

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

REF GXMTB/RIF-ULTRA-10

REF GXMTB/RIF-ULTRA-50

Pokyny na používanie



Vyhlasenia o ochranných známkach, patentoch a autorských právach

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®, logo Cepheid, GeneXpert® a Xpert® sú ochranné známky spoločnosti Cepheid, registrované v USA a iných krajinách.

Všetky ostatné obchodné známky sú majetkom ich príslušných vlastníkov.

KÚPOU TOHTO PRODUKTU SA NA KUPUJÚCEHO PRENÁŠA NEPRENOSNÉ PRÁVO NA POUŽITIE V SÚLADE S TÝMTO NÁVODOM NA POUŽÍVANIE. ŽIADNE ĎALŠIE PRÁVA SA NEPRENÁŠAJÚ VÝSLOVNE, DOMNENE ANI FORMOU ESTOPPELU. KÚPOU TOHTO PRODUKTU SA TAKISTO NEPRENÁŠAJÚ ŽIADNE PRÁVA NA ĎALŠÍ PREDAJ TOHTO PRODUKTU.

© 2017–2025 Cepheid.

Popis zmien uvádza časť Časť 21 História revízií.

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

Pre *in vitro* diagnostiku

1 Obchodný názov

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

2 Bežne používaný názov

Xpert MTB/RIF Ultra

3 Určené použitie

Test Xpert MTB/RIF Ultra, vykonaný na GeneXpert[®] Instrument Systems je semikvantitatívny diagnostický test *in vitro* s vnorenou polymerázovou reťazovou reakciou (PCR) v reálnom čase na detekciu DNA komplexu *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) v nespracovaných vzorkách spúta alebo koncentrovaných sedimentoch pripravených z indukovaného alebo expektorovaného spúta. Vo vzorkách, v ktorých sa zistí komplex *Mycobacterium tuberculosis*, môže Xpert MTB/RIF Ultra zistiť aj mutácie génu *rpoB* súvisiace s rezistenciou na rifampicín.

Test Xpert MTB/RIF Ultra je určený na použitie so vzorkami od pacientov, u ktorých existuje klinické podozrenie na tuberkulózu (TBC) a ktorí nedostali žiadnu antituberkulóznu liečbu alebo za posledných 6 mesiacov dostali menej ako 3 dni liečby. Tento test je určený ako pomôcka pri diagnostike pľúcnej tuberkulózy, ak sa používa v spojení s klinickými a inými laboratórnymi nálezmi.

4 Súhrn a vysvetlenie

Na celom svete je MTB infikovaných približne 1,7 miliardy ľudí.¹ V roku 2018 sa aktívne ochorenie vyvinulo u 10,0 milióna ľudí a 1,45 milióna ľudí prišlo v dôsledku tohto ochorenia o život.² Cesta prenosu pľúcnej TBC vedie vzduchom, čo z nej robí vysoko prenosné ochorenie. Vzhľadom na infekčný charakter TBC pľúc je rýchla a presná diagnostika dôležitým prvkom liečby a kontroly TBC.

Liečba zahŕňa dlhodobé podávanie viacerých liekov a je zvyčajne veľmi účinná. Kmene *M. tuberculosis* sa však môžu stať rezistentnými voči jednému alebo viacerým liekom, čo značne sťažuje vyliečenie. Štyri bežné lieky prvej línie používané v protituberkulóznej liečbe sú izoniazid (INH), rifampicín (známy aj ako rifampicín, RIF), etambutol (EMB) a pyrazinamid (PZA). Ako dokumentuje Svetová zdravotnícka organizácia (WHO), rezistencia na RIF sa sama o sebe vyskytuje zriedkavo a zvyčajne indikuje rezistenciu na viaceré iné lieky proti TBC.³ Najčastejšie sa vyskytuje u kmeňov rezistentných na viaceré lieky (MDR-TB) (definovaných ako rezistentné na RIF aj INH) a hlásená frekvencia u takýchto izolátov je viac ako 95 %.^{4,5,6} Rezistencia na RIF alebo iné lieky prvej voľby zvyčajne indikuje potrebu úplného testovania citlivosti vrátane testovania na lieky druhej voľby.

Molekulárna detekcia tuberkulózy a mutácií génu *rpoB* spojených s rezistenciou na RIF výrazne skracuje čas potrebný na diagnostiku tuberkulózy citlivej na lieky aj MDR. S testom Xpert MTB/RIF Ultra sa to dá dosiahnuť v nespracovaných vzorkách spúta a v pripravených sedimentoch za menej ako 80 minút. Rýchle zistenie rezistencie na MTB a RIF umožňuje lekárovi urobiť zásadné rozhodnutia týkajúce sa liečby pacienta počas jedného lekárskeho stretnutia.

5 Princíp postupu

Systém GeneXpert Instrument Systems integruje a automatizuje prípravu vzoriek, amplifikáciu nukleových kyselín a detekciu cieľových sekvencií v jednoduchých alebo zložitých vzorkách pomocou testu PCR a detekciu vrcholu topenia. Systém sa skladá z prístroja, osobného počítača, snímača čiarových kódov a predinštalovaného softvéru na vykonávanie testov so vzorkami pacienta a prezeranie výsledkov. Systém si vyžaduje použitie jednorazových zásobníkov GeneXpert, ktoré obsahujú PCR činidlá a v ktorých prebieha proces PCR. Vzhľadom na to, že zásobníky tvoria jeden celok, krížová kontaminácia medzi vzorkami je minimalizovaná. Kompletný popis systému uvádza *GeneXpert Dx System Operator Manual*, *GeneXpert Edge System User's Guide* alebo *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Test Xpert MTB/RIF Ultra obsahuje činidlá na detekciu rezistencie na MTB a RIF a kontrolu spracovania vzorky (SPC) na kontrolu adekvátneho spracovania cieľových baktérií a na monitorovanie prítomnosti inhibítorov v reakcii PCR a následnej detekcie vrcholu topenia. Kontrola overenia sondy (Probe Check Control, PCC) overuje rehydratáciu reagentov, plnenie PCR skúmavky do zásobníka, integritu sondy a stabilitu farbiva.

Primery v teste Xpert MTB/RIF Ultra amplifikujú časť génu *rpoB*, ktorá obsahuje 81 párov báz „jadrovej“ oblasti a časti cieľových sekvencií multikopírovaných inzertných prvkov *IS1081* a *IS6110*. Analýza tavenia so štyrmi sondami *rpoB* dokáže rozlíšiť medzi konzervovanou sekvenciou divokého typu a mutáciami v jadrovej oblasti, ktoré sú spojené s rezistenciou voči RIF. Dve sondy s inzertným elementom zlepšujú detekciu komplexu *Mycobacterium tuberculosis* vzhľadom na cieľové sekvencie s viacerými kópiami inzertných elementov vo väčšine kmeňov TBC.

6 Činidlá a nástroje

6.1 Poskytované materiály

Súpravy testu Xpert MTB/RIF Ultra obsahujú dostatok činidiel na spracovanie 10 vzoriek alebo 50 vzoriek. Súpravy obsahujú nasledujúce:

Xpert MTB/RIF Ultra Zásobníky s integrovanými reakčnými skúmavkami	10 v každej súprave	50 v každej súprave
- Guľôčka 1 a guľôčka 2 (lyofilizované) - Guľôčka 3 (lyofilizovaná) - Činidlo 1 - Činidlo 2	2 na každý zásobník 1 z každého na zásobník 4 ml na každý zásobník 4 ml na každý zásobník	2 na každý zásobník 1 z každého na zásobník 4 ml na každý zásobník 4 ml na každý zásobník
Fľaše s reagensiou na vzorku	10	50
Činidlo na vzorku	8 ml v každej fľaši	8 ml v každej fľaši
Jednorazové prenosové pipety	12 v každej súprave	60 v každej súprave
CD	1 v každej súprave	1 v každej súprave
- Súbory s definíciou analýzy (ADF) - Pokyny na importovanie ADF do softvéru - Pokyny na používanie (Príbalová informácia)		

Poznámka Reagencia pre vzorky (Sample Reagent, SR) môže byť bezfarebná, žltá až jantárová. Farba môže byť časom intenzívnejšia, nemá však žiaden vplyv na výkon.

Poznámka Karty bezpečnostných údajov (Safety Data Sheets, SDS) sú dostupné na adrese www.cepheid.com alebo www.cepheidinternational.com na karte **PODPORA (SUPPORT)**.

Poznámka Hovädzí sérový albumín (BSA) v guľôčkach tohto produktu bol vyprodukovaný a vyrobený výhradne z hovädzej plazmy pochádzajúcej z USA. Zvieratám nebol podávaný žiadny proteín z prežúvavcov ani iné živočíšne bielkoviny; zvieratá prešli testovaním pred porážkou a po nej. Počas spracovania nedochádzalo k miešaniu materiálu s inými živočíšnymi materiálmi.

Poznámka Prenosové pipety majú jednu značku predstavujúcu minimálny objem upravenej vzorky nevyhnutný na prenos do zásobníka. Používajte ich iba na tento účel. Všetky ostatné pipety musí zabezpečiť laboratórium.

6.2 Skladovanie a manipulácia

- Zásobníky testu Xpert MTB/RIF Ultra skladujte v teplote 2 – 28 °C.
- Kryt zásobníka otvárajte, až keď ste pripravení na vykonanie testovania.
- Nepoužívajte činidlá ani zásobníky, ktoré sú po dátume expirácie.

7 Požadované materiály, ktoré nie sú súčasťou balenia

- GeneXpert Dx System, GeneXpert Infinity System alebo GeneXpert Edge System (katalógové číslo sa líši podľa konfigurácie): Nástroj GeneXpert, počítač s proprietárnym softvérom GeneXpert verzie 4.7b alebo novšej (GeneXpert Dx System), Xpertise™ 6.4b alebo novší (GeneXpert Infinity System/GeneXpert Edge System), GeneXpert Edge verzie 1.0 () alebo novšej, snímač čiarových kódov a príručka operátora
- Tlačiareň: Ak sa vyžaduje tlačiareň, vhodnú tlačiareň vám odporučí predajný zástupca spoločnosti Cepheid.
- Sterilné zberné nádoby so skrutkovacím uzáverom odolné proti úniku
- Jednorazové rukavice
- Etikety a/alebo nezmazateľný popisovač
- Sterilné pipety na spracovanie vzoriek

8 Upozornenia, bezpečnostné opatrenia a chemické riziká

8.1 Upozornenia a preventívne opatrenia

- So všetkými biologickými vzorkami vrátane použitých zásobníkov zaobchádzajte, akoby boli schopné prenosu infekčných látok. Nakoľko často nie je možné zistiť, ktoré vzorky môžu byť infekčné, so všetkými biologickými vzorkami je potrebné zaobchádzať so štandardnými bezpečnostnými opatreniami. Usmernenia pre manipuláciu so vzorkami sú k dispozícii v Centrách na kontrolu a prevenciu ochorení v USA⁷ a v Inštitúte pre klinické a laboratórne normy (CLSI).⁸
- Pri manipulácii so vzorkami a činidlami používajte jednorazové ochranné rukavice, laboratórne plášte a ochranu očí. Po manipulácii so vzorkami a testovacími činidlami si dôkladne umyte ruky.
- Pri práci s chemikáliami a pri manipulácii s biologickými vzorkami dodržiavajte bezpečnostné postupy vašej inštitúcie.
- Činidlá testu Xpert MTB/RIF Ultra nezamieňajte za iné činidlá.
- Kryt zásobníka testu Xpert MTB/RIF Ultra otvárajte, iba keď pridávate upravené vzorky.
- Nepoužívajte súpravu, ktorá vám po vybalení spadla.
- Nepoužívajte zásobník, ktorý po pridaní upravenej vzorky spadol alebo sa s ním triaslo, prípadne ktorého obsah sa vylial. Ak po otvorení veka dôjde k traseniu zásobníkom alebo jeho pádu, výsledok testu môže byť falošný alebo neurčitý.
- Štítok s ID vzorky neumiestňujte na veko zásobníka ani na štítok s čiarovým kódom.
- Nepoužívajte zásobník, ak je vlhký alebo ak je poškodené tesnenie veka.
- Nepoužívajte zásobník, ktorý má poškodenú reakčnú skúmavku.
- Ak sa spracúva viac ako jedna vzorka naraz, pred spracovaním nasledujúcej vzorky otvorte iba jedno veko zásobníka, pridajte vzorku upravenou reagensiou na vzorky a zatvorte zásobník. Medzi jednotlivými vzorkami si vymeňte rukavice.
- Každý zásobník testu Xpert MTB/RIF Ultra sa používa na spracovanie jediného testu. Spracované zásobníky nepoužívajte opakovane.
- Jednorazová pipeta sa používa na prenos jedinej vzorky. Jednorazové pipety nepoužívajte opakovane.
- Pri manipulácii so vzorkami každého pacienta je potrebné dodržiavať správne laboratórne postupy a vymeniť rukavice, aby sa zabránilo kontaminácii vzoriek alebo reagensii. Pravidelne čistite pracovnú plochu/plochy 10 % bieliacim prostriedkom, potom povrch pred a po spracovaní vzoriek znovu utrite 70 % etanolom alebo izopropylalkoholom.
- Biologické vzorky, prenosové zariadenia a použité zásobníky sa považujú za zdroj prenosu infekčných agens, čo si vyžaduje štandardné bezpečnostné opatrenia. Pri správnom zneškodňovaní použitých zásobníkov a nepoužitých činidiel sa riadte postupmi ochrany životného prostredia pri zneškodňovaní odpadov svojej inštitúcie. Tieto materiály môžu mať vlastnosti chemicky nebezpečného odpadu vyžadujúceho osobitné národné alebo regionálne postupy zneškodňovania. Ak národné alebo regionálne predpisy neposkytujú jasné pokyny pre správnu likvidáciu, biologické vzorky a použité zásobníky je potrebné likvidovať podľa pokynov WHO (Svetová zdravotnícka organizácia) pre nakladanie so zdravotníckym odpadom a jeho zneškodňovanie.

8.2 Chemické nebezpečenstvo^{9,10}

Činidlo na vzorku

- Obsahuje izopropylalkohol
- Obsahuje hydroxid sodný
- Signalizačné heslo: NEBEZPEČENSTVO
- Piktogramy nebezpečenstva GHS OSN: 

Výstražné upozornenia GHS OSN

- Horľavá kvapalina a pary
- Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí.
- Spôsobuje vážne poškodenie očí.
- Podozrenie, že spôsobuje genetické poškodenie.
- Podozrenie, že poškodzuje plodnosť alebo nenarodené dieťa.
- Pri dlhodobej alebo opakovanej expozícii môže spôsobiť poškodenie orgánov.

Bezpečnostné vyhlásenia

Prevenčia

- Pred použitím sa oboznámte s osobitnými pokynmi.
- Nepoužívajte, kým si neprečítate a nepochopíte všetky bezpečnostné opatrenia.
- Chráňte pred teplom, iskrami, otvoreným ohňom a/alebo horúcimi povrchmi. Zákaz fajčenia.
- Nádobu uchováajte tesne uzavretú.
- Nevdychujte prach/dym/plyn/hmlu/pary/aerosóly.
- Po manipulácii starostlivo umyte.
- Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.
- Používajte predpísané osobné ochranné prostriedky.

Reakcia

- V prípade požiaru: Na hasenie použite vhodné hasiace médium.
- PO VDÝCHNUTÍ: Presuňte postihnutého na čerstvý vzduch a nechajte ho oddychovať v polohe, ktorá mu umožní pohodlné dýchanie.
- Okamžite volajte Národné toxikologické informačné centrum alebo lekára.
- PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Odstráňte/vyzlečte všetky kontaminované časti odevu. Pokožku opláchnite vodou/sprchou.
- Kontaminovaný odev pred ďalším použitím vyperte.
- V prípade špecifického ošetrovania si pozrite doplňujúce informácie o prvej pomoci.
- PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.
- PO POŽITÍ: Vypláchnite ústa. NEVYVOLÁVAJTE zvracanie.
- Po expozícii alebo podozrení z nej: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.
- Ak pociťujete zdravotné problémy, vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

Skladovanie/Likvidácia

- Obsah a/alebo nádobu zlikvidujte v súlade s miestnymi, regionálnymi, národnými a/alebo medzinárodnými predpismi.

9 Odber, preprava a uskladnenie vzoriek

Odber vzoriek

Pri odbere vzoriek postupujte podľa protokolu svojej inštitúcie.

Odoberte spútum alebo aerosólom indukované spútum podľa štandardných postupov svojej inštitúcie. Testujte nespracované spútum alebo koncentrovaný/dekontaminovaný sediment spúta. Na určenie primeraného objemu vzorky si pozrite tabuľku nižšie.

Tabuľka 1. Požadovaný objem vzorky

Typ vzorky	Minimálny objem pre jeden test	Maximálny objem vzorky	Pomer vzorky a reagensie (SR)
Sediment spúta	0,5 ml	2,5 ml	1,3 ^a
Nespracované spútum	1 ml	4,0 ml	1:2

^a Pomer vzorky k SR 1:2 by sa mal použiť pri objeme vzorky 0,7 ml alebo väčšom na jeden test.

Skladovanie a preprava

Pred ošetrením čídlom vzorky

Sediment spúta: Resuspendovaný sediment skladujte pri teplote 2 – 8 °C až 7 dní.

Nespracované spútum: Pokiaľ je to možné, pred spracovaním spútum prepravujte a skladujte pri teplote 2 – 8 °C. Ak je to nutné, nespracované vzorky spúta možno skladovať pri teplote maximálne 35 °C počas najviac troch dní a potom pri teplote 2 – 8 °C ďalších sedem dní.

10 Postup analýzy

10.1 Postup pre dekontaminovaný koncentrovaný sediment spúta

Poznámka Odmietnite vzorky so zjavnými časticami potravín alebo inými pevnými časticami.

Požiadavky týkajúce sa objemu: Pomocou testu Xpert MTB/RIF Ultra možno testovať sedimenty spúta pripravené podľa metódy Kenta a Kubicu¹¹ a resuspendované v 67 mM fosfátovom/H₂O pufri). Po resuspendovaní si ponechajte aspoň 0,5 ml resuspendovaného sedimentu na test Xpert MTB/RIF Ultra. Pre všetky objemy menšie ako 0,7 ml vykonajte kroky 1 – 6. Tieto kroky vyžadujú 3 diely vzorkovacieho čidla (SR) na 1 diel sedimentu, aby sa vytvoril dostatočný objem (~2 ml) na optimálne vykonanie testu.

Ak je objem vzorky rovný alebo väčší ako 0,7 ml, primeraný testovací objem sa môže vytvoriť pridaním 2 dielov SR k 1 dielu sedimentu. V tomto prípade sa pridá 1,4 ml SR k 0,7 ml sedimentu. Tieto objemy sa odstupňujú v pomere 2 diely SR na 1 diel sedimentu.

1. Uved'te zásobník na izbovú teplotu. Každý zásobník testu Xpert MTB/RIF Ultra označte ID vzorky. Pozrite Obrázok 1.

Poznámka Napíšte na bočnú stranu kazety alebo pripevnite identifikačný štítok. Štítok nelepte na veko zásobníka ani na existujúci 2D čiarový kód na zásobníku.

2. Sediment premiešajte vírením alebo pomocou pipety nasajte a vysypte materiál toľkokrát, aby sa zabezpečilo, že všetky organizmy budú v suspenzii.

3. Pomocou prenosovej pipety preneste 0,5 ml celkovej resuspendovanej pelety do kónickej skúmavky so skrutkovacím uzáverom na test Xpert MTB/RIF Ultra.

Poznámka Ak sa resuspendované sedimenty nespracúvajú okamžite, skladujte ich pri teplote 2 až 8 °C. Test Xpert MTB/RIF Ultra nevykonávajte na resuspendovanom sedimente, ktorý bol > 7 dní v chladničke.

4. Pomocou prenosovej pipety preneste 1,5 ml reagensie na vzorky (SR) Xpert MTB/RIF Ultra do 0,5 ml resuspendovaného sedimentu. Uzáver bezpečne utiahnite.

5. Silno pretrepte 10- až 20-krát alebo miešajte aspoň 10 sekúnd.

Poznámka Jeden pohyb dozadu a dopredu predstavuje jedno zatrasenie.

6. Inkubujte 10 minút pri izbovej teplote a potom vzorkou silno potraste 10- až 20-krát alebo ju aspoň 10 sekúnd miešajte.

7. Vzorku inkubujte pri izbovej teplote ďalších 5 minút.

10.2 Postup pri nespracovanom spúte

Požiadavka na objem: vyžaduje sa ≥ 1 ml nespracovaného spúta.

1. Uveďte zásobník na izbovú teplotu. Každý zásobník testu Xpert MTB/RIF Ultra označte ID vzorky. Pozrite Obrázok 1.

Poznámka

Napište na bočnú stranu kazety alebo pripevnite identifikačný štítok. Štítok nelepte na veko zásobníka ani na existujúci 2D čiarový kód na zásobníku.



Obrázok 1. Písanie na kazetu permanentným značkovacím perom

2. Po prijatí vzorky do nepriepustnej nádoby na odber spúta opatrne otvorte veko nádoby na odber spúta a skontrolujte obsah, aby ste sa uistili, že sa v ňom nenachádzajú častice potravy alebo iné pevné častice. Pozrite Obrázok 2.

Poznámka

Odmietnite vzorky so zjavnými časticami potravín alebo inými pevnými časticami.



Obrázok 2. Otvorenie nádoby na vzorky

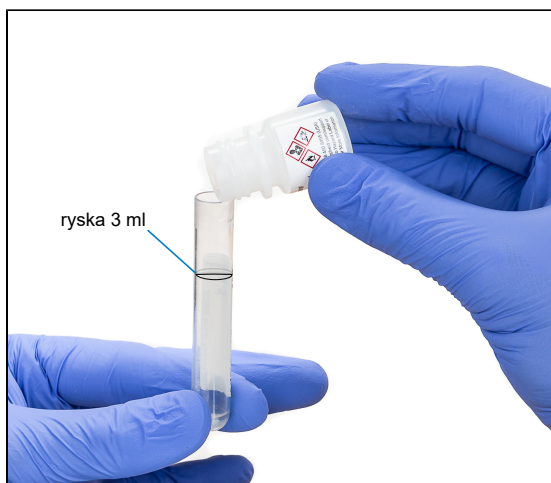
3. Do spúta nalejte približne 2-násobok objemu SR (riedenie v pomere 2 : 1, SR : spútum).

Poznámka

Zvyšky SR a fľašu vyhodte do nádoby na chemický odpad.



Obrázok 3. Príklad riedenia 2 : 1 (8 ml SR : 4 ml spúta)



Obrázok 4. Príklad riedenia 2 : 1 (2 ml SR : 1 ml spúta)

4. Znovu nasadíte a zaistíte veko. Silno pretrepte 10- až 20-krát alebo miešajte aspoň 10 sekúnd.

Poznámka Jeden pohyb dozadu a dopredu predstavuje jedno zatrasenie.

5. Vzorku inkubujte 10 minút pri izbovej teplote.
6. Vzorku silno pretrepte 10- až 20-krát alebo miešajte aspoň 10 sekúnd. Vzorku inkubujte pri izbovej teplote ďalších 5 minút.

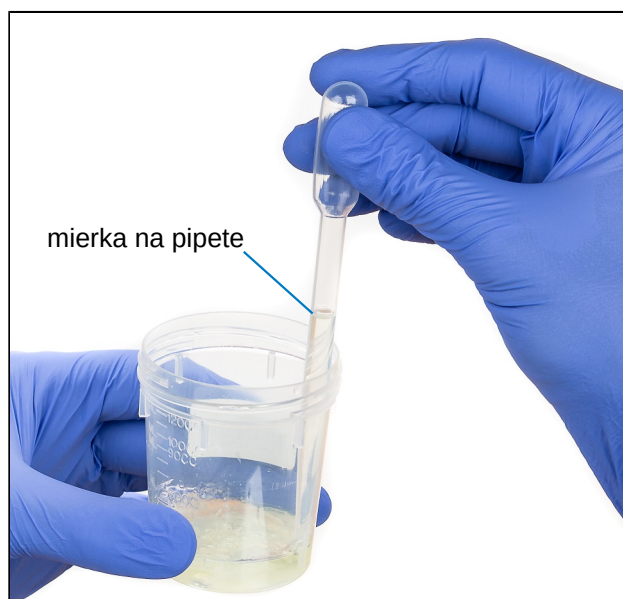
Poznámka Uistite sa, že vzorka je úplne skvapalnená. Ak vzorka nie je skvapalnená, tento krok zopakujte.

10.3 Príprava zásobníka

Ak používate systém GeneXpert Dx System alebo GeneXpert Edge System, test spustíte do 4 hodín od pridania vzorky upravenej činidlom vzorky do zásobníka. Po pridání vzorky do kazety by kazeta mala zostať pri izbovej teplote pred začatím testu do štyroch hodín. Ak používate systém GeneXpert Infinity System, nezabudnite spustiť test a umiestniť kazetu na dopravník do 30 minút od pridania vzorky upravenej reagensiou na vzorky do kazety. Zostávajúcu dobu skladovania sleduje pomocou softvéru Xpertise, aby sa testy spustili pred uplynutím 4 hodín v systéme.

Poznámka

1. Otvorte veko kazety a potom otvorte nádobu na vzorky.
2. Pomocou dodanej prenosovej pipety nasajte skvapalnenú vzorku tesne nad čiaru na pipete. Pozrite Obrázok 5. Ak je objem vzorky nedostatočný, ďalej ju nespracúvajte.



Obrázok 5. Aspirácia po čiaru na pipete

3. Preneste vzorku do komory na vzorky kazety Xpert MTB/RIF Ultra. Vzorku dávajte pomaly, aby ste minimalizovali riziko tvorby aerosólu. Pozrite Obrázok 6.



Obrázok 6. Dávkovanie dekontaminovanej skvapalnenej vzorky do vzorkovacej komory kazety

4. Pevne zatvorte veko zásobníka. Zvyšná skvapalnená vzorka sa môže uchovávať až 4 hodiny pri teplote 2 až 8 °C v prípade, že sa vyžaduje opätovné testovanie.

11 Spustenie testu

- si pozrite v Časť 11.1.
- si pozrite v Časť 11.2.
- si pozrite v Časť 11.3.

11.1 GeneXpert Dx System

11.1.1 Spustenie testu

Pred spustením testu sa uistite, že:

- Dôležité**
- v systéme je nainštalovaná verzia softvéru GeneXpert Dx uvedená v časti Požadované, ale nedodané materiály;
 - do softvéru je importovaný správny súbor s definíciou analýzy.

Táto časť opisuje základné kroky na spustenie testu. Podrobné pokyny si pozrite v *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Poznámka Konkrétne kroky sa môžu líšiť, ak administrátor systému zmenil predvolený tok činností systému.

1. Zapnite GeneXpert Dx System, potom zapnite počítač a prihláste sa. Softvér GeneXpert sa zapne automaticky. Ak sa tak nestane, dvakrát kliknite na ikonu softvéru GeneXpert Dx na ploche systému Windows®.
2. Prihláste sa pomocou vášho používateľského mena a hesla.
3. V okne **systému GeneXpert** kliknite na položku **Vytvoriť test (Create Test)**. Zobrazí sa okno **Vytvoriť test (Create Test)**. Zobrazí sa kontextové okno na skenovanie čiarového kódu **Skenovať ID pacienta (Scan Patient ID)**.
4. Naskenujte alebo zadajte ID pacienta. Ak ID pacienta zadávate pomocou klávesnice, uistite sa, že je správne. ID pacienta je spojené s výsledkami testu a zobrazuje sa v okne **Zobraziť výsledky (View Results)** a vo všetkých správach. Zobrazí sa kontextové okno na skenovanie čiarového kódu **Skenovať ID vzorky (Scan Sample ID)**.
5. Naskenujte alebo zadajte ID vzorky. Ak ID vzorky zadávate pomocou klávesnice, uistite sa, že je správne. ID vzorky je spojené s výsledkami testu a zobrazuje sa v okne **Zobraziť výsledky (View Results)** a vo všetkých správach. Otvorí sa kontextové okno **Skenovať čiarový kód zásobníka (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Naskenujte čiarový kód zásobníka. Softvér prostredníctvom informácií z čiarového kódu automaticky vyplní údaje do nasledujúcich polí: Výber analýzy (Select Assay), ID šarže činidla (Reagent Lot ID), Sériové č. zásobníka (Cartridge SN) a Dátum expirácie (Expiration Date).

Poznámka Ak nie je čiarový kód na zásobníku možné oskenovať, test zopakujte s novým zásobníkom. Ak ste v softvéri naskenovali čiarový kód a súbor s definíciou analýzy nie je dostupný, zobrazí sa obrazovka, ktorá informuje, že v systéme nie je nahrať súbor s definíciou analýzy. Ak sa zobrazí táto obrazovka, kontaktujte technickú podporu spoločnosti Cepheid.

7. Kliknite na položku **Spustiť test (Start Test)**. Do zobrazeného kontextového okna podľa potreby zadajte heslo.
8. Otvorte dvierka modulu prístroja s blikajúcim zeleným svetlom a vložte zásobník.
9. Zatvorte dvierka. Test sa spustí a zelené svetlo prestane blikat'.
Po ukončení testu sa svetlo vypne.
10. Počkajte, kým systém neodomkne dvierka pre modul, následne vyberte zásobník.
11. Použité zásobníky zlikvidujte v príslušnej nádobe na odpad zo vzoriek v súlade so štandardnými postupmi inštitúcie.

Poznámka Neotvárajte ani sa nepokúšajte meniť žiadnu časť pozužitého zásobníka na účely jeho likvidácie. Počas testu nevypínajte ani neodpájajte prístroj z napájania. Vypnutie alebo odpojenie prístroja alebo počítača z napájania spôsobí zastavenie testu.

11.1.2 Zobrazenie a tlač výsledkov

Táto časť uvádza základné kroky na zobrazenie a tlač výsledkov. Ďalšie podrobné pokyny týkajúce sa zobrazenia a tlače výsledkov nájdete v príručke používateľa systému *GeneXpert Dx*.

1. Na zobrazenie výsledkov kliknite na ikonu **Zobraziť výsledky (View Results)**.

2. Po dokončení testu kliknutím na tlačidlo **Správa (Report)** v okne **Zobrazenie výsledkov (View Results)** zobrazíte a/alebo vygenerujete PDF súbor so správou.

11.2 GeneXpert Edge System

(Nemusi byť k dispozícii vo všetkých krajinách)

11.2.1 Spustenie nového testu

Počas priebehu jedného testu možno spustiť ďalší test.

1. Dotknite sa tlačidla **DOMOV (HOME)**.
Obrazovka **Domov (Home)** zobrazí používaný modul mierne sivou farbou a s poznámkou, že prebieha zber údajov.
2. Dotknite sa tlačidla **SPUSTIŤ NOVÝ TEST (RUN NEW TEST)** a pokračujte s novým testom podľa pokynov, ktoré uvádza Spustenie testu.
3. Po spustení druhého testu sa dotknite tlačidla **DOMOV (HOME)**.
Zobrazí sa stav oboch testov. Po skončení testu sa ikona zmení na **Zber údajov ukončený (Data collection complete)** a na ikone sa zobrazí symbol začiatku.
4. Dotykom ikony **Zber údajov ukončený (Data collection complete)** sa zobrazí obrazovka **Odstrániť zásobník (Remove Cartridge)**. Zásobník odstráňte podľa pokynov na obrazovke.

11.2.2 Zobrazenie a tlač výsledkov

Táto časť uvádza základné kroky na zobrazenie a tlač výsledkov. Podrobnejšie pokyny na prezeranie a tlač výsledkov uvádza *GeneXpert Edge System User's Guide*.

Poznámka

Ak oznamujete výsledky pomocou LIS, potvrdte, že výsledky LIS sa zhodujú s výsledkami v systéme, pokiaľ ide o pole ID pacienta. Ak sa výsledky nezhodujú, oznámte iba výsledky zo systému.

1. Dotknite sa tlačidla **ZOBRAZIŤ PREDCHÁDZAJÚCE TESTY (VIEW PREVIOUS TESTS)** na obrazovke **Domov (Home)**.
2. Na obrazovke **Výber testu (Select Test)** vyberte test dotknutím sa názvu testu alebo pomocou šípok.

11.3 GeneXpert Infinity System

11.3.1 Spustenie testu

Pred spustením testu sa uistite, že:

- Dôležité**
- V systéme je nainštalovaná verzia softvéru Xpertise uvedená v časti Požadované, ale nedodané materiály.
 - do softvéru je importovaný správny súbor s definíciou analýzy.

Táto časť opisuje základné kroky na spustenie testu. Podrobné pokyny si pozrite v *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Poznámka

Konkrétne kroky sa môžu líšiť, ak administrátor systému zmenil predvolený tok činností systému.

1. Zapnite prístroj. Softvér Xpertise sa zapne automaticky. Ak sa tak nestane, dvakrát kliknite na ikonu softvéru Xpertise na ploche systému Windows®.
2. Prihláste sa do počítača a potom sa prihláste do softvéru GeneXpert Xpertise pomocou svojho používateľského mena a hesla.
3. V pracovnej oblasti **Domovská stránka softvéru Xpertise (Xpertise Software Home)** kliknite na položku **Objednávky (Orders)** a v pracovnej oblasti **Objednávky (Orders)** kliknite na položku **Objednať test (Order Test)**.
Zobrazí sa pracovná oblasť **Objednať test – ID pacienta (Order Test - Patient ID)**.
4. Naskenujte alebo zadajte ID pacienta. Ak ID pacienta zadávate pomocou klávesnice, uistite sa, že je správne. ID pacienta je spojené s výsledkami testu a zobrazuje sa v okne **Zobraziť výsledky (View Results)** a vo všetkých správach.

5. Zadaťte všetky ďalšie informácie požadované vašou inštitúciou a kliknite na tlačidlo **POKRAČOVAŤ (CONTINUE)**. Zobrazí sa pracovná oblasť **Objednať test – ID vzorky (Order Test - Sample ID)**.
6. Naskenujte alebo zadajte ID vzorky. Ak ID vzorky zadávate pomocou klávesnice, uistite sa, že je správne. ID vzorky je spojené s výsledkami testu a zobrazuje sa v okne **Zobraziť výsledky (View Results)** a vo všetkých správach.
7. Kliknite na tlačidlo **POKRAČOVAŤ (CONTINUE)**. Zobrazí sa pracovná oblasť **Objednať test – analýza (Order Test - Assay)**.
8. Naskenujte čiarový kód zásobníka. Softvér prostredníctvom informácií z čiarového kódu automaticky vyplní údaje do nasledujúcich polí: Výber analýzy (Select Assay), ID šarže činidla (Reagent Lot ID), Sériové č. zásobníka (Cartridge SN) a Dátum expirácie (Expiration Date).

Poznámka

Ak nie je čiarový kód na zásobníku možné oskenovať, test zopakujte s novým zásobníkom. Ak ste v softvéri naskenovali čiarový kód a súbor s definíciou analýzy nie je dostupný, zobrazí sa obrazovka, ktorá informuje, že v systéme nie je nahratý súbor s definíciou analýzy. Ak sa zobrazí táto obrazovka, kontaktujte technickú podporu spoločnosti Cepheid.

Po naskenovaní kazety sa zobrazí pracovná plocha **Objednať test – Informácie o teste (Order Test - Test Information)**.

9. Skontrolujte, či sú informácie správne, a kliknite na tlačidlo **Odoslať (Submit)**. Do zobrazeného kontextového okna podľa potreby zadajte heslo.
10. Umiestnite kazetu na dopravný pás.

Poznámka

Počas testu systém nevypínajte ani neodpájajte z napájania. Vypnutie alebo odpojenie prístroja GeneXpert alebo z napájania spôsobí zastavenie testu.

Zásobník sa automaticky načíta, následne prebehne test a použitý zásobník sa automaticky umiestni do nádoby na odpad.

11.3.2 Zobrazenie a tlač výsledkov

Táto časť uvádza základné kroky na zobrazenie a tlač výsledkov. Podrobnejšie pokyny na prezeranie a tlač výsledkov uvádza *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. V pracovnej oblasti **Domovská stránka softvéru Xpertise (Xpertise Software Home)** kliknite na ikonu **VÝSLEDKY (RESULTS)**. Zobrazí sa ponuka Výsledky (Results).
2. V ponuke Výsledky vyberte tlačidlo **ZOBRAZIŤ VÝSLEDKY (VIEW RESULTS)**. Zobrazí sa pracovná plocha **Zobraziť výsledky (View Results)** s výsledkami testu.
3. Kliknutím na tlačidlo **SPRÁVA (REPORT)** zobrazíte a/alebo vygenerujete PDF súbor so správou.

12 Kontrola kvality

Každý test obsahuje kontrolu spracovania vzorky (Sample Processing Control, SPC) a kontrolu skúšky sondy (Probe Check Control, PCC).

Kontrola spracovania vzorky (Sample Processing Control, SPC)

Zabezpečuje, aby boli vzorky správne spracované. SPC obsahuje neinfekčné spóry vo forme suchého výtrusu, ktorý je súčasťou každého zásobníka na overenie adekvátneho spracovania MTB. SPC overuje, či došlo k lýze MTB, ak sú organizmy prítomné, a overuje, či je spracovanie vzorky adekvátne. Táto kontrola okrem toho deteguje inhibíciu testu PCR v reálnom čase súvisiaceho so vzorkou.

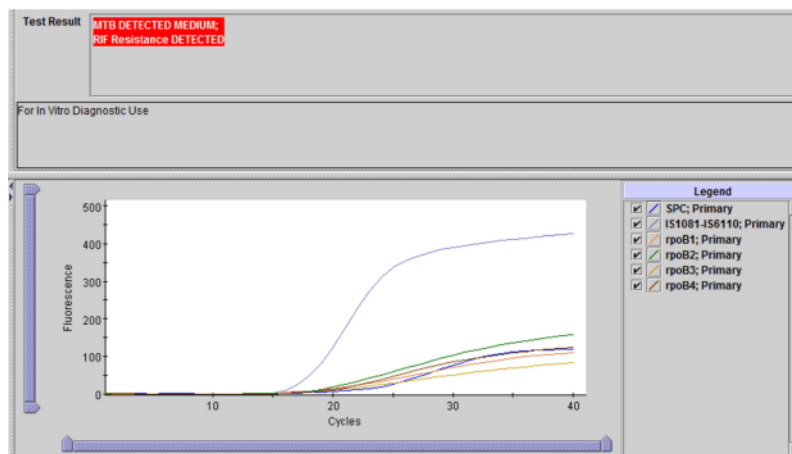
SPC by mala byť v negatívnej vzorke pozitívna a v pozitívnej vzorke môže byť negatívna alebo pozitívna. Ak sú validované kritériá splnené, kontrola SPC je úspešná. Výsledok testu bude „Neplatný“, ak sa SPC nezistí pri negatívnom teste.

Kontrola skúšky sondy (Probe Check Control, PCC)

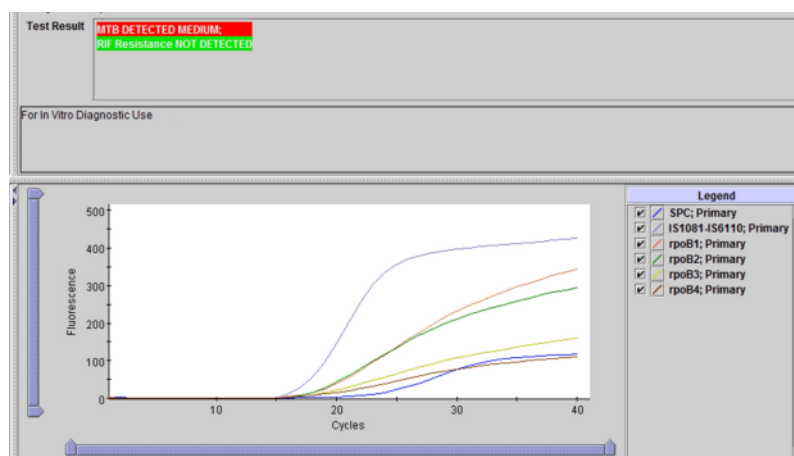
Pred začiatkom reakcie PCR meria test Xpert MTB/RIF Ultra fluorescenčný signál zo sond na monitorovanie rehydratácie guľôčok, plnenia reakčných skúmaviek, integrity sondy a stability farbiva. Ak sú určené kritériá splnené, kontrola PCC je úspešná.

13 Interpretácia výsledkov

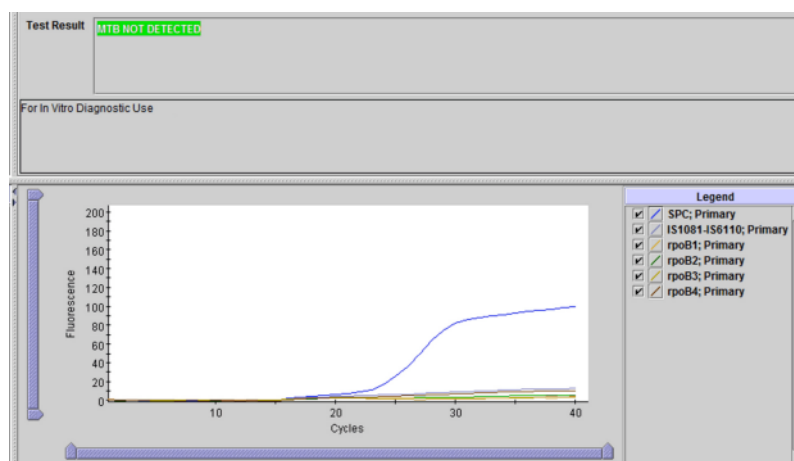
Prístrojový systém GeneXpert generuje výsledky z nameraných fluorescenčných signálov a zabudovaných výpočtových algoritmov. Výsledky si môžete pozrieť v okne **Zobraziť výsledky**. Konkrétne príklady nájdete v časti Obrázok 7, Obrázok 8, Obrázok 9, Obrázok 10, Obrázok 11 a Obrázok 12 a zoznam všetkých možných výsledkov nájdete v časti Tabuľka 3.



Obrázok 7. MÉDIUM SO ZISTENÝM MTB (MTB DETECTED MEDIUM); RIF rezistencia ZISTENÁ (RIF Resistance DETECTED) (Detailné používateľské zobrazenie GeneXpert Dx)



Obrázok 8. MÉDIUM SO ZISTENÝM MTB (MTB DETECTED MEDIUM); RIF rezistencia NEZISTENÁ (RIF Resistance NOT DETECTED) (Detailné používateľské zobrazenie GeneXpert Dx)



Obrázok 9. MTB NEZISTENÉ (MTB NOT DETECTED) (Detailné používateľské zobrazenie GeneXpert Dx)

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

Obrázok 10. ZISTENÉ NÍZKE MTB (MTB DETECTED LOW); RIF rezistencia ZISTENÁ (RIF Resistance DETECTED) (GeneXpert Edge)

Patient/Sample ID	Cartridge S/N
2PUHPILOT06	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.

Obrázok 11. ZISTENÉ NÍZKE MTB (MTB DETECTED LOW); RIF rezistencia NEZISTENÁ (RIF Resistance NOT DETECTED) (GeneXpert Edge)

Patient/Sample ID	Cartridge S/N
2PUHPILOT05	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.

Obrázok 12. MTB NEZISTENÁ (MTB NOT DETECTED (GeneXpert Edge)

Tabuľka 2. Xpert MTB/RIF Ultra Výsledky testu a interpretácia

Výsledok	Interpretácia
ZISTENÉ VYSOKÉ MTB (MTB DETECTED HIGH); RIF rezistencia ZISTENÁ (RIF Resistance DETECTED)	Cieľové MTB prítomné vo vzorke: - Bola zistená mutácia v cieľovej sekvencii génu <i>rpoB</i>. - SPC: Neuplatňuje sa (NA (not applicable)). Signál SPC nie je potrebný, pretože zosilnenie MTB môže tomuto riadeniu konkurovať. - Kontrola sondy: PLATNÝ (PASS). Všetky výsledky kontroly sondy sú platné.
ZISTENÉ STREDNÉ MTB (MTB DETECTED MEDIUM); RIF rezistencia ZISTENÁ (RIF Resistance DETECTED)	
ZISTENÉ NÍZKE MTB (MTB DETECTED LOW); RIF rezistencia ZISTENÁ (RIF Resistance DETECTED)	
ZISTENÉ VEĽMI NÍZKE MTB (MTB DETECTED VERY LOW); RIF rezistencia ZISTENÁ (RIF Resistance DETECTED)	
ZISTENÉ VYSOKÉ MTB (MTB DETECTED HIGH); RIF rezistencia NEZISTENÁ (RIF Resistance NOT DETECTED)	Cieľové MTB prítomné vo vzorke: - Nebola zistená žiadna mutácia v cieľovej sekvencii génu <i>rpoB</i>. - SPC: Neuplatňuje sa (NA (not applicable)). Signál SPC nie je potrebný, pretože zosilnenie MTB môže tomuto riadeniu konkurovať. - Kontrola sondy: PLATNÝ (PASS). Všetky výsledky kontroly sondy sú platné.
ZISTENÉ STREDNÉ MTB (MTB DETECTED MEDIUM); RIF rezistencia NEZISTENÁ (RIF Resistance NOT DETECTED)	
ZISTENÉ NÍZKE MTB (MTB DETECTED LOW); RIF rezistencia NEZISTENÁ (RIF Resistance NOT DETECTED)	
ZISTENÉ VEĽMI NÍZKE MTB (MTB DETECTED VERY LOW); RIF rezistencia NEZISTENÁ (RIF Resistance NOT DETECTED)	

Výsledok	Interpretácia
ZISTENÉ VYSOKÉ MTB (MTB DETECTED HIGH); RIF rezistencia NEURČITÁ (RIF Resistance INDETERMINATE)	Cieľové MTB prítomné vo vzorke: • Odolnosť RIF nebolo možné určiť z dôvodu neplatných vrcholov TOPENIA. • SPC: Neuplatňuje sa (NA (not applicable)). Signál SPC nie je potrebný, pretože zosilnenie MTB môže tomuto riadeniu konkurovať. • Kontrola sondy: PLATNÝ (PASS). Všetky výsledky kontroly sondy sú platné.
ZISTENÉ STREDNÉ MTB (MTB DETECTED MEDIUM); RIF rezistencia NEURČITÁ (RIF Resistance INDETERMINATE)	
ZISTENÉ NÍZKE MTB (MTB DETECTED LOW); RIF rezistencia NEURČITÁ (RIF Resistance INDETERMINATE)	
ZISTENÉ VEĽMI NÍZKE MTB (MTB DETECTED VERY LOW); RIF rezistencia NEURČITÁ (RIF Resistance INDETERMINATE)	
MTB Trace ZISTENÁ (MTB Trace DETECTED); RIF rezistencia NEURČITÁ (RIF Resistance INDETERMINATE)	Cieľové MTB prítomné vo vzorke: • Odolnosť RIF nie je možné určiť z dôvodu nedostatočnej detekcie signálu. • SPC: Neuplatňuje sa (NA (not applicable)). Signál SPC nie je potrebný, pretože zosilnenie MTB môže tomuto riadeniu konkurovať. • Kontrola sondy: PLATNÝ (PASS). Všetky výsledky kontroly sondy sú platné.
MTB NEZISTENÉ (MTB NOT DETECTED)	Cieľové MTB nie je zistené vo vzorke: • SPC: PLATNÝ (PASS). SPC splnilo kritériá prijatia. • Kontrola sondy: PLATNÝ (PASS). Všetky výsledky kontroly sondy sú platné.
NEPLATNÝ (INVALID)	Prítomnosť alebo neprítomnosť MTB nie je možné stanoviť. SPC nespĺňa kritériá prijateľnosti, vzorka nebola spracovaná správne alebo došlo k inhibícii PCR. Zopakujte test. Pozrite si časť Postup opakovaného testovania v tomto dokumente. • MTB NEPLATNÉ (MTB INVALID): Prítomnosť alebo neprítomnosť DNA MTB nie je možné stanoviť. • SPC: ZLYHANIE (FAIL). Cieľový výsledok MTB je negatívny a SPC Ct nie je v platnom rozsahu. • Kontrola sondy: PLATNÝ (PASS). Všetky výsledky kontroly sondy sú platné.
CHYBA (ERROR)	Prítomnosť alebo neprítomnosť MTB nie je možné stanoviť. Zopakujte test. Pozrite si časť Postup opakovaného testovania v tomto dokumente. • MTB: ŽIADEN VÝSLEDOK (NO RESULT) • SPC: ŽIADEN VÝSLEDOK (NO RESULT) • Kontrola sondy: ZLYHANIE (FAIL). Všetky alebo jeden z výsledkov kontroly sondy zlyhal.
Poznámka	Ak kontrola sondy prešla, chyba je spôsobená poruchou systémového komponentu.

Výsledok	Interpretácia
ŽIADEN VÝSLEDOK (NO RESULT)	Prítomnosť alebo neprítomnosť MTB nie je možné stanoviť. Zopakujte test. Pozrite si časť Postup opakovaného testovania v tomto dokumente. ŽIADEN VÝSLEDOK (NO RESULT) indikuje, že neboli zozbierané postačujúce údaje. Operátor napríklad pozastavil test, ktorý prebiehal. • MTB: ŽIADEN VÝSLEDOK (NO RESULT) • SPC: ŽIADEN VÝSLEDOK (NO RESULT) • Kontrola sondy: Neuplatňuje sa (NA (not applicable))

Tabuľka 3. Xpert MTB/RIF Ultra: Všetky možné výsledky

Výsledky TB	Výsledky RIF
ZISTENÉ VYSOKÉ MTB (MTB DETECTED HIGH)	RIF rezistencia ZISTENÁ (RIF Resistance DETECTED)
ZISTENÉ VYSOKÉ MTB (MTB DETECTED HIGH)	RIF rezistencia NEZISTENÁ (RIF Resistance NOT DETECTED)
ZISTENÉ VYSOKÉ MTB (MTB DETECTED HIGH)	RIF rezistencia NEURČITÁ (RIF Resistance INDETERMINATE)
ZISTENÉ STREDNÉ MTB (MTB DETECTED MEDIUM)	RIF rezistencia ZISTENÁ (RIF Resistance DETECTED)
ZISTENÉ STREDNÉ MTB (MTB DETECTED MEDIUM)	RIF rezistencia NEZISTENÁ (RIF Resistance NOT DETECTED)
ZISTENÉ STREDNÉ MTB (MTB DETECTED MEDIUM)	RIF rezistencia NEURČITÁ (RIF Resistance INDETERMINATE)
ZISTENÉ NÍZKE MTB (MTB DETECTED LOW)	RIF rezistencia ZISTENÁ (RIF Resistance DETECTED)
ZISTENÉ NÍZKE MTB (MTB DETECTED LOW)	RIF rezistencia NEZISTENÁ (RIF Resistance NOT DETECTED)
ZISTENÉ NÍZKE MTB (MTB DETECTED LOW)	RIF rezistencia NEURČITÁ (RIF Resistance INDETERMINATE)
ZISTENÉ VEĽMI NÍZKE MTB (MTB DETECTED VERY LOW)	RIF rezistencia ZISTENÁ (RIF Resistance DETECTED)
ZISTENÉ VEĽMI NÍZKE MTB (MTB DETECTED VERY LOW)	RIF rezistencia NEZISTENÁ (RIF Resistance NOT DETECTED)
ZISTENÉ VEĽMI NÍZKE MTB (MTB DETECTED VERY LOW)	RIF rezistencia NEURČITÁ (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB Trace ^a ZISTENÉ (DETECTED)	RIF rezistencia NEURČITÁ (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB NEZISTENÉ (MTB NOT DETECTED)	
NEPLATNÝ (INVALID)	
CHYBA (ERROR)	
ŽIADEN VÝSLEDOK (NO RESULT)	

^a Vyvolanie výsledku Trace znamená, že sa zistili nízke hladiny MTB, ale nezistil sa žiadny výsledok odolný voči RIF. Je to spôsobené zvýšenou citlivosťou detekcie TBC pomocou cieľov s viacerými kópiami IS6110 a IS1081 v porovnaní s detekciou rezistencie na RIF pomocou génu rpoB s jednou kópiou. Preto nie je možné určiť výsledok rezistentný alebo citlivý na RIF vo vzorke Trace. Vzorka Trace je vždy **RIF rezistencia NEURČITÁ (RIF Resistance INDETERMINATE)**.

13.1 Dôvody na opakovanie analýzy

Ak sa vyskytne jeden z nasledujúcich výsledkov testu, zopakujte test s použitím nového zásobníka.

- Výsledok **NEPLATNÝ (INVALID)** označuje, že SPC zlyhala. Vzorka nebola riadne spracovaná alebo došlo k inhibícii PCR.
- Výsledok **CHYBA (ERROR)** indikuje, že PCC zlyhala a analýza sa zrušila z dôvodu nesprávneho naplnenia reakčnej skúmavky, alebo sa detegoval problém s integritou reakčnej sondy, prípadne sa prekročili limity maximálneho tlaku alebo zlyhal modul GeneXpert.
- **ŽIADEN VÝSLEDOK (NO RESULT)** indikuje, že neboli zozbierané postačujúce údaje. Operátor napríklad pozastavil test, ktorý prebiehal.

13.2 Postup opakovania testovania

Ak máte zvyšky čerstvého spúta alebo rekonštituovaného sedimentu, pred vykonaním testu vždy použite nový SR na dekontamináciu a skvapalnenie spúta alebo sedimentu. Pozrite si Časť 10 alebo Postup pri nespracovanom spúte.

Ak máte dostatočný zvyšok vzorky ošetrenej SR a od prvého pridania SR do vzorky uplynuli menej ako 4 hodiny, môžete použiť zvyšok vzorky na prípravu a spracovanie novej kazety. Pri opakovanom testovaní vždy použite novú kazetu a okamžite spustíte test. Pozrite Príprava zásobníka.

14 Obmedzenia

Vzhľadom na to, že detekcia MTB je závislá od počtu organizmov prítomných vo vzorke, spoľahlivé výsledky sú závislé od správnej vzorky, manipulácie a skladovania vzoriek. K chybným výsledkom testu môže dôjsť v dôsledku nesprávneho odberu, manipulácie alebo skladovania vzorky, technickej chyby, zámeny vzoriek alebo nedostatočnej koncentrácie východiskového materiálu. Aby sa zabránilo chybným výsledkom, je potrebné dôsledne dodržiavať pokyny na použitie.

Osoby s výsledkami **MTB Trace ZISTENÁ (MTB Trace DETECTED)** môžu v niektorých prostrediach vyžadovať ďalšie klinické informácie a zohľadnenie ich klinického kontextu pri rozhodovaní o liečbe TBC.

Pozitívny výsledok testu nemusí indikovať prítomnosť životaschopných organizmov. Je však predpokladom prítomnosti rezistencie na MTB a rifampicín.

Mutácie alebo polymorfizmy vo väzbových oblastiach primeru alebo sondy môžu ovplyvniť detekciu nových alebo neznámych kmeňov rezistentných na rifampín, čo vedie k falošne výsledku falošne citlivému na rifampín.

Výkonnosť testu Xpert MTB/RIF Ultra u pacientov vo veku menej ako osemnásť rokov nebola vyhodnotená.

Test Xpert MTB/RIF Ultra neposkytuje potvrdenie citlivosti na rifampicín, pretože môžu existovať iné mechanizmy rezistencie na rifampicín ako tie, ktoré sa zistili týmto prístrojom a ktoré môžu byť spojené s nedostatočnou klinickou odpoveďou na liečbu.

V prípade vzoriek, pri ktorých sa zistí MTB-komplexná DNA aj mutácie génu *rpoB* pomocou testu Xpert MTB/RIF Ultra súvisiace s rezistenciou na rifampicín, by sa malo zvážiť dodatočné testovanie citlivosti na lieky.

Výkonnosť testu Xpert MTB/RIF Ultra závisí od zručnosti obsluhy a dodržiavania postupov analýzy. Chyby v postupe analýzy môžu spôsobiť falošne pozitívne alebo falošne negatívne výsledky. Všetci operátori pomôcok by mali mať príslušné školenie o pomôckach.

Interferencia analýzy bola pozorovaná vo vzorkách obsahujúcich ≥ 100 ug/ml albuterol sulfátu.

15 Klinická výkonnosť

15.1 Dizajn klinického skúšania

Výhodnocovali sa výkonnostné vlastnosti testu Xpert MTB/RIF Ultra pri detekcii MTB-komplexovej DNA a pri detekcii mutácií súvisiacich s rezistenciou na RIF vo vzorkách spúta v porovnaní s výsledkami kultivácie (pevné a/alebo tekuté médiá) a testovania citlivosti na lieky (DST). V tomto multicentrickom skúšaní sa použili prospektívne a archivované priame (nespracované) vzorky spúta alebo koncentrovaného sedimentu odobraté osobám starším ako 18 rokov. Subjekty zahŕňali osoby podozrivé z pľúcnej TBC, ktoré neboli liečené na TBC alebo boli liečené menej ako 3 dni počas 6 mesiacov od začiatku skúšania (osoby podozrivé z TBC), ako aj osoby predtým liečené na TBC, u ktorých bolo podozrenie na

multirezistentnú TBC (osoby podozrivé z MDR TBC). Skúšanie sa uskutočnilo na celom svete (Bielorusko, Brazília, Čína, Gruzínsko, Nemecko, India, Taliansko, Keňa, Peru, Juhoafrická republika, Uganda, Vietnam a Spojené štáty americké). Citlivosť a špecifickosť testu Xpert MTB/RIF Ultra na detekciu MTB sa hodnotila len na základe údajov od osôb s podozrením na TBC, zatiaľ čo na vyhodnotenie výkonnosti z hľadiska rezistencie na RIF sa skombinovali údaje od osôb s podozrením na MDR TBC.

Z 1 985 vzoriek zahrnutých do analýz primárnych údajov pochádzali vzorky od účastníkov skúšania, ktorí mali ≥ 18 rokov, 59 % (n = 1 175) mužov, 37 % žien (n = 734) a u 4 % (n = 76) pohlavie nebolo známe alebo nebolo k dispozícii. Pochádzali z geograficky rôznorodých oblastí: 11 % (n = 217) bolo z USA (Kalifornia, New York a Florida) a 89 % (n = 1 768) bolo z krajín mimo USA (Bielorusko, Brazília, Čína, Gruzínsko, Nemecko, India, Taliansko, Juhoafrická republika, Keňa, Peru, Vietnam a Uganda).

15.2 Výkonnosť testu Xpert MTB/RIF Ultra v porovnaní s kultúrou MTB

Od každého účastníka skúšania boli odobraté až tri vzorky spúta na použitie v klinickom skúšaní. V prípade prospektívnych vzoriek bola prvá vzorka spúta testovaná pomocou testu Xpert MTB/RIF Ultra a druhé dve vzorky boli použité na kultiváciu TBC. V prípade archivovaných vzoriek boli k dispozícii výsledky kultivácie zo štandardnej metódy starostlivosti a test Xpert MTB/RIF Ultra sa vykonal použitím prvej vzorky s dostatočným objemom. Ak bol výsledok analýzy neurčitý (**CHYBA (ERROR)**, **NEPLATNÝ (INVALID)** alebo **ŽIADEN VÝSLEDOK (NO RESULT)**), vzorka sa testovala znovu, ak bol k dispozícii dostatočný objem. Testy MTB Ultra pre 96,8 % (1 939/2 004) vzoriek boli úspešné na prvý pokus (počiatočná miera ND = 3,2 %). Štyridsať šesť zo 65 neurčitých prípadov sa testovalo znova. Všetky z ich vygenerovali pri opakovanom testovaní platné výsledky; 19 vzoriek sa netestovalo opakovan. Celková miera úspechu analýzy bola 99,1 % (1 985/2 004). Celková miera neurčitosti bola 0,9 % (19/2 004). Stav steru pomocou rýchlych kyselinových tyčiniek (AFB) u účastníka sa určil fluorescenčným farbením Auramine-O (AO) alebo Ziehl-Neelsenovým (ZN) farbením steru zo vzorky s príslušným výsledkom testu Xpert MTB/RIF Ultra. Kultivačný stav MTB pre všetkých účastníkov bol definovaný na základe výsledku kultivácie MTB zo všetkých vzoriek odobratých v rámci sedemdnového obdobia pre daného účastníka.

Výkonnosť testu Xpert MTB/RIF Ultra pri detekcii MTB v porovnaní s kultiváciou MTB, stratifikovaná podľa stavu výteru AFB, je uvedená v nasledujúcej tabuľke. Citlivosť pri vzorkách s pozitívnym a negatívnym sterom bola 99,5 % (426/428), 95 % IS: 98,3, 99,9 a 73,3 % (200/273), 95 % IS: 67,7, 78,2. Celková špecifickosť testu Xpert MTB/RIF Ultra bez ohľadu na ster AFB bola 95,5 % (1 222/1 280), 95 % IS: 94,2, 96,5. Pozrite si tabuľky nižšie.

Tabuľka 4. Výkonnosť testu Xpert MTB/RIF Ultra v porovnaní s kultúrou MTB

		Ster/kultúra				
		Pozitívne			Negatívne	Celkovo
		Ster AFB +	Ster AFB -	Celková kultúra +	Celková kultúra -	
Xpert MTB/ RIF Ultra	ZISTENÉ MTB (MTB DETECTED)	426	200	630 ^a	58	688
	MTB NEZISTENÉ (MTB NOT DETECTED)	2	73	75	1 222	1 297
	Celkovo	428	273	705	1 280	1 985
Výkon v prípade pozitívneho steru: Citlivosť: 99,5 % (426/428), 95 % IS: 98,3, 99,9 Výkonnosť v prípade negatívneho steru: Citlivosť: 73,3 % (200/273), 95 % IS: 67,7, 78,2 Celkový výkon: Citlivosť: 89,4 % (630/705), 95 % IS: 86,9, 91,4 Špecifickosť: 95,5 % (1 222/1 280), 95 % IS: 94,2, 96,5						

^a V prípade 4 kultivačne pozitívnych vzoriek neboli k dispozícii výsledky sterov.

Výkonnosť testu Xpert MTB/RIF Ultra pri detekcii MTB v porovnaní s kultiváciou MTB stratifikovaná podľa pracovísk mimo USA a v USA je uvedená v nasledujúcej tabuľke. Z 1 985 bolo 1 768 exemplárov z lokalít mimo USA a 217 z lokalít v USA.

Tabuľka 5. Test Xpert MTB/RIF Ultra v porovnaní s kultúrou MTB podľa lokalít mimo USA a v USA

	Mimo USA		Spojené štáty americké	
	N	Percentá (95 % IS)	N	Percentá (95 % IS)
Citlivosť poz. steru	380/382	99,5 % (98,1, 99,9)	46/46	100,0 % (92,3, 100)
Citlivosť neg. steru	180/245	73,5 % (67,6, 78,6)	20/28	71,4 % (52,9, 84,7)
Celková citlivosť	564/631 ^a	89,4 % (86,7, 91,6)	66/74	89,2 % (80,1, 94,4)
Celková špecifickosť	1080/1137	95,0 % (93,6, 96,1)	142/143	99,3 % (96,1, 99,9)

^a V prípade 4 kultivačne pozitívnych vzoriek neboli k dispozícii výsledky sterov.

15.3 Výkonnosť testu Xpert MTB/RIF Ultra v porovnaní s kultúrou podľa typu náteru

Výkonnosť testu Xpert MTB/RIF Ultra pri detekcii MTB sa stanovila v porovnaní s kultiváciou MTB vo vzorkách s náterom AFB vykonaným AO a ZN. Výsledky sa uvádzajú v tabuľke nižšie. Z 1 985 vzoriek bolo 1 810 vzoriek so stermi AO a 175 vzoriek so stermi ZN.

Tabuľka 6. Výkonnosť testu Xpert MTB/RIF Ultra v porovnaní s kultúrou MTB pomocou metód farbenia Auramín O (AO) a Ziehl-Neelsen (ZN)

	Metóda Auramine O		Ziehl-Neelsenova metóda	
	N	Percentá (95 % IS)	N	Percentá (95 % IS)
Citlivosť poz. steru	386/388	99,5 % (98,1, 99,9)	40/40	100 % (91,2, 100)
Citlivosť neg. steru	153/219	69,9 % (63,5, 75,6)	47/54	87,0 % (75,6, 93,6)
Celková citlivosť	543/611 ^a	88,9 % (86,1, 91,1)	87/94	92,6 % (85,4, 96,3)
Celková špecifickosť	1145/1199	95,5 % (94,2, 96,5)	77/81	95,1 % (88,0, 98,1)

^a V prípade 4 kultivačne pozitívnych vzoriek neboli k dispozícii výsledky sterov.

15.4 Výkonnosť testu Xpert MTB/RIF Ultra v porovnaní s kultúrou podľa typu vzorky

Účinnosť testu Xpert MTB/RIF Ultra pri detekcii MTB sa stanovila v porovnaní s kultiváciou MTB v nespracovaných vzorkách spúta a koncentrovaného sedimentu spúta. Výsledky sa uvádzajú v tabuľke nižšie. Z 1 985 vzoriek bolo 1 543 nespracovaných vzoriek spúta a 442 koncentrovaných vzoriek sedimentu spúta.

Tabuľka 7. Test Xpert MTB/RIF Ultra oproti kultúre MTB podľa typu vzorky

	Priame spútum		Sedimenty spúta	
	N	% (95 % IS)	N	% (95 % IS)
Citlivosť poz. steru	323/324	99,7 % (98,3, 99,9)	103/104	99,0 % (94,8, 99,8)
Citlivosť neg. steru	168/229	73,4 % (67,3, 78,7)	32/44	72,7 % (58,2, 83,7)
Celková citlivosť	495/557 ^a	88,9 % (86,0, 91,2)	135/148	91,2 % (85,6, 94,8)
Celková špecifickosť	937/986	95,0 % (93,5, 96,2)	285/294	96,9 % (94,3, 98,4)

^a V prípade 4 kultivačne pozitívnych vzoriek neboli k dispozícii výsledky sterov.

15.5 Testovanie výkonnosti testu Xpert MTB/RIF Ultra v porovnaní s testovaním citlivosti na liečivá pre RIF

Pozitívne kultivačné izoláty MTB sa testovali na citlivosť na lieky (DST) na rifampicín pomocou agarovej podielovej metódy s Middlebrookovým alebo Lowensteinovým-Jensenovým médiom, podloženým sklíčkom Thermo Scientific Sensititre™ Mycobacterium tuberculosis MIC Plate alebo testom BD BACTEC™ MGIT™ 960 SIRE. Výkonnosť testu Xpert MTB/RIF Ultra pri detekcii mutácií súvisiacich s rezistenciou na RIF sa stanovila v porovnaní s výsledkami DST izolátov z kultúry MTB.

Výsledky pri detekcii mutácií súvisiacich s rezistenciou na RIF hlási test Xpert MTB/RIF Ultra len vtedy, keď zariadenie zistilo sekvenciu génu *rpoB* MTB-komplexu. Výsledky citlivosti/odolnosti voči RIF sú uvedené v nasledujúcej tabuľke. Vzorky s nevykonaným DST, **MTB NEZISTENÉ (MTB NOT DETECTED)** a **MTB ZISTENÉ (MTB DETECTED)**; **RIF rezistencia NEURČITÁ (RIF Resistance INDETERMINATE)** boli z analýzy vylúčené. Šesťdesiattri (63) zo 67 vzoriek s neurčitými výsledkami RIF bolo **MTB Trace ZISTENÁ (MTB Trace DETECTED)**; **RIF rezistencia NEURČITÁ (RIF Resistance INDETERMINATE)**.

Tabuľka 8. Výkonnosť testu Xpert MTB/RIF Ultra v porovnaní s DST

Test citlivosti na lieky				
		Odolné voči RIF	Citlivé na RIF	Celkovo
Xpert MTB/ RIF Ultra	ZISTENÉ MTB (MTB DETECTED); RIF rezistencia ZISTENÁ (RIF Resistance DETECTED)	128	12 ^a	140
	ZISTENÉ MTB (MTB DETECTED); RIF rezistencia NEZISTENÁ (RIF Resistance NOT DETECTED)	5 ^b	314	319
	Celkovo	133	326	459

Test citlivosti na lieky			
	Odolné voči RIF	Citlivé na RIF	Celkovo
	Citlivosť: 96,2 % (128/133), 95 % IS: 91,5, 98,4 Špecifickosť: 96,3 % (314/326), 95 % IS: 93,7, 97,9		

^a Diskrepančné výsledky sekvenovania: 11 z 12 rezistentných na RIF, 1 z 12 nie je k dispozícii.

^b Diskrepančné výsledky sekvenovania: 4 z 5 citlivých na RIF, 1 z 5 nie je k dispozícii.

15.6 Výkonnosť testu Xpert MTB/RIF Ultra v porovnaní s testom Xpert MTB/RIF

Tisíc päťsto deväťdesiatštyri (1 594) vzoriek bolo testovaných pomocou testu Xpert MTB/RIF Ultra aj testu Xpert MTB/RIF. Celková percentuálna zhoda medzi testami bola 96,5 % [(1 538/1 594) 95 % IS: 95,5, 97,3]. Pozitívna percentuálna zhoda bola 99,2 % [(491/495) 95 % IS: 97,9, 99,7] a negatívna percentuálna zhoda 95,3 % [(1 047/1 099) 95 % IS: 93,8, 96,4].

15.7 Reprodukovateľnosť

Reprodukovateľnosť testu Xpert MTB/RIF Ultra sa hodnotila na troch pracoviskách použitím panelu vzoriek pozostávajúceho z kmeňov MTB citlivých a rezistentných na rifampicín. Pozitívne vzorky MTB boli pripravené v matici simulovaného spúta v nízkych (~1 x LoD) a stredných (2 – 3 x LoD) koncentráciách. Zahnutý bol aj negatívny člen panelu, ktorý pozostával z matrice simulovaného spúta. Panel piatich vzoriek bol testovaný dvakrát denne počas šiestich rôznych dní dvoma rôznymi operátormi na každom z troch pracovísk (240 testov na každom pracovisku = 2 operátori x 6 dní x 2 replikáty x 2 cykly denne). V skúšaní sa použili tri šarže súprav reagencií testu Xpert MTB/RIF Ultra. Obsahuje percentuálnu zhodu pre každého člena panelu podľa pracoviska Tabuľka 9.

Tabuľka 9. Súhrn výsledkov reprodukovateľnosti – zhoda podľa skúšajúceho pracoviska/prístroja

Vzorka	Pracovisko 1 (GeneXpert Dx)	Pracovisko 2 (GeneXpert Dx)	Pracovisko 3 (Infinity Xpertise)	% celkovej zhody podľa vzorky
Negatívne	98 % (47/48)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	99,3 % (143/144)
MTB nízko pozitívny, Odolné voči RIF	96 % (46/48)	96 % (46/48)	98 % (47/48)	96,5 % (139/144)
MTB mierne pozitívny, Odolné voči RIF	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
MTB nízko pozitívny, Citlivý na RIF	100 % (48/48)	100 % (48/48)	98 % (47/48)	99,3 % (143/144)
MTB mierne pozitívny, Citlivý na RIF	100 % (47/47)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (143/143)

Reprodukovateľnosť testu Xpert MTB/RIF Ultra sa hodnotila aj z hľadiska fluorescenčného signálu vyjadreného v prahovej hodnote cyklu (Ct) pre každý detegovaný cieľ. Tabuľka 10 obsahuje priemer, štandardnú odchýlku (SD) a variačný koeficient (CV) pre komponenty medzi pracoviskami, medzi dňami, medzi operátormi a v rámci cyklu pre každého člena panelu. Jeden cyklus je definovaný ako štyri vzorky na jedného člena panelu testované jedným operátorom na jednom pracovisku v jeden deň.

Tabuľka 10. Súhrn údajov reprodukovateľnosti

Vzorka		N	Stredný Ct	Rozptyl											
				Medzi pracoviskami		Medzi šaržami		Medzi dňami		Medzi operátormi		V rámci cyklu/analýzy		Celkovo	
				Št. odch.	CV (%)	Št. odch.	CV (%)	Št. odch.	CV (%)	Št. odch.	CV (%)	Št. odch.	CV (%)	Št. odch.	CV (%)
Negatívne	SPCt	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
MTB nízko pozitívny, rezistentný 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
MTB mierne pozitívny, rezistentný 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
MTB nízko pozitívny, citlivý 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
MTB mierne pozitívny, citlivý 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 Charakteristiky analytického výkonu

16.1 Potenciálne interferujúce látky

Uskutočnilo sa skúšanie v matrici umelého spúta s cieľom posúdiť účinky látok potenciálne interferujúcich s testom Xpert MTB/RIF Ultra. Celkovo sa hodnotilo 32 potenciálne interferujúcich látok. Potenciálne endogénne interferujúce látky môžu okrem iného zahŕňať krv, hnis (biele krvinky), bunky z dýchacích ciest, mucín, ľudskú DNA a žalúdočnú kyselinu zo žalúdka. Medzi ďalšie potenciálne interferujúce látky môžu patriť anestetiká, antibiotiká, antibakteriálne lieky, lieky proti tuberkulóze, antivirotiká, bronchodilatanciá, inhalačné bronchodilatanciá, živá intranazálna vakcína proti chrípkovému vírusu, germicídne ústne vody, reagenty na spracovanie vzoriek, lieky proti *Pneumocystis jiroveci*, homeopatické lieky na zmiernenie alergie, nosové kortikosteroidy, nosové gély, nosové spreje, perorálne anestetiká, perorálne expektoranciá, neutralizačné pufre a tabak. Tieto látky uvádza Tabuľka 11, pričom zobrazuje aktívne látky a testované koncentrácie. V tomto skúšaní sa použili pozitívne a negatívne vzorky. Pozitívne vzorky sa testovali v blízkosti 3-násobku analytického limitu detekcie pomocou BCG buniek v opakovaníach po 8 alebo 9. Negatívne vzorky, ktoré pozostávali z látky bez prítomnosti kmeňa MTB, sa testovali na každú látku v 8 opakovaníach s cieľom určiť vplyv na výkon kontroly spracovania vzorky (SPC).

Inhibičný účinok sa nepozoroval v prípade žiadnej z 32 potenciálne interferujúcich látok (Tabuľka 11).

Tabuľka 11. Interferujúce látky

Látka	Popis/Účinná látka	Testovaná koncentrácia
-------	--------------------	------------------------

Látka	Popis/Účinná látka	Testovaná koncentrácia
Krv	Krv 5 % obj./obj. (ľudská)	5 % (obj./obj.)
Germicídna ústna voda	Chlórhexidín glukonát (0,12 %), 20 % roztok	20 % (obj./obj.)
Činidlá na spracovanie vzoriek	Cetylpyridíniumchlorid, 1 % v 2 % NaCl	0,5 % (obj./obj.) v 1 % NaCl
Činidlá na spracovanie vzoriek	Cetylpyridíniumchlorid, 1 % v 2 % NALC	0,5 % (obj./obj.) v 1 % NALC
Činidlá na spracovanie vzoriek	Cetylpyridíniumchlorid, 1 % v 2 % NALC plus 25 ml citrát	0,5 % (obj./obj.) v 1 % NALC plus 12,5 mM citrát
Žalúdočná kyselina	pH 3 až 4 roztok vo vode, neutralizovaný hydrogenuhličitanom sodným	100 % (obj./obj.)
Ľudská DNA/bunky	HeLa S3, 1x10 ⁷ (HELA 229)	10 ⁶ buniek/ml
Antimykotikum; antibiotikum	Nystatín perorálna suspenzia, 20 %	20 % (obj./obj.)
Biele krvinky (ľudské)	Matrica WBC/Pus (30 % ochudobnené o leukocyty; 30 % plazma; 40 % PBS)	100 % (obj./obj.)
Anestetiká (endotracheálna intubácia)	Lidokaín HCl 4 %	30 % (obj./obj.)
Nebulizačné roztoky	NaCl 5 % (hm./obj.)	5 % (hm./obj.)
Mucín	Mucín 5 % (hm./obj.)	5 % (hm./obj.)
Antibakteriálna, systémová	Levofloxacin 25 mg/ml	5 mg/ml
Nosové kortikosteroidy	Flutikazón 500 µg/sprej	5 µg/ml
Inhalačné bronchodilatátory	Albuterol sulfát 2 mg/5 ml	75 µg/ml (hm./obj.), 100 µg/ml (hm./obj.)
Perorálne anestetiká	Orajel (20 % benzokaín)	5 % (hm./obj.)
Antivirotiká	Aciklovir, intravenózne 50 mg/ml	50 µg/ml
Antibiotikum, nosová masť	Neosporin (400 U Bacitracín, 3,5 mg neomycín, 5 000 U polymyxín B)	5 % (hm./obj.)
Tabak	Nicogel (40 % tabakový extrakt)	0,5 % (hm./obj.)
Lieky proti tuberkulóze	Streptomycín 1 mg/ml	25 µg/ml
Lieky proti tuberkulóze	Etambutol 1 mg/ml	50 µg/ml
Lieky proti tuberkulóze	Isoniazid 1 mg/ml	50 µg/ml
Perorálne expektoranciá	Guajfenezín (400 mg/tableta)	5 mg/ml
Lieky proti tuberkulóze	Pyrazinamid 10 mg/ml	100 µg/ml
Nosový gél (homeopatikum)	Zicam gél	50 % (hm./obj.)
Nosový sprej	Fenylefrín 1 %	0,5 % (obj./obj.)
Lieky proti tuberkulóze	Rifampicín 1 mg/ml	25 µg/ml
Lieky proti alergii (homeopatikum)	Čajovníkový olej (<5% Cineole, >35 % terpinén-4-ol)	0,5 % (obj./obj.)

Látka	Popis/Účinná látka	Testovaná koncentrácia
Živá vakcína proti intranazálnemu vírusu chrípky	Živá vakcína proti chrípke FluMist	5 %
Liek proti <i>Pneumocystis jiroveci</i>	Pentamidín	300 ng/ml
Bronchodilatátor	Epinefrín (injekčný prípravok)	1 mg/ml
Lieky proti tuberkulóze	Amoxicilín	25 µg/ml

16.2 Analytická citlivosť (limit detekcie)

Uskutočnili sa skúšania na stanovenie analytickej citlivosti alebo limitu detekcie (LoD) testu Xpert MTB/RIF Ultra pomocou kmeňa *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv a *Mycobacterium bovis* BCG (Bacille Calmette-Guerin) zriedených v ľudskom spúte a sedimente ľudského spúta. Pozitívny výsledok MTB je založený na detekcii cieľov IS1081/IS6110.

Uskutočnili sa aj skúšania na stanovenie analytickej citlivosti alebo limitu detekcie testu Xpert MTB/RIF Ultra pri detekcii rezistencie na RIF použitím dobre charakterizovaného klinického kmeňa *Mycobacterium tuberculosis* rezistentného na rifampicín (TDR125), ktorý nesie mutáciu D516V v jadrovej oblasti 81 párov báz génu *rpoB*, zriedeného v ľudskom spúte a sedimente spúta.

LoD je najnižšia koncentrácia hlásená v CFU/ml, ktorú je možné s 95 % spoľahlivosťou reprodukovateľne odlíšiť od negatívnych vzoriek. Hodnotilo sa najmenej 20 replikátov dvoch kmeňov pri piatich až ôsmich koncentráciách počas 3 dní a LoD sa určil pomocou probitovej analýzy. Deklarované LoD sú zhrnuté v nasledujúcej tabuľke.

Tabuľka 12. Údaje z probitovej analýzy a deklarovaný LoD v CFU/ml

Druh mykobaktérie	Typ vzorky	Deklarovaný LoD
<i>M. bovis</i> (BCG)	Spútum	30
	Sediment spúta	33
<i>M. tuberculosis</i> (H37Rv)	Spútum	12
	Sediment spúta	11

Tabuľka 13. Údaje z probitovej analýzy a deklarovaný LoD rezistencie RIF v CFU/ml

Druh mykobaktérie	Typ vzorky	Deklarovaný LoD
<i>M. tuberculosis</i> (TDR125)	Spútum	1 093
	Sediment spúta	4 000

16.3 Analytická špecifickosť (exkluzivita)

V teste Xpert MTB/RIF Ultra sa testovali kultúry 30 kmeňov netuberkulózných mykobaktérií (NTM). Tri replikáty každého izolátu sa naočkovali do pufru a testovali pri koncentrácii $\geq 10^6$ CFU/ml. Pozrite Tabuľka 14.

Tabuľka 14. Kmene NTM testované na špecifickosť

<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <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> subsp. <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 shimoidei</i>
<i>Mycobacterium malmøense</i>	<i>Mycobacterium phlei</i>
<i>Mycobacterium marinum</i>	<i>Mycobacterium terrae</i>

V podmienkach skúšania boli všetky izoláty NTM označené ako **MTB NEZISTENÝ (MTB NOT DETECTED)**. Do štúdie boli zahrnuté pozitívne a negatívne kontroly. Špecifickosť bola 100 %.

Okrem toho, aby sa zistilo, či by vysoké koncentrácie NTM interferovali s detekciou nízkych hladín (3 x LoD) TBC, bolo šesť reprezentatívnych kmeňov z tých, ktoré obsahuje Tabuľka 14, zmiešaných s kmeňom TBC H37Rv a s *M. bovis* v spúte na konečnú koncentráciu 10^6 CFU/ml NTM, 36 CFU/mL *M. tuberculosis* H37Rv a 90 CFU/mL *M. bovis*.

Mikrobiálna interferencia netuberkulózných mykobaktérií (NTM) v prítomnosti H37Rv-mc2 6030 sa hodnotila pomocou šiestich reprezentatívnych kmeňov NTM (*M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. celatum*, *M. abscessus* 19977 a *M. gordonae*). U každej kombinácie cieľového kmeňa a kompetitívneho kmeňa sa testovalo 5 replikátov. Z 5 opakovaných vzoriek pri 3 x LoD sa získalo 5 z 5 platných výsledkov pre všetkých 6 kombinovaných zmesí pri CFU/ml $36 \geq 1 \times 10^6$

H37Rv-mc2 6030. V podmienkach tohto skúšania vysoké koncentrácie NTM neinhibovali detekciu nízkych hladín *Mycobacterium tuberculosis* pomocou testu Xpert MTB/RIF Ultra. Neboli pozorované žiadne kompetitívne inhibičné účinky.

Mikrobiálna interferencia netuberkulózných mykobaktérií (NTM) v prítomnosti buniek MTB-BCG sa hodnotila pomocou ôsmich reprezentatívnych kmeňov NTM (*M. avium* 19250, *M. intracellulare* 35771, *M. kansasii* 12478, *M. kansasii* 35776, *M. celatum* 51131, *M. abscessus* 700868 a *M. goodii* 14470, *M. goodii* 35760). U každej kombinácie cieľového kmeňa a kompetitívneho kmeňa sa testovalo 5 replikátov. Z 5 opakovaných vzoriek sa získalo 5 z 5 platných výsledkov pre všetkých 8 kombinovaných zmesí. Zmesi sa testovali v CFU/ml v pomere 90 až $\geq 1 \times 10^6$ buniek MTB-BCG. V podmienkach tohto skúšania vysoké koncentrácie NTM neinhibovali detekciu nízkych hladín *Mycobacterium tuberculosis* pomocou testu Xpert MTB/RIF Ultra. Neboli pozorované žiadne kompetitívne inhibičné účinky.

16.4 Druhy/kmene testované na špecifickosť

Na falošnú pozitivitu v teste Xpert MTB/RIF Ultra sa testovali nasledujúce organizmy zahŕňajúce gram-negatívne baktérie, gram-pozitívne baktérie, plesňové organizmy, vírusy a kvasinky. Replikáty každého izolátu sa naočkovali do pufru a testovali pri koncentrácii $\geq 10^6$ CFU/ml (kmene baktérií a plesní) alebo $\geq 10^6$ kópií/ml (genomická DNA pre baktérie a plesne) a $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml (kmene vírusov).

Tabuľka 15. Druhy a kmene

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Respiračný syncytiálny vírus typ B
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	Rinovírus
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	Staphylococcus aureus
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	Staphylococcus epidermidis
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Nocardia asteroides</i>	Stenotrophomonas maltophilia
<i>Corynebacterium xerosis</i>	Parainfluenza Vírus typ 1	Streptococcus agalactiae
Koronavírus	Parainfluenza Vírus typ 2	Streptococcus mitis
<i>Enterobacter cloacae</i>	Parainfluenza Vírus typ 3	Streptococcus mutans
<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Streptococcus pneumoniae
<i>Haemophilus influenzae</i>	Respiračný syncytiálny vírus typ A	Streptococcus pyogenes
Ludský metapneumovírus (hMPV) 16 typ A1		

V podmienkach skúšania boli všetky testované mikroorganizmy označené ako **MTB NEZISTENÝ (MTB NOT DETECTED)**. Do štúdie boli zahrnuté pozitívne a negatívne kontroly. Špecifickosť bola 100 %.

16.5 Analytická inkluzivita

Štyridsaťjeden kmeňov MTB-komplexu pozostávajúci z 20 kmeňov citlivých na rifampicín s wild-type jadrovou oblasťou *rpoB* a 21 kmeňov rezistentných na rifampicín s jednonukleotidovými polymorfizmami (SNP) v oblasti jadra *rpoB* bolo testovaných vo štvorici pomocou testu Xpert MTB/RIF Ultra. Vzorky DNA z celkovo 41 kmeňov MTB boli testované na prístroji GeneXpert pomocou protokolu Xpert MTB/RIF Ultra upraveného na testovanie DNA. Konečné reakčné komponenty a podmienky cyklovania PCR sa nezmenili oproti protokolu určenému na testovanie vzoriek pacientov. Dvanásť kmeňov pochádzalo zo zbierky WHO/TDR a 6 kmeňov z laboratórnej zbierky na Rutgers University. Tieto kmene spolu predstavujú izoláty z 8 krajín a obsahovali 21 izolátov rezistentných na RIF, ktoré sa skladali z jedinečných a dvojitéch mutácií a jednej trojitej mutácie v oblasti jadra *rpoB*. Vzorky sa testovali pridaním 100 µl vzorky DNA do komory na lyzát v zásobníku. Pri negatívnych reakciách sa ako vzorka použil pufer. Test správne identifikoval všetkých 20 kmeňov divokého typu a správne identifikoval rezistenciu na rifampicín u všetkých 21 kmeňov rezistentných na rifampicín s mutáciami v oblasti jadra *rpoB*. V prípade 3 mutantných kmeňov boli výsledky pre rifampicín neurčité. V tomto skúšaní sa nehodnotili organizmy *M. caprae* a *M. pinnipedii*.

Termolýzáty mutantného kmeňa (tepelne spracované bunky) a nukleové kyseliny (DNA) boli získané z Belgicka a Rutgers New Jersey a pochádzali z Centier pre kontrolu a prevenciu chorôb (CDC), zbierky American Type Culture Collection (ATCC) a zbierky Detského fondu Organizácie Spojených národov/UNDP/Svetovej banky/Špeciálneho programu WHO pre výskum a vzdelávanie v oblasti tropických chorôb. Test správne identifikoval všetkých 20 kmeňov divokého typu a správne identifikoval rezistenciu na rifampicín u všetkých 21 kmeňov rezistentných na rifampicín s mutáciami v oblasti jadra *rpoB*.

16.6 Analytická inaktivácia mykobaktérií vo vzorkách spúta

Dezinfekčná schopnosť reagentu na vzorky Xpert MTB/RIF Ultra sa stanovila pomocou štandardizovanej kvantitatívnej tuberkulocidnej kultivačnej metódy.¹² Do vzoriek spúta sa nasypala vysoká koncentrácia životaschopného *M. bovis*, zmiešali sa s reagentom na vzorky v pomere 2 : 1 a inkubovali sa 15 minút. Po inkubácii sa zmes reagentu a spúta neutralizovala zriedením a filtráciou a potom sa kultivovala. Životaschopnosť organizmov *M. bovis* z ošetrovaného spúta sa znížila minimálne o 6 logov v porovnaní s neošetrenou kontrolou.

Každé laboratórium musí určiť účinnosť dezinfekčných vlastností reagentu na vzorky pomocou vlastných štandardizovaných metód a musí dodržiavať odporúčané predpisy o biologickej bezpečnosti.

17 Referencie

1. Správa WHO za rok 2018. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274453/9789241565646-eng.pdf?ua=1>.
2. Celosvetová správa WHO o TBC za rok 2019. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329368/9789241565714-eng.pdf>.
3. Rezistencia voči tuberkulóze vo svete: štvrtá globálna správa. 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*, zv. 4 č. 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, druhé vydanie.
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. NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (ES) Č. 1272/2008 z 16. decembra 2008 o klasifikácii, označovaní a balení látok a zmesí, o zmene, doplnení a zrušení, Zoznam bezpečnostných upozornení, smerníc 67/548/EHS a 1999/45/ES (a o zmene a doplnení nariadenia (ES) č. 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 Umiestnenia ústredí Cepheid

Ústredia spoločnosti

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefón: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Európske ústredie

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefón: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

19 Technická podpora

Skôr, ako nás kontaktujete

Pred kontaktovaním technickej podpory spoločnosti Cepheid majte nasledovné:

- Názov produktu
- Číslo šarže
- Sériové číslo prístroja
- Chybové hlásenia (ak nejaké sú)
- Verziu softvéru a prípadne číslo servisnej značky počítača

Technická podpora v Spojených štátoch amerických

Telefón: + 1 888 838 3222

E-mail: techsupport@cepheid.com

Technická podpora vo Francúzsku

Telefón: + 33 563 825 319

E-mail: support@cepheideurope.com

Kontaktné údaje všetkých pobočiek technickej podpory spoločnosti Cepheid sú k dispozícii na našej webovej stránke:
www.cepheid.com/en/support/contact-us.

20 Tabuľka symbolov

Symbol	Význam
	Katalógové číslo
	<i>In vitro</i> diagnostické zdravotnícke zariadenie
	Nepoužívajte opakovane
	Kód šarže
	Pozrite si návod na použitie
	Upozornenie
	Výrobca

Symbol	Význam
	Krajina výroby
	Obsah postačuje na vykonanie n testov
CONTROL	Kontrola
	Dátum expirácie
	Označenie CE – značka Európskej zhody
	Teplotné obmedzenie
	Biologické riziká
	Horľavé tekutiny
	Leptanie pokožky
	Reprodukčná a orgánová toxicita
CH REP	Splnomocnený zástupca vo Švajčiarsku
	Dovozca



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 História revízií

Opis zmeny: 301-5987, Rev. M na Rev. N

Časť	Opis zmeny
8,1	Pridané informácie o pipete na jedno použitie.
9	Menšie revízie.
10.3	Špecifikovaná špecifická vzorka.
11.1.1	Pridané informácie o neodpájaní prístroja z elektrickej siete.
14	Pridaná informácia o interferencii analýzy.
15.1, 15.2	Aktualizované informácie o vzorke.
15.7, 16	Opravené pracovisko 3 na Xpertise. Presunutie tabuľky 10 z časti 16 do časti 15.7.
16.1, 16.2, 16.4	Menšie revízie.
16.3	Pridaná informácia o mikrobiálnej interferencii netuberkulózných mykobaktérií (NTM).
16.5	Pridané informácie o termolýzátach mutantného kmeňa (tepelne ošetrené bunky) a nukleových kyselinách (DNA).