **MTB OTKRIVEN u tragovima (MTB Trace DETECTED)** mogu zahtijevati daljnje kliničke informacije i razmatranje svojeg kliničkog konteksta za odluke o liječenju TB-a u nekim okruženjima.

Pozitivan rezultat testa ne mora nužno ukazivati na prisutnost aktivnih organizama. No pretpostavlja prisutnost MTB-a i otpornost na rifampin.

Mutacije ili polimorfizmi u regijama vezivanja početnice ili sonde mogu utjecati na otkrivanje novih ili nepoznatih sojeva MDR-MTB ili otpornih na rifampin, što može dovesti do rezultata lažne osjetljivosti na rifampin.

Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra nije utvrđena u bolesnika mlađih od osamnaest godina.

Test Xpert MTB/RIF Ultra ne daje potvrdu osjetljivosti na rifampin budući da mogu postojati mehanizmi otpornosti na rifampin koji nisu otkriveni ovim uređajem koji se mogu povezivati s nedostatkom kliničkog odgovora na liječenje.

Kod uzoraka koji imaju mutacije koje se povezuju s DNK-om MTB-kompleksa i otpornosti na rifampin u genu *rpoB* koje je otkrio test Xpert MTB/RIF Ultra treba razmotriti dodatno testiranje osjetljivosti na lijek.

Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra ovisi o stručnosti korisnika i pridržavanju postupaka testa. Proceduralne pogreške testa mogu izazvati lažno pozitivne ili lažno negativne rezultate. Svi rukovatelji uređajem trebaju proći odgovarajuću obuku o upotrebi uređaja.

Interferencija testa uočena je u uzorcima koji sadržavaju ≥ 100 ug/ml albuterol sulfata.

15 Klinička učinkovitost

15.1 Konstrukcija kliničkog ispitivanja

Karakteristike učinkovitosti testa Xpert MTB/RIF Ultra procijenjene su za otkrivanje DNK MTB-kompleksa i za otkrivanje mutacija koje se povezuju s otpornošću na RIF u uzorcima iskašljaja u odnosu na rezultate kulture (krutog i/ili tekućeg medija), odnosno na testiranje osjetljivosti na lijek (DST). Ovo multicentrično ispitivanje koristilo se prospektivnim i arhiviranim izravnim (sirovim) uzorcima iskašljaja ili koncentriranog sedimenta prikupljenima od ispitanika u dobi od 18 godina ili starijih. Ispitanici su uključivali osobe kod kojih je postojala sumnja u plućnu tuberkulozu (TB) koji se nisu liječili od nje ili su se liječili manje od tri dana unutar šest mjeseci od početka ispitivanja (osobe kod kojih postoji sumnja u TB), kao i ispitanici prethodno liječeni od TB-a kod kojih je postojala sumnja u multirezistentni TB (osobe kod kojih postoji sumnja u multirezistentni TB (MDR TB)). Ispitivanje je provedeno po čitavom svijetu (Bjelorusija, Brazil, Kina, Gruzija, Njemačka, Indija, Italija, Kenija, Peru, Južna Afrika, Uganda, Vijetnam i Sjedinjene Države). Osjetljivost i specifičnost testa Xpert MTB/RIF Ultra na otkrivanje MTB-a procijenjena je pomoću podataka samo od ispitanika kod kojih je postojala sumnja u TB; dok su podaci od ispitanika kod kojih je postojala sumnja u MDR TB kombinirani kako bi se procijenila učinkovitost otpornosti na RIF.

Među 1985 uzoraka koji su uključeni u analize primarnih podataka uzorci su potjecali od sudionika u ispitivanju koji su imali ≥ 18 godina, 59 % (n = 1175) muškaraca, 37 % žena (n = 734), a za 4 % (n = 76) spol nije bio poznat ili dostupan. Potjecali su iz geografski raznolikih regija: 11 % (n = 217) potjecalo je iz SAD-a (Kalifornije, New Yorka i Floride), a 89 % (n = 1768) potjecalo je iz zemalja izvan SAD-a (Bjelorusija, Brazil, Kina, Gruzija, Njemačka, Indija, Italija, Južna Afrika, Kenija, Peru, Vijetnam i Uganda).

15.2 Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra u odnosu na MTB kulturu

Od svakog ispitanika u ispitivanju prikupljeno je do tri uzorka iskašljaja za upotrebu u kliničkom ispitivanju. Kod prospektivnih uzoraka prvi je uzorak iskašljaja testiran testom Xpert MTB/RIF Ultra, a druga dva uzorka upotrijebljena su za TB kulturu. Kod arhiviranih uzoraka rezultati kulture bili su dostupni iz metode standardnog liječenja, a test Xpert MTB/RIF Ultra proveden je upotrebom prvog uzorka s dovoljnim volumenom. Ako je rezultat testa bio neodređen (**POGREŠKA (ERROR), NEVAŽEĆI (INVALID) ili NEMA REZULTATA (NO RESULT)**), uzorak je ponovno testiran ako je bilo dovoljno volumena. Testovi MTB Ultra za 96,8 % (1939/2004) uzoraka bili su uspješni pri prvom pokušaju (prvotni postotak neodređenih slučajeva = 3,2 %). Četrdeset i šest od 65 neodređenih slučajeva testirano je ponovno, od čega su svi dali valjane rezultate pri ponovljenom testiranju; 19 uzoraka nije ponovno testirano. Ukupan postotak uspjeha testa iznosio je 99,1 % (1985/2004). Ukupan postotak neodređenih rezultata iznosio je 0,9 % (19/2004). Status razmaza acidorezistentnih bacila (AFB) za ispitanika određen je bojanjem razmaza fluorescentnim Auraminom O (AO) ili metodom Ziehl-Neelsen (ZN) iz uzorka s odgovarajućim rezultatom testa Xpert MTB/RIF Ultra. Status MTB kulture za sve ispitanike određen je na temelju rezultata MTB kulture svih uzoraka prikupljenih u razdoblju od sedam dana za tog ispitanika.

Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra na otkrivanje MTB-a u odnosu na MTB kulturu, razvrstana prema AFB razmazu, prikazana je u tablici u nastavku. Osjetljivost u pozitivnim i negativnim uzorcima razmaza iznosila je 99,5 % (426/428), 95 %-tni CI: 98,3; 99,9, odnosno 73,3 % (200/273), 95 %-tni CI: 67,7; 78,2. Ukupna specifičnost testa Xpert MTB/RIF Ultra bez obzira na AFB razmaz iznosila je 95,5 % (1222/1280), 95 %-tni CI: 94,2; 96,5. Pogledajte tablice u nastavku.

Tablica 4. Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra u odnosu na MTB kulturu

		Razmaz/kultura				
		Pozitivan			Negativan	Ukupno
		AFB razmaz +	AFB razmaz -	Ukupna kultura +	Ukupna kultura -	
Xpert MTB/RIF Ultra	MTB OTKRIVEN (MTB DETECTED)	426	200	630 ^a	58	688
	MTB NIJE OTKRIVEN (MTB NOT DETECTED)	2	73	75	1222	1297

		Razmaz/kultura				
		Pozitivan			Negativan	Ukupno
		AFB razmaz +	AFB razmaz -	Ukupna kultura +	Ukupna kultura -	
	Ukupno	428	273	705	1280	1985
Učinkovitost kod pozitivnog razmaza: Osjetljivost: 99,5 % (426/428), 95 %-tni CI: 98,3; 99,9 Učinkovitost kod negativnog razmaza: Osjetljivost: 73,3 % (200/273), 95 %-tni CI: 67,7; 78,2 Ukupna učinkovitost: Osjetljivost: 89,4 % (630/705), 95 %-tni CI: 86,9; 91,4 Specifičnost: 95,5 % (1222/1280), 95 %-tni CI: 94,2; 96,5						

^a Rezultati razmaza nisu bili dostupni za četiri uzorka pozitivna na kulturu.

Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra na otkrivanje MTB-a u odnosu na MTB kulturu, razvrstana na lokacije izvan SAD-a i lokacije u SAD-u prikazana je u tablici u nastavku. Među 1985 uzoraka bilo je 1768 uzoraka iz lokacija izvan SAD-a i 217 iz lokacija u SAD-u.

Tablica 5. Test Xpert MTB/RIF Ultra u odnosu na MTB kulturu prema lokacijama izvan SAD-a u odnosu na lokacije u SAD-u

	Izvan SAD-a		SAD	
	N	Postotak (95 %-tni CI)	N	Postotak (95 %-tni CI)
Razmaz osjetljivosti poz.	380/382	99,5 % (98,1; 99,9)	46/46	100,0 % (92,3; 100)
Razmaz osjetljivosti neg.	180/245	73,5 % (67,6; 78,6)	20/28	71,4 % (52,9; 84,7)
Ukupna osjetljivost	564/631 ^a	89,4 % (86,7; 91,6)	66/74	89,2 % (80,1; 94,4)
Ukupna specifičnost	1080/1137	95,0 % (93,6; 96,1)	142/143	99,3 % (96,1; 99,9)

^a Rezultati razmaza nisu bili dostupni za četiri uzorka pozitivna na kulturu.

15.3 Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra u odnosu na kulturu prema vrsti razmaza

Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra na otkrivanje MTB-a određena je u odnosu na MTB kulturu u uzorcima s razmazom AFB koje je proveo AO i ZN. Rezultati su prikazani u tablici u nastavku. Među 1985 uzoraka bilo je 1810 uzoraka s razmazom AO i 175 s razmazom ZN.

Tablica 6. Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra u odnosu na MTB kulturu metodama bojanja Auraminom O (AO) i Ziehl-Neelsen (ZN)

	Metoda Auramin O		Metoda Ziehl-Neelsen	
	N	Postotak (95 %-tni CI)	N	Postotak (95 %-tni CI)
Razmaz osjetljivosti poz.	386/388	99,5 % (98,1; 99,9)	40/40	100 % (91,2; 100)
Razmaz osjetljivosti neg.	153/219	69,9 % (63,5; 75,6)	47/54	87,0 % (75,6; 93,6)
Ukupna osjetljivost	543/611 ^a	88,9 % (86,1; 91,1)	87/94	92,6 % (85,4; 96,3)
Ukupna specifičnost	1145/1199	95,5 % (94,2; 96,5)	77/81	95,1 % (88,0; 98,1)

^a Rezultati razmaza nisu bili dostupni za četiri uzorka pozitivna na kulturu.

15.4 Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra u odnosu na kulturu prema vrsti uzorka

Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra na otkrivanje MTB-a određena je u odnosu na MTB kulturu u uzorcima neobrađenog iskašljaja i sedimenta koncentriranog iskašljaja. Rezultati su prikazani u tablici u nastavku. Među 1985 uzoraka bilo je 1543 uzorka neobrađenog iskašljaja i 442 uzorka koncentriranog sedimenta iskašljaja.

Tablica 7. Test Xpert MTB/RIF Ultra u odnosu na MTB kulturu prema vrsti uzorka

	Izravni iskašljaj		Sedimenti iskašljaja	
	N	% (95 %-tni CI)	N	% (95 %-tni CI)
Razmaz osjetljivosti poz.	323/324	99,7 % (98,3; 99,9)	103/104	99,0 % (94,8; 99,8)
Razmaz osjetljivosti neg.	168/229	73,4 % (67,3; 78,7)	32/44	72,7 % (58,2; 83,7)
Ukupna osjetljivost	495/557 ^a	88,9 % (86,0; 91,2)	135/148	91,2 % (85,6; 94,8)
Ukupna specifičnost	937/986	95,0 % (93,5; 96,2)	285/294	96,9 % (94,3; 98,4)

^a Rezultati razmaza nisu bili dostupni za četiri uzorka pozitivna na kulturu.

15.5 Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra u odnosu na testiranje osjetljivosti na lijek za RIF

Izolati kulture pozitivne na MTB testirani su na osjetljivost na lijek (DST) na rifampin pomoću metode proporcije na agaru pomoću medija Middlebrook ili Lowenstein-Jensen, podloge Thermo Scientific Sensititre™ Mycobacterium tuberculosis MIC ili testa BD BACTEC™ MGIT™ 960 SIRE. Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra za otkrivanje mutacija povezanih s otpornošću na RIF određena je u odnosu na rezultate za DST izolata MTB kulture.

Rezultati za otkrivanje mutacija povezanih s otpornošću na RIF prijavljeni su testom Xpert MTB/RIF Ultra samo kad je uređaj otkrio sekvencu gena *rpoB* MTB-kompleksa. Učinkovitost osjetljivosti/otpornosti na RIF prijavljena je u tablici u nastavku. Uzorci kod kojih nije provedeno testiranje osjetljivosti na lijek (DST), **MTB NIJE OTKRIVEN (MTB NOT DETECTED)** i **MTB OTKRIVEN; otpornost na RIF NEODREĐENA (MTB DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)** isključeni su iz analize. Šezdeset i tri (63) od 67 uzoraka s rezultatima RIF neodređen bili su **OTKRIVEN MTB u tragovima; otpornost na RIF NEODREĐENA (MTB Trace DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)**.

Tablica 8. Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra u odnosu na DST

Testiranje osjetljivosti na lijek				
		Otporan na RIF	Osjetljiv na RIF	Ukupno
Xpert MTB/ RIF Ultra	MTB OTKRIVEN; otpornost na RIF OTKRIVENA (MTB DETECTED; RIF Resistance DETECTED)	128	12 ^a	140
	MTB OTKRIVEN; otpornost na RIF NIJE OTKRIVENA (MTB DETECTED; RIF Resistance NOT DETECTED)	5 ^b	314	319
	Ukupno	133	326	459
		Osjetljivost: 96,2 % (128/133), 95 %-tni CI: 91,5; 98,4 Specifičnost: 96,3 % (314/326), 95 %-tni CI: 93,7; 97,9		

^a Nepodudarni rezultati sekvenciranja: 11 od 12 otporni na RIF, 1 od 12 nije dostupan.

^b Nepodudarni rezultati sekvenciranja: 4 od 5 osjetljivi na RIF, 1 od 5 nije dostupan.

15.6 Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra u odnosu na test Xpert MTB/RIF

Tisuću petsto devedeset i četiri (1594) uzorka testirano je testom Xpert MTB/RIF Ultra i testom Xpert MTB/RIF. Ukupno postotno slaganje između testova iznosilo je 96,5 % [(1538/1594) 95 %-tni CI: 95,5; 97,3]. Pozitivno postotno slaganje i negativno postotno slaganje iznosili su 99,2 % [(491/495) 95 %-tni CI: 97,9; 99,7], odnosno 95,3 % [(1047/1099) 95 %-tni CI: 93,8; 96,4].

15.7 Reproducibilnost

Reproducibilnost testa Xpert MTB/RIF Ultra procijenjena je na tri lokacije pomoću panela uzoraka sastavljenog od sojeva MTB-a osjetljivih i otpornih na rifampin. Uzorci pozitivni na MTB pripremljeni su u simuliranoj matrici iskašljaja pri niskim (~1X LoD) i umjerenim (2 – 3X LoD) koncentracijama. Uključen je i član negativnog panela koji se sastojao od simulirane matrice iskašljaja. Dva različita korisnika testirala su panel od pet uzoraka šest različitih dana, dva puta na dan na svakoj od tri lokacije (240 testova na svakoj lokaciji = 2 korisnika x 6 dana x 2 ponavljanja x 2 pokretanja testa na dan). U ispitivanju su upotrijebljene tri serije kompleta reagensa Xpert MTB/RIF Ultra. Postotak slaganja za svaki član panela predstavljen je prema lokaciji u Tablica 9.

Tablica 9. Sažetak rezultata reproducibilnosti – slaganje prema lokaciji ispitivanja/instrumentu

Uzorak	Lokacija 1 (GeneXpert Dx)	Lokacija 2 (GeneXpert Dx)	Lokacija 3 (Infinity Xpertise)	% ukupnog slaganja prema uzorku
Negativan	98 % (47/48)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	99,3 % (143/144)
Nisko pozitivan na MTB, Otporan na RIF	96 % (46/48)	96 % (46/48)	98 % (47/48)	96,5 % (139/144)
Umjereno pozitivan na MTB, Otporan na RIF	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
Nisko pozitivan na MTB, Osjetljiv na RIF	100 % (48/48)	100 % (48/48)	98 % (47/48)	99,3 % (143/144)
Umjereno pozitivan na MTB, Osjetljiv na RIF	100 % (47/47)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (143/143)

Reproducibilnost testa Xpert MTB/RIF Ultra procijenjena je i prema fluorescentnom signalu izraženom u Ct vrijednostima praga ciklusa za svaki uočeni cilj. Prosječno, standardno odstupanje (SD) i koeficijent varijacije (CV) među lokacijama, među danima, među korisnicima i među pokretanjima testa za svakog člana panela predstavljeni su u Tablica 10. Pokretanje testa definira se kao četiri uzorka po članu panela koje je testirao jedan korisnik na jednoj lokaciji u jednom danu.

Tablica 10. Sažetak podataka o reproducibilnosti

Uzorak		N	Prosječni Ct	Varianca											
				Među lokacijama		Među serijama		Među danima		Među korisnicima		Unutar pokretanja testa/testa		Ukupno	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Negativan	SPCCt	144	25,7	0,00	0,0	0,30	1,1	0,00	0,0	0,70	2,8	1,40	5,5	1,60	6,3
Nisko pozitivan na MTB, otporan na RIF	ICCt	144	20,0	0,00	0,0	0,20	1,1	0,00	0,0	0,40	2,0	0,90	4,6	1,00	5,1
	rpo1C	141	31,0	0,00	0,0	0,50	1,6	0,00	0,0	0,60	2,0	2,20	7,2	2,40	7,7
	rpo2C	141	29,8	0,20	0,7	0,40	1,4	0,00	0,0	0,80	2,5	2,10	7,1	2,30	7,7
	rpo3C	139	33,8	0,20	0,6	0,60	1,9	0,00	0,0	0,70	2,0	2,00	5,9	0,20	6,5
	rpo4C	141	30,4	0,80	2,5	0,50	1,7	0,00	0,0	0,80	2,5	2,50	8,4	2,80	9,2
Umjereno pozitivan na MTB, otporan na RIF	ICCt	144	18,4	0,30	1,4	0,00	0,0	0,10	0,5	0,10	0,3	0,70	3,7	0,80	4,1
	rpo1C	143	28,3	0,40	1,5	0,00	0,0	0,50	1,8	0,00	0,0	1,80	6,4	1,90	6,8
	rpo2C	144	27,2	0,50	1,8	0,00	0,0	0,50	1,8	0,00	0,0	1,80	6,7	1,90	7,1
	rpo3C	143	31,1	0,10	0,4	0,00	0,0	0,50	1,6	0,00	0,0	1,70	5,6	1,80	5,8
	rpo4C	144	27,2	0,80	3,1	0,00	0,0	0,70	2,4	0,00	0,0	2,20	8,0	2,40	8,9
Nisko pozitivan na MTB, osjetljiv na RIF	ICCt	143	23,7	0,00	0,0	0,20	0,6	0,40	1,6	0,00	0,0	1,70	7,4	1,80	7,6
	rpo1C	130	30,2	0,10	0,3	0,00	0,0	0,90	3,0	0,00	0,0	2,60	8,4	2,70	9,0
	rpo2C	130	29,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,80	2,6	0,00	0,0	2,40	8,1	2,50	8,5
	rpo3C	130	31,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,80	2,6	0,20	0,7	2,30	7,4	2,50	7,8
	rpo4C	120	36,1	0,30	0,9	0,40	1,1	0,00	0,0	0,50	1,4	2,10	5,7	2,20	6,1

Uzorak		N	Prosječni Ct	Varijanca											
				Među lokacijama		Među serijama		Među danima		Među korisnicima		Unutar pokretanja testa/testa		Ukupno	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Umjereno pozitivan na MTB, osjetljiv na RIF	ICCt	143	21,8	0,10	0,6	0,00	0,0	0,20	1,1	0,00	0,0	1,20	5,4	1,20	5,5
	rpo1C	142	27,6	0,20	0,7	0,00	0,0	0,30	1,2	0,00	0,0	2,00	7,2	2,00	7,3
	rpo2C	141	26,7	0,00	0,0	0,40	1,4	0,00	0,0	0,10	0,2	1,60	5,9	1,60	6,1
	rpo3C	141	28,9	0,00	0,0	0,30	1,1	0,00	0,0	0,50	1,7	1,70	5,7	1,70	6,0
	rpo4C	140	33,9	0,70	2,0	0,60	1,7	0,00	0,0	0,00	0,0	2,00	5,9	2,20	6,5

16 Karakteristike analitičke učinkovitosti

16.1 Potencijalno ometajuće tvari

Ispitivanje je provedeno u matrici umjetnog iskašljaja da bi se procijenili učinci potencijalno ometajućih tvari s testom Xpert MTB/RIF Ultra. Ukupno su procijenjene 32 potencijalno ometajuće tvari. Potencijalno endogene ometajuće tvari mogu uključivati, ali nisu ograničene na krv, gnoj (bijele krvne stanice), stanice iz respiratornog trakta, mucin, ljudski DNK i želučanu kiselinu. Ostale potencijalno ometajuće tvari mogu uključivati anestetike, antibiotike, antibakterijske i antituberkulozne lijekove, antivirusne lijekove, bronhodilatatore, inhalacijske bronhodilatatore, živo intranazalno cjepivo protiv virusa gripe, germicidnu tekućinu za ispiranje usta, reagense za obradu uzorka, lijekove za *Pneumocystis jiroveci*, homeopatske lijekove za ublažavanje simptoma alergije, kortikosteroide za nos, gelove za nos, raspršivače za nos, oralne anestetike, oralne ekspektoranse, neutralizirajuće pufere i duhan. Te tvari navedene su u Tablica 11 s prikazanim aktivnim sastojcima i testiranim koncentracijama. U to su ispitivanje uključeni pozitivni i negativni uzorci. Pozitivni uzorci testirani su blizu trostruke analitičke granice otkrivanja pomoću stanica BCG-a u osam ili devet ponavljanja. Negativni uzorci, koji se sastoje od tvari koja je odsutna u soju MTB, testirani su na tvar u osam ponavljanja kako bi se odredio učinak na učinkovitost kontrole obrade uzorka (SPC).

Nije uočen inhibicijski učinak ni za koju od 32 testirane potencijalno ometajuće tvari (Tablica 11).

Tablica 11. Ometajuće tvari

Tvar	Opis/aktivni sastojak	Testirana koncentracija
Krv	Krv 5 % v/v (ljudska)	5 % (v/v)
Germicidna tekućina za ispiranje usta	Klorheksidin-glukonat (0,12 %), 20 %-tna otopina	20 % (v/v)
Reagensi za obradu uzorka	Cetilpiridinijev klorid, 1 % u 2 %-tnom NaCl-u	0,5 % (v/v) u 1 %-tnom NaCl-u
Reagensi za obradu uzorka	Cetilpiridinijev klorid, 1 % u 2 %-tnom NALC-u	0,5 % (v/v) u 1 %-tnom NALC-u
Reagensi za obradu uzorka	Cetilpiridinijev klorid, 1 % u 2 %-tnom NALC-u plus 25 mmol citrat	0,5 % (v/v) u 1 %-tnom NALC-u plus 12,5 mmol citrat
Želučana kiselina	Otopina u vodi s pH vrijednosti od 3 do 4, neutralizirana natrijevim bikarbonatom	100 % (v/v)
Ljudski DNK/stanice	HeLa S3, 1x10 ⁷ (HELA 229)	10 ⁶ stanica/ml
Antimikotik; antibiotik	Nistatin oralna suspenzija, 20 %	20 % (v/v)
Bijele krvne stanice (ljudske)	Matrica bijelih krvnih stanica/gnoja (30 % leukocitno trombocitni međusloj; 30 % plazma; 40 % PBS)	100 % (v/v)

Tvar	Opis/aktivni sastojak	Testirana koncentracija
Anestetik (endotrahealna intubacija)	Lidokain HCl 4 %	30 % (v/v)
Otopine za raspršivanje	NaCl 5 % (w/v)	5 % (w/v)
Mucin	Mucin 5 % (w/v)	5 % (w/v)
Antibakterijski, sistemski	Levofloksacin 25 mg/ml	5 mg/ml
Kortikosteroidi za nos	Flutikazon 500 mcg/raspršivač	5 µg/ml
Inhalacijski bronhodilatatori	Albuterol sulfat 2 mg/5 ml	75 µg/ml (w/v); 100 µg/ml (w/v)
Oralni anestetici	Orajel (20 %-tni benzokain)	5 % (w/v)
Antivirusni lijekovi	Aciklovir, IV 50 mg/ml	50 µg/ml
Antibiotik, mast za nos	Neosporin (400 U bacitracin, 3,5 mg neomicin, 5000 jedinica polimiksin B)	5 % (w/v)
Duhan	Nicogel (40 %-tni ekstrakt duhana)	0,5 % (w/v)
Antituberkulozni lijekovi	Streptomycin 1 mg/ml	25 µg/ml
Antituberkulozni lijekovi	Etambutol 1 mg/ml	50 µg/ml
Antituberkulozni lijekovi	Izoniazid 1 mg/ml	50 µg/ml
Oralni ekspektoransi	Guaifenesin (400 mg/tableta)	5 mg/ml
Antituberkulozni lijekovi	Pirazinamid 10 mg/ml	100 µg/ml
Gel za nos (homeopatski)	Gel Zicam	50 % (w/v)
Raspršivač za nos	Fenilefrin 1 %	0,5 % (v/v)
Antituberkulozni lijekovi	Rifampicin 1 mg/ml	25 µg/ml
Lijek za ublažavanje simptoma alergije (homeopatski)	Ulje čajevca (<5% Cineole, >35 %-tni terpinen-4-ol)	0,5 % (v/v)
Živo intranazalno cjepivo protiv virusa gripe	Živo cjepivo protiv virusa gripe FluMist	5 %
Lijek za <i>Pneumocystis jiroveci</i>	Pentamidin	300 ng/ml
Bronhodilatator	Epinefrin (formulacija za ubrizgavanje)	1 mg/ml
Antituberkulozni lijekovi	Amoksicilin	25 µg/ml

16.2 Analitička osjetljivost (granica otkrivanja)

Ispitivanja su provedena da bi se odredila analitička osjetljivost ili granica otkrivanja (LoD) za test Xpert MTB/RIF Ultra pomoću soja *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv i *Mycobacterium bovis* BCG (bacila Calmette-Guerin) razrijeđenog u ljudskom iskašljaju i sedimentu ljudskog iskašljaja. Rezultat pozitivan na MTB temelji se na otkrivanju ciljeva IS1081/IS6110.

Ispitivanja su provedena i da bi se odredila analitička osjetljivost ili granica otkrivanja za test Xpert MTB/RIF Ultra za otkrivanje otpornosti na RIF pomoću dobro karakteriziranog kliničkog soja bakterije *Mycobacterium tuberculosis* otporne na rifampin (TDR125) koji nosi mutaciju D516V u „jezgrenoj” regiji 81-baznog para gena *rpoB* razrijeđenog u ljudskom iskašljaju i sedimentu ljudskog iskašljaja.

LoD je najniža koncentracija prijavljena u CFU/ml koja se može reproducibilno razlikovati od negativnih uzoraka sa 95 %-tnom pouzdanosti. Procijenjeno je najmanje 20 ponavljanja za dva soja pri pet do osam koncentracija tijekom tri dana, a LoD je određen pomoću analize probit. Navedeni LoD sažet je u tablici u nastavku.

Tablica 12. Podaci analize probit i navedeni LoD u CFU/ml

Vrsta mikobakterije	Vrsta uzorka	Navedeni LoD
<i>M. bovis</i> (BCG)	Iskašljaj	30
	Sediment iskašljaja	33
<i>M. tuberculosis</i> (H37Rv)	Iskašljaj	12
	Sediment iskašljaja	11

Tablica 13. Podaci analize probit i navedeni LoD otpornosti na RIF u CFU/ml

Vrsta mikobakterije	Vrsta uzorka	Navedeni LoD
<i>M. tuberculosis</i> (TDR125)	Iskašljaj	1093
	Sediment iskašljaja	4000

16.3 Analitička specifičnost (isključivost)

Kulture 30 sojeva mikobakterija koje nisu tuberkuloza (NTM) testirane su testom Xpert MTB/RIF Ultra. Tri ponavljanja svakog izolata nabodena su u pufer i testirana pri koncentraciji od $\geq 10^6$ CFU/ml. Pogledajte Tablica 14.

Tablica 14. NTM sojevi testirani za specifičnost

<i>Mycobacterium avium</i> podvrsta <i>avium</i>	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>
<i>Mycobacterium celatum</i>	<i>Mycobacterium simiae</i>
<i>Mycobacterium chelonae</i>	<i>Mycobacterium szulgai</i>
<i>Mycobacterium gordonae</i>	<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>
<i>Mycobacterium haemophilum</i>	<i>Mycobacterium triviale</i>
<i>Mycobacterium abscessus</i>	<i>Mycobacterium vaccae</i>
<i>Mycobacterium asiaticum</i>	<i>Mycobacterium xenopi</i>
<i>Mycobacterium flavescens</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
<i>Mycobacterium fortuitum</i> podvrsta <i>fortuitum</i>	<i>Mycobacterium interjectum</i>
<i>Mycobacterium gastri</i>	<i>Mycobacterium peregrinum</i>
<i>Mycobacterium genavense</i>	<i>Mycobacterium mucogenicum</i>
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Mycobacterium goodii</i>
<i>Mycobacterium kansasii</i>	<i>Mycobacterium shimodei</i>
<i>Mycobacterium malmoeense</i>	<i>Mycobacterium phlei</i>
<i>Mycobacterium marinum</i>	<i>Mycobacterium terrae</i>

Pod uvjetima iz ispitivanja svi su NTM izolati prijavljeni kao **MTB NIJE OTKRIVEN (MTB NOT DETECTED)**. U ispitivanje su uključene pozitivne i negativne kontrole. Specifičnost je iznosila 100 %.

Nadalje, da bi se odredilo hoće li visoke koncentracije NTM-a ometati otkrivanje niskih razina (3X LoD) TB-a, šest reprezentativnih sojeva za sojeve navedene u Tablica 14 pomiješano je sa sojem TB H37Rv i bakterijom *M. bovis* u iskašljaju do konačne koncentracije od 10^6 CFU/ml NTM-a i 36 CFU/ml bakterije *M. tuberculosis* H37Rv, odnosno 90 CFU/ml bakterije *M. bovis*.

Mikrobna interferencija netuberkuloznih mikobakterija (NTM) u prisutnosti H37Rv-mc2 6030 procijenjena je pomoću šest reprezentativnih sojeva NTM-a (*M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. celatum*, *M. abscessus* 19977 i *M. gordonae*). Za svaki je ciljani soj i svaku kombinaciju konkurentnog soja testirano pet ponavljanja. Uzorci 5 ponavljanja pri 3x LoD-

a dali su 5 od 5 valjanih rezultata za svih 6 mješavina kombinacija pri CFU/ml od $36 \geq 1 \times 10^6$ za H37Rv-mc2 6030. Pod uvjetima iz ovog ispitivanja visoke koncentracije NTM-a nisu spriječile otkrivanje niskih razina bakterije *Mycobacterium tuberculosis* pomoću testa Xpert MTB/RIF Ultra. Nisu uočeni konkurentni inhibicijski učinci.

Mikrobna interferencija netuberkuloznih mikobakterija (NTM) u prisutnosti stanica MTB-BCG procijenjena je pomoću osam reprezentativnih sojeva NTM-a (*M. avium* 19250, *M. intracellulare* 35771, *M. kansasii* 12478, *M. kansasii* 35776, *M. celatum* 51131, *M. abscessus* 700868, and *M. goodii* 14470, *M. goodii* 35760). Za svaki je ciljani soj i svaku kombinaciju konkurentnog soja testirano pet ponavljanja. Uzorci 5 ponavljanja dali su 5 od 5 valjanih rezultata za svih 8 mješavina kombinacija. Mješavine su testirane u CFU/ml u omjeru od 90 do $\geq 1 \times 10^6$ stanica MTB-BCG. Pod uvjetima iz ovog ispitivanja visoke koncentracije NTM-a nisu spriječile otkrivanje niskih razina bakterije *Mycobacterium tuberculosis* pomoću testa Xpert MTB/RIF Ultra. Nisu uočeni konkurentni inhibicijski učinci.

16.4 Vrste/sojevi testirani za specifičnost

Sljedeći mikroorganizmi, uključujući gram-negativne bakterije, gram-pozitivne bakterije, gljivične organizme, viruse i kvasce, testirani su na lažnu pozitivnost u testu Xpert MTB/RIF Ultra. Ponavljanja svakog izolata dodana su u pufer i testirana pri koncentraciji od $\geq 10^6$ CFU/ml (bakterijski i gljivični sojevi) ili $\geq 10^6$ kopija/ml (genomski DNK za bakterije i gljivice) i $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml (virusni sojevi).

Tablica 15. Vrste i sojevi

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Respiratorni sincicijski virus tip B</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Rinovirus</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Chlamydomydia pneumoniae</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Nocardia asteroides</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Virus humane parainfluenze tip 1</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Koronavirus</i>	<i>Virus humane parainfluenze tip 2</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Virus humane parainfluenze tip 3</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Respiratorni sincicijski virus tip A</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Humani metapneumovirus (hMPV) 16 tip A1</i>		

Pod uvjetima iz ispitivanja svi su mikroorganizmi prijavljeni kao **MTB NIJE OTKRIVEN (MTB NOT DETECTED)**. U ispitivanju su uključene pozitivne i negativne kontrole. Specifičnost je iznosila 100 %.

16.5 Analitička uključivost

Četrdeset i jedan soj MTB-kompleksa koji se sastoji od 20 sojeva osjetljivih na rifampin s jezgrenom regijom divljeg tipa *rpoB* i 21 soj otpornog na rifampin s pojedinačnim polimorfizmima nukleotida (SNP-ovima) u jezgrenom regiji *rpoB* testirano je u četiri ponavljanja testom Xpert MTB/RIF Ultra. Uzorci DNK iz ukupno 41 soja MTB-a testirani su na instrumentu GeneXpert pomoću protokola Xpert MTB/RIF Ultra modificiranog za testiranje DNK. Komponente konačne reakcije i uvjeti cikliranja PCR-a bili su neizmijenjeni u odnosu na protokol predviđen za testiranje uzorka bolesnika. Dvanaest sojeva dolazilo je iz zbirke SZO-a/TDR-a, a 6 iz laboratorijske zbirke Sveučilišta Rutgers. Kolektivno, ti sojevi predstavljaju izolate iz 8 zemalja i sadržavali su 21 izolat otporan na RIF koji su se sastojali od jedinstvenih, dvostrukih i trostrukih mutacija jezgrene regije *rpoB*. Uzorci su testirani dodavanjem 100 µl uzorka DNK u komoru za lizat u ulošku. Negativne reakcije upotrebljavale su pufer kao uzorak. Test je ispravno identificirao svih 20 sojeva divljeg tipa i ispravno

je identificirao otpornost na rifampin kod 21 soja otpornog na rifampin s mutacijama u jezgrenoju regiji *rpoB*. Za 3 mutantna soja dobiveni su neodređeni rezultati za rifampin. Bakterije *M. caprae* i *M. pinnipedii* nisu procijenjene u sklopu ovog ispitivanja.

Termolizati mutanog soja (toplinski obrađene stanice) i nukleinske kiseline (DNK) dobiveni su iz Belgije i sveučilišta Rutgers New Jersey, a potječu iz Centara za kontrolu i prevenciju bolesti (CDC), Američke zbirke tipskih kultura (ATCC) i Fonda Ujedinjenih naroda za djecu/UNDP-a/Svjetske banke/zbirke Specijalnog programa za istraživanje i obuku tropskih bolesti SZO-a. Test je ispravno identificirao svih 20 sojeva divljeg tipa i ispravno je identificirao otpornost na rifampin kod svakog od 21 soja otpornog na rifampin s mutacijama u jezgrenoju regiji *rpoB*.

16.6 Analitička inaktivacija mikobakterija u uzorcima iskašljaja

Mogućnost dezinfekcije reagensa za uzorak Xpert MTB/RIF Ultra određena je pomoću standardizirane kvantitativne metode tuberkulocidne kulture.¹² Uzorci iskašljaja nabodeni su visokom koncentracijom aktivne bakterije *M. bovis*, pomiješani s reagensom za uzorak u omjeru 2:1 i inkubirani 15 minuta. Nakon inkubacije mješavina reagensa za uzorak i iskašljaja neutralizirana je razrjeđivanjem i filtracijom, a zatim je uzgojena. Održivost organizama bakterije *M. bovis* iz obrađenog iskašljaja smanjena je za najmanje 6 log u odnosu na neobrađenu kontrolu.

Svaki laboratorij mora odrediti učinkovitost svojstava dezinfekcije reagensa za uzorak koristeći se vlastitim standardiziranim metodama i mora se pridržavati preporučenih propisa o biološkoj sigurnosti.

17 Reference

1. Izvješće SZO-a za 2018. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274453/9789241565646-eng.pdf?ua=1>.
2. Globalno izvješće SZO-a o tuberkulozi za 2019. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329368/9789241565714-eng.pdf>.
3. Anti-tuberculosis resistance in the world: fourth global report. WHO/HTM/TB/2008.394.
4. Morris SL, Bai GH, 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.
5. Rattan A, Kalia A, Ahmad N. 1998. Multidrug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis*: Molecular Perspectives, *Emerging Infectious Diseases*, Vol.4 No.2, <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no2/rattan.htm>.
6. Francis J. Curry National Tuberculosis Center and California Department of Public Health, 2008: Drug-Resistant Tuberculosis, A Survival Guide for Clinicians, Second Edition.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 1993. Richmond JY and McKinney RW (eds). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
9. UREDBA (EZ) br. 1272/2008 EUROPSKOG PARLAMENTA I VIJEĆA od 16. prosinca 2008. o razvrstavanju, označivanju i pakiranju tvari i smjesa, o izmjeni i stavljanju izvan snage Popisa oznaka obavijesti, Direktive 67/548/EEZ i Direktive 1999/45/EZ i o izmjeni Uredbe (EZ) br. 1907/2006.
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazardous Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpart Z).
11. Kent PT, Kubica GP. 1985. Public Health Mycobacteriology—A Guide for Level III Laboratory, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546.
12. 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.

18 Lokacije glavnih sjedišta tvrtke Cepheid

Glavno sjedište

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefon: + 1 408 541 4191
 Telefaks: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Europsko sjedište

Cepheid Europe SAS
 Vira Solelh
 81470 Maurens-Scopont
 France

Telefon: + 33 563 825 300
 Telefaks: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

19 Tehnička pomoć

Prije nego nam se obratite

Prije nego se obratite Tehničkoj podršci društva Cepheid, prikupite sljedeće podatke:

- naziv proizvoda
- broj serije
- serijski broj instrumenta
- poruke o greškama (ako postoje)
- verzija softvera i, ako je primjenjivo, broj servisne oznake računala

Tehnička podrška u Sjedinjenim Američkim Državama

Telefon: + 1 888 838 3222

E-pošta: techsupport@cepheid.com

Tehnička podrška u Francuskoj

Telefon: + 33 563 825 319

E-pošta: support@cepheideurope.com

Podaci o kontaktu za sve urede tvrtke Cepheid za tehničku podršku dostupni su na našoj internetskoj stranici:
www.cepheid.com/en/support/contact-us.

20 Tablica simbola

Simbol	Značenje
	Kataloški broj
	<i>In vitro</i> dijagnostički medicinski proizvod
	Ne upotrebljavati višekratno
	Šifra serije
	Proučite upute za upotrebu

Simbol	Značenje
	Oprez
	Proizvođač
	Država proizvodnje
	Sadrži dovoljno za n testova
CONTROL	Kontrola
	Rok valjanosti
	Oznaka CE – sukladnost s europskim propisima
	Ograničenje temperature
	Biološki rizici
	Zapaljive tekućine
	Nagrizanje kože
	Reproduktivna i razvojna toksičnost
CH REP	Ovlašteni predstavnik u Švicarskoj
	Uvoznik



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden



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



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



21 Povijest revizija

Opis promjena: 301-5987, Rev. M do Rev. N

Odjeljak	Opis promjene
8,1	Dodani podaci o pipeti za jednokratnu upotrebu.
9	Manje revizije.
10.3	Navedeni specifični uzorak.
11.1.1	Dodane informacije o tome da se instrument ne smije iskopčati.
14	Dodana interferencija testa.
15.1, 15.2	Ažurirane informacije o uzorku.
15.7, 16	Ispravljeno mjesto 3 u Xpertise. Tablica 10 premještena iz odjeljka 16 u odjeljak 15.7.
16.1, 16.2, 16.4	Manje revizije.
16.3	Dodana mikrobna interferencija netuberkuloznih mikobakterija (NTM).
16.5	Dodane su informacije o termolizatima mutantnog soja (toplinski obrađenim stanicama) i nukleinskim kiselinama (DNK).