

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

REF GXMTB/RIF-ULTRA-10

REF GXMTB/RIF-ULTRA-50

Navodila za uporabo



Blagovna znamka, patenti in izjave o avtorskih pravicah

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[®] in Xpert[®] so blagovne znamke družbe Cepheid, registrirane v ZDA in drugih državah.

Vse druge blagovne znamke so v lasti njihovih lastnikov.

NAKUP TEGA IZDELKA NA KUPCA PRENESE NEPRENOSLJIVO PRAVICO DO NJEGOVE UPORABE V SKLADU S TEMI NAVODILI ZA UPORABO. NA KUPCA SE NE PRENESE IZRECNO, IMPLICITNO ALI S PREKLIZIJO NOBENIH DRUGIH PRAVIC. POLEG TEGA SE Z NAKUPOM TEGA IZDELKA NE PRIDOBI PRAVIC ZA PREPRODAJO.

© 2017–2025 Cepheid.

Za opis sprememb glejte Razdelek 21 Zgodovina revizij.

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

Za diagnostično uporabo *in vitro*

1 Lastniško ime

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

2 Splošno ali običajno ime

Xpert MTB/RIF Ultra

3 Namen uporabe

Test Xpert MTB/RIF Ultra, izveden na GeneXpert[®] Instrument Systems, je semikvantitativen, ugnezen *in vitro* diagnostični test z verižno reakcijo s polimerazo (PCR) v realnem času za zaznavanje kompleksa DNA *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) v neobdelanih vzorcih sputuma ali koncentriranih sedimentih, pripravljenih iz inducirane ali izkašljanega sputuma. Pri vzorcih, v katerih je odkrit kompleks *Mycobacterium tuberculosis*, lahko test Xpert MTB/RIF Ultra zazna tudi mutacije gena *rpoB*, povezane z odpornostjo na rifampin.

Test Xpert MTB/RIF Ultra je namenjen uporabi z vzorci bolnikov, pri katerih obstaja klinični sum na tuberkulozo (TB) in ki niso prejeli protituberkuloznega zdravljenja, ali so se v zadnjih 6 mesecih zdravili manj kot 3 dni. Ta test je namenjen kot pomoč pri diagnozi pljučne tuberkuloze, kadar se uporablja skupaj s kliničnimi in drugimi laboratorijskimi izvidi.

4 Povzetek in razlaga

Na svetu je z MTB okuženih približno 1,7 milijarde ljudi.¹ Leta 2018 je 10,0 milijona ljudi razvilo aktivno bolezen, 1,45 milijona ljudi pa je zaradi bolezni umrlo.² Pot prenosa pljučne tuberkuloze je po zraku, zato je to zelo prenosljiva bolezen. Zaradi nalezljive narave pljučne tuberkuloze je hitra in natančna diagnoza pomemben element pri zdravljenju in nadzoru tuberkuloze.

Zdravljenje vključuje dolgotrajno dajanje več zdravil in je običajno zelo učinkovito. Sevi *M. tuberculosis* pa lahko postanejo odporni na eno ali več zdravil, zato je doseganje ozdravitve veliko težavnejše. Štiri pogosta zdravila prve linije, ki se uporabljajo pri protituberkulozni terapiji, so izoniazid (INH), rifampin (znan tudi kot rifampicin, RIF), etambutol (EMB) in pirazinamid (PZA). Kot je dokumentirala Svetovna zdravstvena organizacija, je odpornost na RIF le redko osamljena in jo ponavadi spremlja odpornost na številna druga zdravila proti TB.³ Najpogostejše jo opazimo pri sevih, odpornih na več zdravil (MDR-TB) (opredeljenih kot odpornih tako za RIF kot za INH) in ima poročano pogostnost več kot 95 % v takih izolatih.^{4,5,6} Odpornost na RIF ali druga zdravila prve linije običajno kaže na potrebo po celovitem testiranju občutljivosti, vključno s testiranjem proti učinkovinam druge linije.

Molekularno odkrivanje mutacij genov TB in *rpoB*, povezanih z odpornostjo na RIF, močno skrajša čas do diagnoze tuberkuloze, občutljive na zdravila, in MDR. S testom Xpert MTB/RIF Ultra je to mogoče doseči v neobdelanih vzorcih sputuma in v pripravljenih sedimentih v manj kot 80 minutah. Hitro zaznavanje odpornosti na MTB in RIF omogoča zdravniku, da se pri enem obisku zdravnika odloči za zdravljenje kritičnih bolnikov glede terapije.

5 Načelo postopka

Sistemi instrumentov GeneXpert Instrument Systems integrirajo in avtomatizirajo pripravo vzorca, pomnoževanje nukleinske kisline in zaznavanje ciljnih zaporedij v enostavnih ali kompleksnih vzorcih s pomočjo reakcije PCR v realnem času in z zaznavanjem talilnega vrha. Sistem sestavljajo instrument, osebni računalnik, čitalnik črtnih kod in vnaprej

naložena programska oprema za izvajanje testov na vzorcih bolnikov in ogledovanje rezultatov. Sistem uporablja vložke za enkratno uporabo GeneXpert, ki držijo reagente za reakcijo PCR in v katerih potekajo postopki PCR. Ker so vložki avtonomni, je navzkrižno onesnaženje med vzorci minimizirano. Za celoten opis sistema glejte *GeneXpert Dx System Operator Manual*, *GeneXpert Edge System User's Guide* ali *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Test Xpert MTB/RIF Ultra vključuje reagente za odkrivanje MTB in odpornosti na RIF ter kontrolo obdelave vzorcev (SPC) za nadzor ustrezne obdelave ciljnih bakterij in za spremljanje prisotnosti inhibitorjev v reakciji PCR in kasnejše zaznavanje talilnega vrha. Kontrola za preverjanje sonde (Probe Check Control - PCC) je namenjena preverjanju rehidracije reagenta, polnjenju epruvete PCR v vložku, celovitosti sonde in stabilnosti barve.

Primerji v testu Xpert MTB/RIF Ultra pomnožijo del gena *rpoB*, ki vsebuje tarčne sekvence „jedrne“ regije 81 baznih parov in dele insercijskih elementov *IS1081* in *IS6110* v več kopijah. Talitvena analiza s štirimi sondami *rpoB* lahko razlikuje med konzerviranim zaporedjem divjega tipa in mutacijami v jedrni regiji, ki so povezane z odpornostjo RIF. Dve sondi z dvema insercijskima elementoma olajšata zaznavanje kompleksa *Mycobacterium tuberculosis* zaradi tarčnih zaporedij insercijskega elementa v več kopijah v večini sevov TB.

6 Reagenti in instrumenti

6.1 Materiali na voljo

Kompleti testa Xpert MTB/RIF Ultra vsebujejo dovolj reagentov za obdelavo 10 vzorcev ali 50 vzorcev. Komplet vsebuje naslednje:

Xpert MTB/RIF Ultra Vložki z vgrajenimi reakcijskimi epruvetami	10 na komplet	50 na komplet
• Zrno 1 in zrno 2 (liofilizirano) • Zrno 3 (liofilizirano) • Reagent 1 • Reagent 2	2 od vsakega elementa na vložek 1 od vsakega elementa na vložek 4 ml na vložek 4 ml na vložek	2 od vsakega elementa na vložek 1 od vsakega elementa na vložek 4 ml na vložek 4 ml na vložek
Stekleničke z reagentom vzorca	10	50
• Reagent vzorca	8 ml na stekleničko	8 ml na stekleničko
Pipete za prenos za enkratno uporabo	12 na komplet	60 na komplet
CD	1 na komplet	1 na komplet
• Datoteke z opredelitvijo testa (Assay Definition File – ADF) • Navodila za uvoz ADF v programsko opremo • Navodila za uporabo (priložena pakiranju)		

Opomba Reagent za vzorec (SR) je lahko brezbarven do rumen do rumeno-rjav. Barva se lahko sčasoma okrepi, vendar barva nima učinka na delovanje.

Opomba Varnostni listi (SDS) so na voljo na www.cepheid.com ali www.cepheidinternational.com v zavihku **PODPORA (SUPPORT)**.

Opomba goveji serumski albumin (BSA) v zrnih v tem izdelku je bil izdelan in proizveden izključno iz goveje plazme, pridobljene v Združenih državah. Živali niso bile hranjene z beljakovinami prežvekovalcev ali drugih živali. Živali so bile testirane pred zakolom in po njem. Med obdelovanjem se material ni mešal z drugimi živalskimi materiali.

Opomba Pipete za prenos imajo eno samo oznako, ki predstavlja najmanjšo prostornino obdelovanega vzorca, ki je potrebna za prenos v vložek. Uporabljajte jih samo za ta namen. Vse druge pipete mora zagotoviti laboratorij.

6.2 Shranjevanje in uporaba

- Vložke testa Xpert MTB/RIF Ultra shranjujte pri temperaturi 2–28 °C.
- Pokrovčka vložka ne odpirajte, dokler niste pripravljeni na izvajanje testiranja.
- Ne uporabljajte reagentov oziroma vložkov, ki jim je potekel rok uporabnosti.

7 Materiali, ki so potrebni, a niso dostavljeni

- GeneXpert Dx System, GeneXpert Infinity System ali GeneXpert Edge System (kataloška številka se razlikuje glede na konfiguracijo): Instrument GeneXpert, računalnik z lastniško programsko opremo GeneXpert različice 4.7b ali novejšo (GeneXpert Dx System), Xpertise™ 6.4b ali novejšo (GeneXpert Infinity System), programsko opremo GeneXpert Edge različice 1.0 (GeneXpert Edge System), bralnik črtnih kod in uporabniški priročnik
- Tiskalnik: Če potrebujete tiskalnik, stopite s prodajnim zastopnikom družbe Cepheid, da se dogovorite za nakup priporočenega tiskalnika.
- Netesne, sterilne zbiralne posode z navojnim zapiranjem
- Rokavice za enkratno uporabo
- Nalepke in/ali neizbrisni marker
- Sterilne pipete za obdelavo vzorcev

8 Opozorila, previdnostni ukrepi in kemične nevarnosti

8.1 Opozorila in previdnostni ukrepi

- Z vsemi biološkimi vzorci, kar vključuje uporabljene vložke, ravnajte, kot če bi lahko prenašali kužne agense. Ker pogosto ni mogoče vedeti, kateri so lahko kužni, je treba vse biološke vzorce obravnavati s standardnimi previdnostnimi ukrepi. Smernice za ravnanje z vzorci so na voljo pri Centru za nadzor in preprečevanje bolezni⁷ v ZDA in na Inštitutu za klinične in laboratorijske standarde.⁸
- Ob rokovanju z vzorci in reagenti nosite zaščitne rokavice za enkratno uporabo, laboratorijsko haljo in zaščito za oči. Po rokovanju z vzorci in testnimi reagenti si temeljito umijte roke.
- Upoštevajte varnostne postopke svoje ustanove za delo s kemikalijami in ravnanje z biološkimi vzorci.
- Reagentov testa Xpert MTB/RIF Ultra ne nadomestite z drugimi reagenti.
- Pokrovčka vložka testa Xpert MTB/RIF Ultra ne odpirajte, razen ko dodate obdelani vzorec.
- Ne uporabljajte vložka, ki vam je padel, ko ste ga vzeli iz kompleta.
- Ne uporabljajte vložka, ki je padel, se je pretresel ali ima razlito vsebino vložka potem ko ste dodali obdelani vzorec. Če vložek stresate oziroma vam ta pade po odprtju pokrovčka, lahko pride do napačnih ali nedoločenih rezultatov.
- Oznake ID vzorca ne namestite na pokrovček vložka ali na črtno kodo.
- Ne uporabite vložka, če je videti moker ali če tesnilo pokrovčka deluje nepopolno.
- Ne uporabljajte vložka, ki ima poškodovano reakcijsko epruveto.
- Ko obdelujete več vzorcev hkrati, odprite samo en vložek; dodajte vzorec, obdelan z reagentom, in zaprite pokrov vložka, preden obdelate naslednji vzorec. Med vzorci si zamenjajte rokavice.
- Vsak vložek testa Xpert MTB/RIF Ultra se uporabi za obdelavo enega testa. Obdelanih vložkov ne uporabite znova.
- Pipeta za enkratno uporabo se uporabi za prenos enega vzorca. Pipet za enkratno uporabo ne uporabite ponovno.
- Upoštevati je treba dobre laboratorijske prakse in za obdelavo vsakega vzorca bolnika je treba zamenjati rokavice, da se prepreči kontaminacija vzorcev oziroma reagentov. Redno čistite delovno površino/območje z 10-odstotnim belilom, nato ponovno obrišite površino s 70-odstotnim alkoholom ali izopropilnim alkoholom pred in po obdelavi vzorcev.
- Biološke vzorce, pripomočke za prenašanje in uporabljene vložke je treba obravnavati kot sposobne prenašanja kužnih agensov, ki zahtevajo standardne previdnostne ukrepe. Za pravilno odstranitev uporabljenih vložkov in neuporabljenih reagentov upoštevajte smernice svoje ustanove za ravnanje z okoljskimi odpadki. Ti materiali imajo lahko lastnosti kemičnih nevarnih odpadkov, ki jih je treba obravnavati po točno določenih nacionalnih ali regionalnih postopkih za odlaganje. Če nacionalni ali regionalni predpisi ne vključujejo jasnih navodil za pravilno odstranjevanje, je treba biološke vzorce in uporabljene vložke odstraniti skladno s smernicami SZO [World Health Organization] za ravnanje z medicinskimi odpadki in njihovo odstranjevanje.

8.2 Kemične nevarnosti^{9,10}

Reagent vzorca

- Vsebuje izopropil alkohol
- Vsebuje natrijev hidroksid
- Opozorilna beseda: NEVARNOST
- Piktogrami za nevarnost UN GHS: 

Stavki o nevarnostih UN GHS

- Vnetljiva tekočina in hlapi
- Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči.
- Povzroča hude poškodbe oči.
- Sum povzročitve genetskih okvar.
- Sum na poškodbe plodnosti ali nerojenega otroka.
- Ob podaljšanem ali ponovljenem izpostavljanju lahko povzroča poškodbe na organih.

Previdnostni stavki

Preprečevanje

- Pred uporabo pridobiti posebna navodila.
- Ne uporabljajte, dokler se ne seznanite z vsemi varnostnimi ukrepi.
- Hraniti ločeno od vročine, isker, odprtega ognja in/ali vročih površin. Kajenje prepovedano.
- Hraniti v tesno zaprti posodi.
- Ne vdihavati meglic, hlapov in/ali razpršila.
- Po uporabi temeljito umiti roke.
- Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za oči/zaščito za obraz.
- Uporabiti predpisano osebno zaščitno opremo.

Odziv

- Ob požaru: Za gašenje se uporabi primerno sredstvo.
- PRI VDIHAVANJU: Prenesti žrtev na svež zrak in jo pustiti počivati v položaju, ki olajša dihanje.
- Takoj pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE ali zdravnika.
- PRI STIKU S KOŽO (ali lasmi): Takoj sleči vsa kontaminirana oblačila. Kožo izprati z vodo/prho.
- Kontaminirana oblačila oprati pred ponovno uporabo.
- Posebno zdravljenje, glejte dodatne informacije o prvi pomoči.
- PRI STIKU Z OČMI: Previdno izpirati z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem.
- PRI ZAUŽITJU: Izprati usta. NE izzvati bruhanja.
- PRI izpostavljenosti ali sumu izpostavljenosti: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.
- Ob slabem počutju poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.

Shranjevanje/odstranjevanje

- Vsebinsko in/ali vsebnik odstranite v skladu z lokalnimi, regionalnimi, nacionalnimi in/ali mednarodnimi predpisi.

9 Odvzem vzorca, prenos in shranjevanje

Odvzem vzorca

Upoštevajte protokol ustanove za odvzem vzorca.

Odvzemite sputum ali sputum, induciran z aerosolom, po standardnih postopkih vaše ustanove. Testirajte neobdelani sputum ali koncentrirani/dekontaminirani sediment sputuma. Glejte spodnjo preglednico, da določite ustrezno količino vzorca.

Preglednica 1. Potrebna količina vzorca

Vrsta vzorca	Najmanjša količina za en test	Največja količina vzorca	Razmerje vzorca glede na reagent vzorca (SR, Sample Reagent)
Sediment sputuma	0,5 ml	2,5 ml	1,3 ^a
Neobdelani sputum	1 ml	4,0 ml	1 : 2

^a Razmerje 1:2 vzorca na SR je treba uporabiti s količino vzorca 0,7 ml ali več za en test.

Shranjevanje in transport

Pred obdelavo vzorca z reagentom

Sediment sputuma: Resuspendiran sediment do 7 dni shranjujte pri temperaturi 2-8 °C.

Neobdelani sputum: Sputum pred obdelavo po možnosti transportirajte in shranjujte pri temperaturi od 2 do 8 °C. Po potrebi lahko neobdelane vzorce sputuma do tri dni hranite pri temperaturi do 35 °C, nato pa še dodatnih sedem dni pri temperaturi od 2 do 8 °C.

10 Testni postopek

10.1 Postopek za dekontaminirane, koncentrirane sedimente sputuma

Opomba Zavrnite vzorce z očitnimi delci hrane ali drugimi trdnimi delci.

Zahtevana količina: Sedimente sputuma, pripravljene po metodi Kent in Kubica¹¹ in resuspendirane v 67 mM fosfatnem/H₂O pufri), je mogoče testirati s testom Xpert MTB/RIF Ultra. Po resuspenziji shranite vsaj 0,5 ml resuspendiranega sedimenta za test Xpert MTB/RIF Ultra. Za vse količine, manjše od 0,7 ml, izvedite korake 1-6. Za te korake potrebujete 3 dele reagenta vzorca (SR) na 1 del sedimenta, da se ustvari ustrezna količina (~2 ml) za optimalno izvedbo testa.

Če je količina vzorca 0,7 ml ali več, lahko ustrezno količino za test dobimo z dodajanjem 2 delov SR v 1 del sedimenta. V tem primeru se 1,4 ml SR doda v 0,7 ml sedimenta. Te količine se merijo v razmerju 2 delov SR na 1 del sedimenta.

1. Vložek naj se ogreje na sobno temperaturo. Vsak vložek testa Xpert MTB/RIF Ultra označite z ID vzorca. Glejte Slika 1.

Opomba Zapišite ga na stran vložka ali nalepite nalepko z ID. Nalepke ne nalepite na pokrov vložka ali čez obstoječo 2D črtno kodo na vložku.

2. Zmešajte usedlino v vibracijskem mešalniku ali s pipeto aspirirajte in material dovoljkrat odstranite, da zagotovite, da so vsi organizmi v suspenziji.

3. S pipeto za prenos prenesite 0,5 ml skupnih resuspendiranih pelet v konično epruveto z navojnim pokrovčkom za test Xpert MTB/RIF Ultra.

Opomba Resuspendirane sedimente shranjujte pri temperaturi 2 do 8 °C, če jih ne obdelate takoj. Testa Xpert MTB/RIF Ultra ne izvedite z resuspendiranim sedimentom, ki je bil shranjen v hladilniku > 7 dni.

4. 1,5 ml reagenta vzorca (SR)Xpert MTB/RIF Ultra prenesite v 0,5 ml resuspendiranega sedimenta s pipeto za prenos. Pokrovček tesno privijte.

5. Močno 10- do 20-krat pretresite ali vsaj 10 sekund mešajte v vibracijskem mešalniku.

Opomba En premik naprej in nazaj je en sam tresljaj.

6. Inkubirajte 10 minut pri sobni temperaturi, nato pa vzorec 10- do 20-krat močno pretresite ali vsaj 10 sekund mešajte v vibracijskem mešalniku.

7. Vzorec inkubirajte pri sobni temperaturi dodatnih 5 minut.

10.2 Postopek za neobdelani sputum

Potrebna količina: potreben je ≥ 1 ml neobdelanega sputuma.

1. Vložek naj se ogreje na sobno temperaturo. Vsak vložek testa Xpert MTB/RIF Ultra označite z ID vzorca. Glejte Slika 1.

Opomba

Zapišite ga na stran vložka ali nalepite nalepko z ID. Nalepke ne nalepite na pokrov vložka ali čez obstoječo 2D črtno kodo na vložku.



Slika 1. Pisanje na vložek s permanentnim markerjem

2. Po prejemu vzorca v posodi za odvzem sputuma, ki ne pušča, previdno odprite pokrov posode za odvzem sputuma in preglejte vsebino, da se prepričate, da v njej ni delcev hrane ali drugih trdnih delcev. Glejte Slika 2.

Opomba

Zavrnete vzorce z očitnimi delci hrane ali drugimi trdnimi delci.



Slika 2. Odpiranje posode z vzorcem

3. V sputum vlijte približno 2-kratno količino SR (razredčenje SR:sputum v razmerju 2:1).

Opomba

Preostali SR in steklenico zavržite v posodo za kemične odpadke.



Slika 3. Primer redčenja 2:1 (8 ml SR : 4 ml sputuma)



Slika 4. Primer redčenja 2 : 1 (2 ml SR : 1 ml sputuma)

4. Pokrov namestite nazaj in ga pritrdite. Močno 10- do 20-krat pretresite ali vsaj 10 sekund mešajte v vibracijskem mešalniku.

Opomba En premik naprej in nazaj je en sam tresljaj.

5. Vzorec 10 minut inkubirajte pri sobni temperaturi.
6. Vzorec močno 10- do 20-krat pretresite ali vsaj 10 sekund mešajte v vibracijskem mešalniku. Vzorec inkubirajte pri sobni temperaturi dodatnih 5 minut.

Opomba Zagotovite, da je vzorec povsem utekočinjen. Če vzorec ni povsem utekočinjen, ta korak ponovite.

10.3 Priprava vložka

Opomba

Ob uporabi GeneXpert Dx System ali GeneXpert Edge System test začnite v 4 urah od dodajanja z reagentom obdelanega vzorca v vložek. Ko vzorec dodate v vložek, mora biti vložek pred začetkom testa v štirih urah ostati pri sobni temperaturi. Če uporabljate GeneXpert Infinity System, ne pozabite zagnati testa in vložek vstavite na tekoči trak v 30 minutah po dodajanju vzorca, obdelanega z reagentom vzorca, v vložek. Preostali rok uporabnosti se spremlja s programsko opremo Xpertise, tako da se testi izvajajo pred potekom 4 ur v instrumentu.

1. Odprite pokrov vložka in nato odprite posodo z vzorcem.
2. S priloženo pipeto za prenos aspirirajte utekočinjen vzorec tik nad črto na pipeti. Glejte Slika 5. Vzorca ne obdelujte naprej, če količina ne zadošča.



Slika 5. Aspirirajte do črte na pipeti.

3. Prenesite vzorec v komoro za vzorce vložka Xpert MTB/RIF Ultra. Počasi razpršite vzorec, da zmanjšate tveganje za nastanek aerosola. Glejte Slika 6.



Slika 6. Razpršitev dekontaminiranega utekočinjenega vzorca v komoro vložka za vzorec

4. Trdno zaprite pokrovček vložka. Preostali utekočinjeni vzorec lahko hranite do 4 ure pri 2 do 8 °C, če je potrebno ponovno testiranje.

11 Izvajanje testa

- Za glejte Razdelek 11.1.
- Za glejte Razdelek 11.2.
- Za glejte Razdelek 11.3.

11.1 GeneXpert Dx System

11.1.1 Začetek testa

Pred začetkom testa preverite, da:

- Pomembno**
- Sistem uporablja različico programske opreme GeneXpert Dx, prikazano v razdelku „Materiali, ki so potrebni, a niso dostavljeni“.
 - V programsko opremo je uvožena ustrezna datoteka za opredelitev testa.

V tem razdelku so osnovni koraki za izvajanje testa. Za podrobna navodila glejte *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Opomba Koraki, ki sledijo, so lahko drugačni, če je skrbnik sistema spremenil privzeti potek dela sistema.

1. Vključite GeneXpert Dx System, nato pa vključite računalnik in se prijavite. Programska oprema GeneXpert se bo samodejno zagnala. Če do tega ne pride, dvokliknite ikono bližnjice programske opreme GeneXpert Dx na namizju Windows®.
2. Prijavite se s svojim uporabniškim imenom in geslom.
3. V oknu **sistema GeneXpert** kliknite na **Ustvari test (Create Test)**.
Prikaže se okno **Ustvari test (Create Test)**. Prikaže se pogovorno okno **Skeniranje črtne kode ID bolnika (Scan Patient ID barcode)**.

4. Skenirajte ali vtipkajte ID bolnika (Patient ID). Če vtipkate ID bolnika (Patient ID), preverite, da ste ga vtipkali pravilno.
ID bolnika (Patient ID) je povezana z rezultati testa in je prikazana v oknu **Ogled rezultatov (View Results)** in v vseh poročilih. Prikaže se pogovorno okno **Skeniranje črtne kode ID vzorca (Scan Sample ID barcode)**.
5. Skenirajte ali vtipkajte ID vzorca (Sample ID). Če vtipkate ID vzorca (Sample ID), preverite, ali ste ga vtipkali pravilno.
ID vzorca (Sample ID) je povezana z rezultati testa in je prikazana v oknu **Ogled rezultatov (View Results)** in v vseh poročilih. Prikaže se pogovorno okno **Skeniranje črtne kode vložka (Scan Cartridge barcode)**.
6. Skenirajte črtno kodo na vložku. Programska oprema z informacijami črtne kode samodejno izpolni naslednja polja: Izberi test (Select Assay), ID Loti reagentov (Reagent Lot ID), Serijska št. vložka (Cartridge SN) in Rok uporabe (Expiration Date).

Opomba Če črtne kode na vložku ni mogoče skenirati, ponovite test z drugim vložkom. Če ste s programsko opremo optično prebrali črtno kodo vložka in datoteka z definicijo testa ni na voljo, se prikaže zaslon, ki kaže, da datoteka z opredelitvijo testa ni naložena v sistem. Če se prikaže ta zaslon, se obrnite na tehnično podporo družbe Cepheid.

7. Kliknite **Začni test (Start Test)**. Če je potrebno, vtipkajte svoje geslo v pogovorno okno, ki se prikaže.
8. Odprite vrata modula instrumenta z utripajočo zeleno lučjo in naložite vložek.
9. Zaprite vrata. Test se začne izvajati, zelena luč pa preneha utripati.
Ko je test končan, se luč izklopi.
10. Preden odprete vrata in odstranite vložek, počakajte, da sistem sprostí zaklepni mehanizem vrat.
11. Uporabljene vložke odvrzite v ustrezne vsebnike za odpadne vzorce skladno s standardnimi praksami vaše ustanove.

Opomba Ne odpirajte in ne poskušajte spreminjati nobenega dela rabljenih odpadnih vložkov. Medtem ko se izvaja test, ne izklopite ali odklopite instrumenta. Izklop instrumenta ali njegov odklop ali odklop tabličnega računalnika iz napajanja bo ustavil testiranje.

11.1.2 Pregledovanje in tiskanje rezultatov

V tem razdelku so navedeni osnovni koraki za ogled in tiskanje rezultatov. Za podrobnejša navodila o tem, kako pregledovati in tiskati rezultate, glejte *priročnik za uporabo sistema GeneXpert Dx*.

1. Za ogled rezultatov kliknite ikono **Ogled rezultatov (View Results)**.
2. Ko se test konča, kliknite gumb **Poročilo (Report)** v oknu **Ogled rezultatov (View Results)** in si oglejte in/ali ustvarite datoteko s poročilom v obliki PDF.

11.2 GeneXpert Edge System

(Morda ni na voljo v vseh državah)

11.2.1 Začetek novega testa

Ko je prvi vzorec že v postopku, se lahko začne dodatni test.

1. Dotaknite se gumba **DOMOV (HOME)**.
Zaslon **Domov (Home)** prikaže modul v uporabi kot rahlo siv in z opombo, da poteka zbiranje podatkov.
2. Dotaknite se gumba **IZVEDI NOV TEST (RUN NEW TEST)** in nadaljujte z novim testom po korakih v Začetek testa.
3. Ko je drugi test v postopku, se dotaknite gumba **DOMOV (HOME)**.
Prikaže se stanje obeh testov. Ko je prvi test gotov, se besedilo ikone spremeni v **Zbiranje podatkov gotovo (Data collection complete)** in na ikoni se pokaže kljukica.
4. Dotaknite se ikone **Zbiranje podatkov gotovo (Data collection complete)**, da se prikaže zaslon **Odstrani vložek (Remove Cartridge)**. Sledite navodilom na zaslonu, da odstranite vložek.

11.2.2 Pregledovanje in tiskanje rezultatov

V tem razdelku so navedeni osnovni koraki za ogled in tiskanje rezultatov. Za podrobnejša navodila o tem, kako pregledati in natisniti rezultate, glejte *GeneXpert Edge System User's Guide*.

Opomba Če za poročanje rezultatov uporabljate LIS, potrdite, da se rezultati v LIS ujemajo z rezultati sistema v polju z ID bolnika; če se rezultati ne ujemajo, poročajte samo rezultate iz sistema.

1. Dotaknite se gumba **PREGLEJ PREJŠNJE TESTE (VIEW PREVIOUS TESTS)** na zaslonu **Domov (Home)**.
2. Na zaslonu **Izberi test (Select Test)** izberite test s pritiskom na ime testa ali s pomikom puščic na izbrani test.

11.3 GeneXpert Infinity System

11.3.1 Začetek testa

Pred začetkom testa preverite, da:

- Pomembno**
- Sistem uporablja različico programske opreme Xpertise, kot je prikazano v razdelku „Materiali, ki so potrebni, a niso dostavljeni“.
 - V programsko opremo je uvožena ustrezna datoteka za opredelitev testa.

V tem razdelku so osnovni koraki za izvajanje testa. Za podrobna navodila glejte *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Opomba Koraki, ki sledijo, so lahko drugačni, če je skrbnik sistema spremenil privzeti potek dela sistema.

1. Vključite instrument. Programska oprema Xpertise se zažene samodejno. Če do tega ne pride, dvokliknite ikono bližnjice programske opreme Xpertise na namizju Windows®.
2. Prijavite se v računalnik, nato se prijavite v programsko opremo GeneXpert Xpertise s svojim uporabniškim imenom in geslom.
3. V delovnem prostoru **Xpertise Software Home** kliknite **Naročila (Orders)** in v delovnem prostoru **Naročila (Orders)** kliknite **Naroči test (Order Test)**.
Prikaže se delovni prostor **Naroči test - ID bolnika (Order Test - Patient ID)**.
4. Skenirajte ali vtipkajte ID bolnika (Patient ID). Če vtipkate ID bolnika (Patient ID), preverite, da ste ga vtipkali pravilno.
ID bolnika (Patient ID) je povezana z rezultati testa in je prikazana v oknu **Ogled rezultatov (View Results)** in v vseh poročilih.
5. Vnesite vse dodatne podatke, ki jih zahteva vaša ustanova, in kliknite gumb **NADALJUJ (CONTINUE)**.
Prikaže se delovni prostor **Naroči test - ID vzorca (Order Test - Sample ID)**.
6. Skenirajte ali vtipkajte ID vzorca (Sample ID). Če vtipkate ID vzorca (Sample ID), preverite, ali ste ga vtipkali pravilno.
ID vzorca (Sample ID) je povezana z rezultati testa in je prikazana v oknu **Ogled rezultatov (View Results)** in v vseh poročilih.
7. Kliknite gumb **NADALJUJ (CONTINUE)**.
Prikaže se delovni prostor **Naroči test - test (Order Test - Assay)**.
8. Skenirajte črtno kodo na vložku. Programska oprema z informacijami črtno kode samodejno izpolni naslednja polja: Izberi test (Select Assay), ID Loti reagentov (Reagent Lot ID), Serijska št. vložka (Cartridge SN) in Rok uporabe (Expiration Date).

Opomba Če črtno kodo na vložku ni mogoče skenirati, ponovite test z drugim vložkom. Če ste s programsko opremo optično prebrali črtno kodo vložka in datoteka z definicijo testa ni na voljo, se prikaže zaslon, ki kaže, da datoteka z opredelitvijo testa ni naložena v sistem. Če se prikaže ta zaslon, se obrnite na tehnično podporo družbe Cepheid.

Po skeniranju vložka se prikaže delovni prostor **Naroči test - informacije o testu (Order Test - Test Information)**.

9. Preverite, ali so podatki pravilni, in kliknite **Pošlji (Submit)**. Če je potrebno, vtipkajte svoje geslo v pogovorno okno, ki se prikaže.
10. Vložek položite na tekoči trak.

Opomba Medtem ko se izvaja test, ne izklopite ali odklopite sistema. Izklop instrumenta GeneXpert ali njegov odklop ali odklop tabličnega računalnika iz napajanja bo ustavil testiranje.

Vložek se samodejno naloži, izvede se test, rabljeni vložek pa se prenese v vsebnik za odpadke.

11.3.2 Pregledovanje in tiskanje rezultatov

V tem razdelku so navedeni osnovni koraki za ogled in tiskanje rezultatov. Za podrobnejša navodila o tem, kako pregledati in natisniti rezultate, glejte *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. V delovnem prostoru **Xpertise Software Home** kliknite ikono **REZULTATI (RESULTS)**. Prikaže se meni Rezultati.
2. V meniju Rezultati izberite gumb **OGLED REZULTATOV (VIEW RESULTS)**. Delovni prostor **Ogled rezultatov (View Results)** prikazuje zadnje testne rezultate.
3. Kliknite gumb **POROČILO (REPORT)** za ogled, in/ali da ustvarite datoteko s poročilom v obliki PDF.

12 Kontrola kakovosti

Vsak test vključuje kontrolo obdelave vzorca (SPC) in kontrolo za preverjanje sonde (PCC).

Kontrola obdelave vzorca (SPC)

Zagotavlja, da je bil vzorec pravilno obdelan. SPC vsebuje ne-infekcijske spore v obliki suhe pogače spor, ki je vključena v vsak vložek za preverjanje ustrezne obdelave MTB. SPC preveri, da je prišlo do lize MTB, če so organizmi prisotni, in preveri, da je bila obdelava vzorca ustrezna. Poleg tega ta kontrola zazna zaviranje reakcije PCR, ki je povezana z vzorcem, v realnem času.

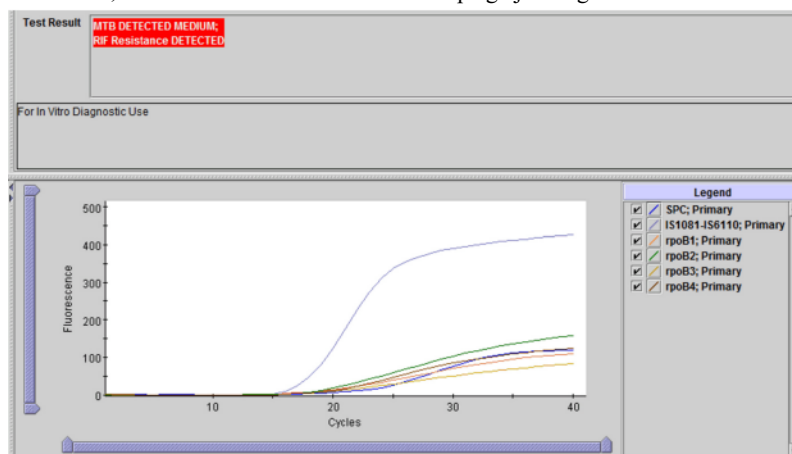
V negativnem vzorcu mora biti SPC pozitiven, v pozitivnem vzorcu pa je lahko negativen ali pozitiven. SPC je uspešen, če ustreza validiranim merilom sprejemljivosti. Rezultat testa bo „neveljaven“, če v negativnem testu ni ugotovljen SPC.

Kontrola za preverjanje sonde (PCC, Probe Check Control)

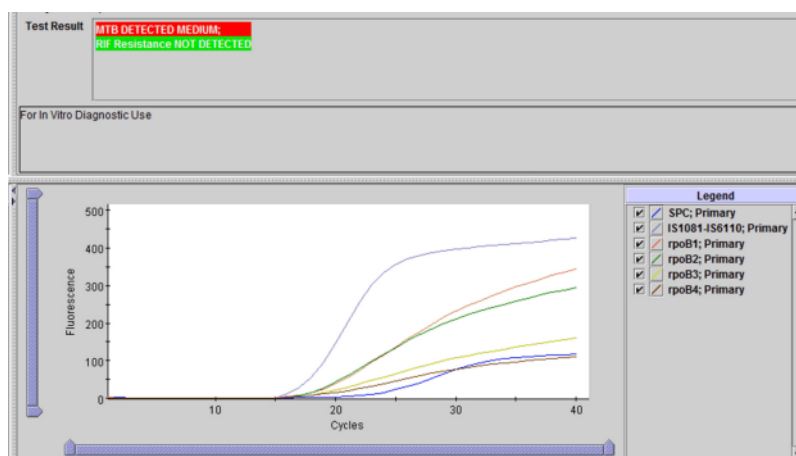
Pred začetkom reakcije PCR test Xpert MTB/RIF Ultra izmeri fluorescenčni signal sond, da tako spremlja rehidracijo zrn, polnjenje reakcijske epruvete, celovitosti sonde in stabilnost barve. PCC je uspešen, če vzorec ustreza dodeljenim merilom sprejemljivosti.

13 Tolmačenje rezultatov

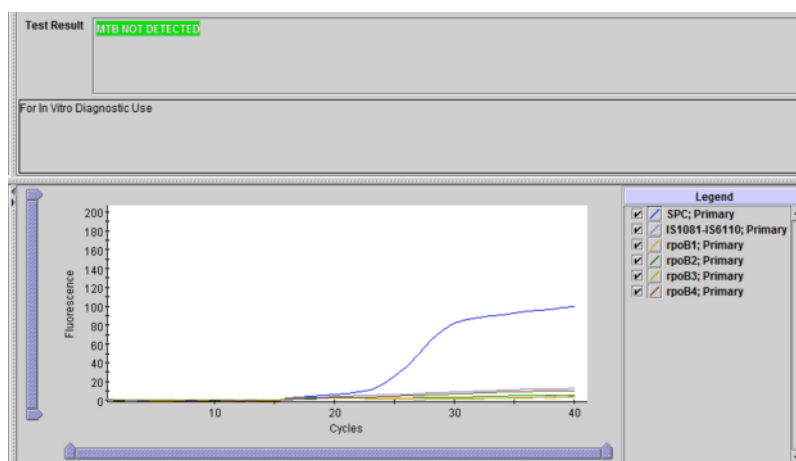
Sistem instrumenta GeneXpert generira rezultate iz izmerjenih fluorescentnih signalov in vgrajenih algoritmov za izračun. Rezultate si lahko ogledate v oknu **Ogled rezultatov (View Results)**. Za specifične primere glejte Slika 7, Slika 8, Slika 9, Slika 10, Slika 11 in Slika 12, za seznam vseh možnih rezultatov pa glejte Preglednica 3.



Slika 7. MTB ZAZNANA SREDNJE; RIF odpornost ZAZNANA (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance DETECTED) (podrobni pogled za uporabnika GeneXpert Dx)



Slika 8. MTB ZAZNANA SREDNJE; RIF odpornost NI ZAZNANA (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance NOT DETECTED) (podrobni pogled za uporabnika GeneXpert Dx)



Slika 9. MTB NI ZAZNANA (MTB NOT DETECTED) (podrobni pogled za uporabnika 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.

Slika 10. MTB ZAZNANA NIZKO, RIF odpornost ZAZNANA (MTB DETECTED LOW; 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.

Slika 11. MTB ZAZNANA NIZKO, RIF odpornost NI ZAZNANA (MTB DETECTED LOW; 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.

Slika 12. MTB NI ZAZNANA (MTB NOT DETECTED) (GeneXpert Edge)

Preglednica 2. Rezultati testa Xpert MTB/RIF Ultra in tolmačenje

Rezultat	Tolmačenje
MTB ZAZNANA VISOKO, RIF odpornost ZAZNANA (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance DETECTED)	Tarčna MTB je prisotna v vzorcu: • Zaznana je bila mutacija tarčnega zaporedja gena <i>rpoB</i>. • SPC: N/s (ni smiselno) ((NA (not applicable)). Signal SPC ni potreben, ker se lahko amplifikacijo MTB dokonča s to kontrolo. • Preverjanje sond: USPEŠNO (PASS). Vsi rezultati testiranja sond so uspešni.
MTB ZAZNANA SREDNJE, RIF odpornost ZAZNANA (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance DETECTED)	
MTB ZAZNANA NIZKO, RIF odpornost ZAZNANA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance DETECTED)	
MTB ZAZNANA ZELO NIZKO, RIF odpornost ZAZNANA (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance DETECTED)	
MTB ZAZNANA VISOKO, RIF odpornost NI ZAZNANA (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance NOT DETECTED)	Tarčna MTB je prisotna v vzorcu: • Mutacija tarčnega zaporedja gena <i>rpoB</i> ni bila zaznana. • SPC: N/s (ni smiselno) ((NA (not applicable)). Signal SPC ni potreben, ker se lahko amplifikacijo MTB dokonča s to kontrolo. • Preverjanje sond: USPEŠNO (PASS). Vsi rezultati testiranja sond so uspešni.
MTB ZAZNANA SREDNJE, RIF odpornost NI ZAZNANA (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance NOT DETECTED)	
MTB ZAZNANA NIZKO, RIF odpornost NI ZAZNANA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance NOT DETECTED)	
MTB ZAZNANA ZELO NIZKO, RIF odpornost NI ZAZNANA (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance NOT DETECTED)	

Rezultat	Tolmačenje
MTB ZAZNANA VISOKO, RIF odpornost NEDOLOČLJIVA (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance INDETERMINATE)	Tarčna MTB je prisotna v vzorcu: • Odpornosti RIF ni bilo mogoče določiti zaradi neveljavnih talitvenih vrhov. • SPC: N/s (ni smiselno) ((NA (not applicable))). Signal SPC ni potreben, ker se lahko amplifikacijo MTB dokonča s to kontrolo. • Preverjanje sond: USPEŠNO (PASS). Vsi rezultati testiranja sond so uspešni.
MTB ZAZNANA SREDNJE, RIF odpornost NEDOLOČLJIVA (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance INDETERMINATE)	
MTB ZAZNANA NIZKO, RIF odpornost NEDOLOČLJIVA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance INDETERMINATE)	
MTB ZAZNANA ZELO NIZKO, RIF odpornost NEDOLOČLJIVA (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance INDETERMINATE)	
MTB ZAZNANA v sledovih, RIF odpornost NEDOLOČLJIVA (MTB Trace DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)	Tarčna MTB je prisotna v vzorcu: • Odpornosti RIF ni mogoče določiti zaradi nezadostnega zaznanega signala. • SPC: N/s (ni smiselno) ((NA (not applicable))). Signal SPC ni potreben, ker se lahko amplifikacijo MTB dokonča s to kontrolo. • Preverjanje sond: USPEŠNO (PASS). Vsi rezultati testiranja sond so uspešni.
MTB NI ZAZNANA (MTB NOT DETECTED)	Tarčna MTB ni zaznana v vzorcu: • SPC: USPEŠNO (PASS). SPC je izpolnila merila sprejemljivosti. • Preverjanje sond: USPEŠNO (PASS). Vsi rezultati testiranja sond so uspešni.
NEVELJAVNO (INVALID)	Prisotnosti ali odsotnosti RNA ni mogoče določiti. SPC ne dosega meril sprejemljivosti, vzorec ni bil ustrezno obdelan oziroma je prišlo do inhibicije PCR. Ponovite test. Glejte poglavje Postopek za ponovitev testa v tem dokumentu. • MTB NEVELJAVNA (MTB INVALID): Prisotnosti ali odsotnosti DNA MTB ni mogoče določiti. • SPC: NEUSPEH (FAIL). Rezultat tarčne MTB je negativen in SPC Ct ni znotraj veljavnega razpona. • Preverjanje sond: USPEŠNO (PASS). Vsi rezultati testiranja sond so uspešni.
NAPAKA (ERROR)	Prisotnosti ali odsotnosti RNA ni mogoče določiti. Ponovite test. Glejte poglavje Postopek za ponovitev testa v tem dokumentu. • MTB: BREZ REZULTATA (NO RESULT) • SPC: BREZ REZULTATA (NO RESULT) • Preverjanje sond: NEUSPEH (FAIL). Vsi ali eden od rezultatov testiranja sond ni uspel.
Opomba	Če je preverjanje sonde uspelo, napako povzroči okvara sistemske komponente.

Rezultat	Tolmačenje
BREZ REZULTATA (NO RESULT)	Prisotnosti ali odsotnosti RNA ni mogoče določiti. Ponovite test. Glejte poglavje Postopek za ponovitev testa v tem dokumentu. Znak BREZ REZULTATA (NO RESULT) pomeni, da ni bilo zbranih dovolj podatkov. Na primer, operater je zaustavil testiranje, ki se je izvajalo. • MTB: BREZ REZULTATA (NO RESULT) • SPC: BREZ REZULTATA (NO RESULT) • Preverjanje sond: N/s (ni smiselno) ((NA (not applicable)))

Preglednica 3. Xpert MTB/RIF Ultra: Vsi možni rezultati

Rezultati TB	Rezultati RIF
MTB ZAZNANA VISOKO (MTB DETECTED HIGH)	RIF odpornost ZAZNANA (RIF Resistance DETECTED)
MTB ZAZNANA VISOKO (MTB DETECTED HIGH)	RIF odpornost NI ZAZNANA (RIF Resistance NOT DETECTED)
MTB ZAZNANA VISOKO (MTB DETECTED HIGH)	RIF odpornost NEDOLOČLJIVA (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB ZAZNANA MEDIUM (MTB DETECTED MEDIUM)	RIF odpornost ZAZNANA (RIF Resistance DETECTED)
MTB ZAZNANA MEDIUM (MTB DETECTED MEDIUM)	RIF odpornost NI ZAZNANA (RIF Resistance NOT DETECTED)
MTB ZAZNANA MEDIUM (MTB DETECTED MEDIUM)	RIF odpornost NEDOLOČLJIVA (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB ZAZNANA NIZKO (MTB DETECTED LOW)	RIF odpornost ZAZNANA (RIF Resistance DETECTED)
MTB ZAZNANA NIZKO (MTB DETECTED LOW)	RIF odpornost NI ZAZNANA (RIF Resistance NOT DETECTED)
MTB ZAZNANA NIZKO (MTB DETECTED LOW)	RIF odpornost NEDOLOČLJIVA (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB ZAZNANA ZELO NIZKO (MTB DETECTED VERY LOW)	RIF odpornost ZAZNANA (RIF Resistance DETECTED)
MTB ZAZNANA ZELO NIZKO (MTB DETECTED VERY LOW)	RIF odpornost NI ZAZNANA (RIF Resistance NOT DETECTED)
MTB ZAZNANA ZELO NIZKO (MTB DETECTED VERY LOW)	RIF odpornost NEDOLOČLJIVA (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB v sledovih (MTB trace) ^a ZAZNANO (DETECTED)	RIF odpornost NEDOLOČLJIVA (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB NI ZAZNANA (MTB NOT DETECTED)	
NEVELJAVNO (INVALID)	
NAPAKA (ERROR)	
BREZ REZULTATA (NO RESULT)	

^a Rezultat v sledovih pomeni, da so bile zaznane nizke ravni MTB, vendar pa rezultat odpornosti na RIF ni bil zaznan. To se zgodi zaradi povečane občutljivosti odkrivanja TB z uporabo tarč IS6110 in IS1081 z več kopijami v nasprotju z odkrivanjem odpornosti RIF z uporabo gena rpoB za eno kopijo. Zato v vzorcu v sledovih ni mogoče določiti rezultata odpornosti ali občutljivosti na RIF. Vzorec v sledovih je vedno **RIF odpornost NEDOLOČLJIVA (RIF Resistance INDETERMINATE)**.

13.1 Razlogi za ponovitev testa

Če pride do enega od naslednjih rezultatov testa, ponovite preskus z novo kartušo.

- Rezultat **NEVELJAVNO (INVALID)** označuje, da je SPC neuspešen. Vzorec ni bil pravilno obdelan ali pa je prišlo do zaviranja PCR.
- Rezultat **NAPAKA (ERROR)** pomeni, da kontrola za preverjanja sonde ni uspela in je bil test prekinjen, verjetno zaradi nepravilno napolnjene reakcijske epruvete ali je bila zaznana težava s celovitostjo sonde reagenta, so bile presežene meje maksimalnega tlaka oziroma modul GeneXpert ni deloval.
- Znak **BREZ REZULTATA (NO RESULT)** pomeni, da ni bilo zbranih dovolj podatkov. Na primer, operater je zaustavil testiranje, ki se je izvajalo.

13.2 Postopek ponovnega testiranja

Če imate ostanek svežega sputuma ali rekonstituiranega sedimenta, pred izvedbo testa vedno uporabite nov SR za dekontaminacijo in utekočinjanje sputuma ali sedimenta. Glejte Razdelek 10 ali Postopek za neobdelani sputum.

Če imate dovolj ostankov vzorca, obdelanega s SR, in ste v 4-urnem obdobju po začetnem dodajanju SR vzorcu, lahko preostali vzorec uporabite za pripravo in obdelavo novega vložka. Pri ponovnem testiranju vedno uporabite nov vložek in test takoj začnite. Glejte Priprava vložka.

14 Omejitve

Ker je zaznavanje MTB odvisno od številnih organizmov, prisotnih v vzorcu, so zanesljivi rezultati odvisni od ustreznega odvzema vzorca, obravnave in shranjevanja. Do napačnih rezultatov preskusov lahko pride zaradi nepravilnega zbiranja vzorcev, ravnanja z njimi ali skladiščenja, tehnične napake, mešanja vzorcev ali nezadostne koncentracije vhodnega materiala. Da bi se izognili napačnim rezultatom, je treba natančno upoštevati navodila za uporabo.

Pri posameznikih, pri katerih je bil odkrit rezultat **ZAZNANI sledovi MTB (MTB Trace DETECTED)**, bodo za odločitve o zdravljenju tuberkuloze v nekaterih okoljih morda potrebovali dodatne klinične informacije in razmislek o njihovem kliničnem kontekstu.

Pozitivni rezultat testa ne nakazuje nujno prisotnosti živih organizmov. Vendar pa to pomeni domnevo na prisotnost odpornosti na MTB in rifampin.

Mutacije ali polimorfizmi v regijah, ki vežejo primer ali sondo, lahko vplivajo na odkrivanje novih ali neznanih sevov, odpornih na MDR-MTB ali rifampin, kar povzroči lažno občutljiv rezultat na rifampin.

Uspešnost testa Xpert MTB/RIF Ultra ni bila ovrednotena pri bolnikih, mlajših od osemnajst let.

Test Xpert MTB/RIF Ultra ne potrjuje občutljivosti na rifampin, saj lahko obstajajo drugi mehanizmi odpornosti na rifampin, razen tistih, ki jih odkrije ta naprava, ki so lahko povezani s pomanjkanjem kliničnega odziva na zdravljenje.

Pri vzorcih, pri katerih sta bila DNA kompleks MTB in mutacija gena *rpoB*, povezana z odpornostjo na rifampin, zaznana s testom Xpert MTB/RIF Ultra, je treba premisliti o dodatnem testiranju na občutljivost za zdravila.

Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra je odvisna od usposobljenosti operaterja in upoštevanja postopkov testiranja. Postopkovne napake testa lahko povzročijo lažno pozitivne ali lažno negativne rezultate. Vsi upravljalci naprav bi morali imeti ustrezno usposabljanje za naprave.

Motnje testa so opazili pri vzorcih z ≥ 100 ug/ml albuterol sulfata.

15 Klinična učinkovitost

15.1 Zasnova klinične študije

Značilnosti učinkovitosti Xpert MTB/RIF Ultra testa so bile ocenjene za odkrivanje DNA kompleksa MTB in za odkrivanje mutacij, povezanih z odpornostjo na RIF, v vzorcih sputuma glede na rezultate iz kulture (trdni in/ali tekoči medij) oziroma testiranja občutljivosti na zdravila (DST). Ta multicentrična študija je uporabila prospektivne in arhivirane vzorce neposrednega (surovega) sputuma ali koncentriranega sedimenta, zbrane pri osebah, starih 18 let ali več. Med preskušanci so bile osebe s sumom na pljučno tuberkulozo, ki ni zdravljena, ali je bila zdravljena manj kot 3 dni v 6 mesecih od začetka študije (sum na tuberkulozo), pa tudi preskušanci, predhodno zdravljeni za tuberkulozo, za katere obstaja sum, da imajo

tuberkulozo, odporno na več zdravil (sum na MDR TB). Študija je bila izvedena po vsem svetu (Belorusija, Brazilija, Kitajska, Gruzija, Nemčija, Indija, Italija, Kenija, Peru, Južna Afrika, Uganda, Vietnam in ZDA). Občutljivost in posebnost odkrivanja testa Xpert MTB/RIF Ultra MTB so ocenjevali z uporabo podatkov samo osumljencev za tuberkulozo; medtem so bili podatki osumljencev za MDR TB združeni za oceno učinkovitosti odpornosti na RIF.

Med 1985 vzorci, vključenimi v analizo primarnih podatkov, so bili vzorci od udeležencev študije, starih ≥ 18 let, 59 % je bilo moških ($n = 1175$), 37 % pa žensk ($n = 734$); za 4 % ($n = 76$) spol ni bil znan ali ni bil na voljo. Prihajali so iz geografsko različnih regij: 11 % ($n = 217$) je bilo iz ZDA (Kalifornija, New York in Florida), 89 % ($n = 1768$) pa iz držav zunaj ZDA (Belorusija, Brazilija, Kitajska, Gruzija, Nemčija, Italija, Indija, Južna Afrika, Kenija, Peru, Vietnam in Uganda).

15.2 Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra v primerjavi s kulturo MTB

Od vsakega preiskovanca so zbrali do tri vzorce sputuma za uporabo v klinični študiji. Za prospektivne vzorce so prvi vzorec sputuma testirali s testom Xpert MTB/RIF Ultra, druga dva vzorca pa uporabili za kulturo TB. Za arhivirane vzorce so bili rezultati kulture na voljo po metodi standardne oskrbe, test Xpert MTB/RIF Ultra pa je bil izveden z uporabo prvega vzorca z zadostno količino. Če rezultata testa ni bilo mogoče določiti (**NAPAKA (ERROR)**, **NEVELJAVNO (INVALID)** ali **NI REZULTATA (NO RESULT)**), je bil vzorec ponovno testiran, če je količina zadoščala. Ultrazvočni testi MTB za 96,8 % (1939/2004) vzorcev so bili uspešni v prvem poskusu (začetna stopnja ND = 3,2 %). Šestinštrideset od 65 nedoločenih primerov so ponovno testirali, od tega so dali pri ponovnem testiranju; 19 vzorcev niso ponovno testirali. Skupni delež uspešnosti testa je bil 99,1 % (1985/2004). Skupna stopnja nedoločenosti je bila 0,9 % (19/2004). Status razmaza kislinsko hitrih bacilov (AFB, acid fast bacilli) pri preiskovancu je bil določen z barvanjem razmaza s fluorescentnim Auramine-O (AO) ali po Ziehl-Neelsen (ZN) iz vzorca z ustreznim rezultatom testa Xpert MTB/RIF Ultra. Status kulture MTB za vse preiskovance je bil določen na podlagi rezultata kulture MTB vseh vzorcev, zbranih v sedemdnevnem obdobju za tega preiskovanca.

Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra za zaznavanje MTB v primerjavi s kulturo MTB, stratificirano za status razmaza AFB, je prikazana v spodnji preglednici. Občutljivost pri vzorcih pozitivnih in negativnih razmazov je bila 99,5 % (426/428), 95-% IZ: 98,3; 99,9 oz. 73,3 % (200/273), 95-% IZ: 67,7; 78,2. Celokupna specifičnost testa Xpert MTB/RIF Ultra ne glede na razmaz AFB je bila 95,5 % (1222/1280), 95-odstotni IZ: 94,2; 96,5. Glejte spodnje preglednice.

Preglednica 4. Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra v primerjavi s kulturo MTB

		Bris/kultura				Skupno
		Pozitivno			Negativno	
		Bris AFB +	Bris AFB -	Splošna kultura +	Splošna kultura -	
Xpert MTB/ RIF Ultra	MTB ZAZNANA (MTB DETECTED)	426	200	630 ^a	58	688
	MTB NI ZAZNANA (MTB NOT DETECTED)	2	73	75	1222	1297
	Skupno	428	273	705	1280	1985
Učinkovitost pri pozitivnem brisu: Občutljivost: 99,5 % (426/428), 95-% IZ: 98,3; 99,9						
Učinkovitost pri negativnem brisu: Občutljivost: 73,3 % (200/273), 95-% IZ: 67,7; 78,2						
Splošna učinkovitost: Občutljivost: 89,4 % (630/705), 95-% IZ: 86,9; 91,4						
Specifičnost: 95,5 % (1222/1280), 95-% IZ: 94,2; 96,5						

^a Rezultati razmaza za 4 kulture pozitivnih vzorcev niso bili na voljo.

Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra pri odkrivanju MTB glede na kulturo MTB, stratificirana po lokacijah zunaj ZDA v primerjavi v ZDA, je prikazana v spodnji preglednici. Med 1985 je bilo 1768 primerkov z lokacij zunaj ZDA in 217 z mest v ZDA.

Preglednica 5. Test Xpert MTB/RIF Ultra v primerjavi s kulturo MTB po mestih zunaj ZDA v primerjavi z mesti v ZDA

	Zunaj ZDA		ZDA	
	N	Odstotek (95-% IZ)	N	Odstotek (95-% IZ)
Poz. bris občutljivosti	380/382	99,5 % (98,1; 99,9)	46/46	100,0 % (92,3; 100)
Neg. bris občutljivosti	180/245	73,5 % (67,6; 78,6)	20/28	71,4 % (52,9; 84,7)
Splošna občutljivost	564/631 ^a	89,4 % (86,7; 91,6)	66/74	89,2 % (80,1; 94,4)
Splošna specifičnost	1080/1137	95,0 % (93,6; 96,1)	142/143	99,3 % (96,1; 99,9)

^a Rezultati razmaza za 4 kulture pozitivnih vzorcev niso bili na voljo.

15.3 Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra v primerjavi s kulturo glede na vrsto brisa

Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra za odkrivanje MTB je bila določena glede na kulturo MTB pri vzorcih z AFB razmazom, opravljenimi z AO in ZN. Rezultati so prikazani v spodnji preglednici. Med 1985 vzorci je bilo 1810 osebkov z AO brisi in 175 z ZN brisi.

Preglednica 6. Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra v primerjavi s kulturo MTB glede na metodo barvanja Auramine O (AO) in Ziehl-Neelsen (ZN)

	Metoda Auramine O		Metoda Ziehl-Neelsen	
	N	Odstotek (95-% IZ)	N	Odstotek (95-% IZ)
Poz. bris občutljivosti	386/388	99,5 % (98,1; 99,9)	40/40	100 % (91,2; 100)
Neg. bris občutljivosti	153/219	69,9 % (63,5; 75,6)	47/54	87,0 % (75,6; 93,6)
Splošna občutljivost	543/611 ^a	88,9 % (86,1; 91,1)	87/94	92,6 % (85,4; 96,3)
Splošna specifičnost	1145/1199	95,5 % (94,2; 96,5)	77/81	95,1 % (88,0; 98,1)

^a Rezultati razmaza za 4 kulture pozitivnih vzorcev niso bili na voljo.

15.4 Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra v primerjavi s kulturo glede na vrsto vzorca

Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra za odkrivanje MTB je bila določena glede na kulturo MTB v vzorcih nepredelanega sputuma in koncentriranega sedimenta sputuma. Rezultati so prikazani v spodnji preglednici. Med 1985 vzorci je bilo 1543 neobdelanih vzorcev sputuma in 442 vzorcev koncentriranega sedimenta sputuma.

Preglednica 7. Test Xpert MTB/RIF Ultra v primerjavi s kulturo MTB po tipu vzorca

	Neposredni sputum		Sedimenti sputuma	
	N	% (95 % IZ)	N	% (95 % IZ)
Poz. bris občutljivosti	323/324	99,7 % (98,3; 99,9)	103/104	99,0 % (94,8; 99,8)
Neg. bris občutljivosti	168/229	73,4 % (67,3; 78,7)	32/44	72,7 % (58,2; 83,7)
Splošna občutljivost	495/557 ^a	88,9 % (86,0; 91,2)	135/148	91,2 % (85,6; 94,8)
Splošna specifičnost	937/986	95,0 % (93,5; 96,2)	285/294	96,9 % (94,3; 98,4)

^a Rezultati razmaza za 4 kulture pozitivnih vzorcev niso bili na voljo.

15.5 Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra v primerjavi s testiranjem občutljivosti na zdravila za RIF

Izolate pozitivne kulture MTB smo testirali na občutljivost za zdravila (DST) na rifampin z uporabo metode deleža agarja z mediji Middlebrook ali Lowenstein-Jensen, panelom MIC Thermo Scientific Sensititre™ Mycobacterium tuberculosis ali testom BD BACTEC™ MGIT™ 960 SIRE. Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra za odkrivanje mutacij, povezanih z odpornostjo na RIF, je bila določena glede na rezultate DST izolatov kulture MTB.

Rezultate odkrivanja mutacij, povezanih z odpornostjo na RIF, je test Xpert MTB/RIF Ultra poročal le, ko je pripomoček zaznal gensko zaporedje *rpoB* kompleksa MTB. Učinkovitost za občutljivost/odpornost na RIF je poročana v spodnji preglednici. Vzorci z DST niso izvedeni, **MTB NI ZAZNANA (MTB NOT DETECTED)** in **MTB ZAZNANA; RIF odpornost NEDOLOČLJIVA (MTB DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)** so bili iz analize izključeni. Triinšestdeset (63) od 67 vzorcev z nedoločljivimi rezultati RIF je bilo **MTB ODKRITA v sledovih; RIF odpornost NEDOLOČLJIVA (MTB Trace DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)**.

Preglednica 8. Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra v primerjavi z DST

Test občutljivosti zdravila			
	Odpornost na RIF	Občutljivost na RIF	Skupno

Test občutljivosti zdravila				
		Odpornost na RIF	Občutljivost na RIF	Skupno
Xpert MTB/ RIF Ultra	MTB ZAZNANA, RIF odpornost ZAZNANA (MTB DETECTED; RIF Resistance DETECTED)	128	12 ^a	140
	MTB ZAZNANA, RIF odpornost NI ZAZNANA (MTB DETECTED; RIF Resistance NOT DETECTED)	5 ^b	314	319
	Skupno	133	326	459
		Občutljivost: 96,2 % (128/133), 95-% IZ: 91,5; 98,4 Specifičnost: 96,3 % (314/326), 95-% IZ: 93,7; 97,9		

a Neskladnost rezultatov sekvenciranja: 11 od 12 odpornih na RIF, 1 od 12 ni na voljo.

b Neskladnost rezultatov sekvenciranja: 4 od 5 občutljivih na RIF, 1 od 5 ni na voljo.

15.6 Učinkovitost testa Xpert MTB/RIF Ultra v primerjavi s testom Xpert MTB/RIF

Tisoč petsto štiriindevetdeset (1594) vzorcev je bilo testiranih s testom Xpert MTB/RIF Ultra in s testom Xpert MTB/RIF. Skupni odstotek ujemanja med testi je bil 96,5 % [(1538/1594) 95-% IZ: 95,5; 97,3]. Odstotek pozitivnega oz. odstotek negativnega ujemanja je bil 99,2 % [(491/495) 95-% IZ: 97,9; 99,7] oziroma 95,3 % [(1047/1099) 95-% IZ: 93,8; 96,4].

15.7 Ponovljivost

Ponovljivost testa Xpert MTB/RIF Ultra je bila ocenjena na treh mestih z uporabo nabora vzorcev, sestavljenih iz sevov MTB, občutljivih in odpornih na rifampin. Vzorci, pozitivni na MTB, so bili pripravljene v simuliranem matriksu sputuma z nizko (~ 1X LoD) in zmerno (2-3X LoD) koncentracijo. Vključen je bil tudi negativen član nabora, ki je vseboval simulirani matriks sputuma. Dva različna operaterja sta na šest različnih dni dvakrat na dan testirala nabor s petimi vzorci na treh mestih (240 testov na vsaki lokaciji = 2 operaterja x 6 dni x 2 ponovitvi x 2 teka na dan). V študiji so uporabili tri serije kompletov reagenta testa Xpert MTB/RIF Ultra. Stopnja ujemanja za vsakega člana nabora je predstavljena v preglednici Preglednica 9.

Preglednica 9. Povzetek rezultatov ponovljivosti - ujemanje glede na študijsko mesto/instrument

Vzorec	Mesto 1 (GeneXpert Dx)	Mesto 2 (GeneXpert Dx)	Center 3 (Infinity Xpertise)	% skupnega ujemanja na vzorec
Negativno	98 % (47/48)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	99,3% (143/144)
MTB nizko pozitivni, Odpornost na RIF	96 % (46/48)	96 % (46/48)	98 % (47/48)	96,5 % (139/144)
MTB zmerno pozitivni, Odpornost na RIF	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (144/144)
MTB nizko pozitivni, Občutljivost na RIF	100 % (48/48)	100 % (48/48)	98 % (47/48)	99,3% (143/144)
MTB zmerno pozitivni, Občutljivost na RIF	100 % (47/47)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (143/143)

Obnovljivost testa Xpert MTB/RIF Ultra je bila ocenjena tudi v smislu signala fluorescence, izraženega v vrednostih pragovnega cikla Ct za vsak zaznan cilj. Povprečje, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (CV) med lokacijami, med dnevi, med operaterji in med komponentami teka za vsakega člana panela so predstavljeni v Preglednica 10. Tek je opredeljen kot štirje vzorci na člana nabora, ki ga testira en operater na enem mestu na en dan.

Preglednica 10. Povzetek podatkov ponovljivosti

Vzorec		N	Povprečni Ct	Varianca											
				Med lokacijami		Med serijami		Med dnevi		Med operaterji		Med teki/ analizami		Skupno	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Negativno	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
MTB nizko pozitiven, odporen 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 zmerno pozitiven, odporen 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 nizko pozitiven, občutljiv 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 zmerno pozitiven, občutljiv 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 Značilnosti analitične učinkovitosti

16.1 Morebitne moteče snovi

Za oceno učinkov potencialno motečih snovi na test Xpert MTB/RIF Ultra je bila izvedena študija v matriksu umetnega sputuma. Ocenjenih je bilo 32 potencialno motečih snovi. Potencialno endogene moteče snovi lahko med drugim vključujejo kri, gnoj (bele krvničke), celice iz dihal, mucin, človeško DNA in želodčno kislino iz želodca. Druge potencialno moteče snovi so lahko anestetiki, antibiotiki, antibakterijska, protituberkulozna zdravila, protivirusna zdravila, bronhodilatatorji, inhalacijski bronhodilatatorji, živo intranazalno cepivo proti virusu gripe, germicidne ustne vodice, reagenti za obdelavo vzorcev, zdravila proti *Pneumocystis jiroveci*, homeopatska zdravila proti alergijam, nazalni kortikosteroidi, nazalni geli, nazalna pršila, peroralni anestetiki, peroralni ekspektoransi, nevtralizirajoči pufri in tobak. Te snovi so navedene v Preglednica 11 s prikazanimi aktivnimi sestavinami in testiranimi koncentracijami. V študijo so bili vključeni pozitivni in negativni vzorci. Pozitivni vzorci so bili testirani blizu 3-kratnika analitske meje detekcije z uporabo celic BCG v ponovitvah po 8 ali 9. Negativne vzorce, sestavljene iz snovi, odsotne v sevu MTB, so testirali na snov v ponovitvah po 8 za določitev vpliva na učinkovitost kontrole obdelave vzorcev (SPC).

Za nobeno od 32 testiranih potencialno motečih snovi niso opazili zaviralnega učinka (Preglednica 11).

Preglednica 11. Moteče snovi

Snov	Opis/aktivna sestavina	Testirana koncentracija
Kri	Kri 5 % v/v (ljudje)	5 % (v/v)
Germicidna ustna vodica	Klorheksidin glukonat (0,12 %), 20-% raztopina	20 % (v/v)
Reagenti za obdelavo vzorcev	Cetilpiridinijev klorid, 1 % v 2 % NaCl	0,5 % (v/v) v 1 % NaCl
Reagenti za obdelavo vzorcev	Cetilpiridinijev klorid, 1 % v 2 % NALC	0,5 % (v/v) v 1 % NALC
Reagenti za obdelavo vzorcev	Cetilpiridinijev klorid, 1 % v 2 % NALC plus 25 mM citrata	0,5 % (v/v) v 1 % NALC plus 12,5 mM citrata
Želodčna kislina	pH 3 do 4 raztopina v vodi, nevtralizirana z natrijevim bikarbonatom	100 % (v/v)
Človeška DNK/celice	HeLa S3, 1 x 10 ⁷ (HELA 229)	10 ⁶ celic/ml
Antimikotik; antibiotik	Peroralna suspenzija Nystatin, 20 %	20 % (v/v)
Bele krvničke (človeške)	Matriks belih krvničk/gnoja (30-% pufrna obloga; 30 % plazma; 40 % PBS)	100 % (v/v)
Anestetiki (endotrahealna intubacija)	Lidokain HCl 4 %	30 % (v/v)
Nebulizacijske raztopine	NaCl 5% (m/v)	5 % (m/v)
Mucin	Mucin 5 % (m/v)	5 % (m/v)
Protibakterijsko zdravilo, sistemsko	Levofloksacin 25 mg/ml	5 mg/ml
Nazalni kortikosteroid	Flutikazon 500 mkg/razpršilo	5 µg/ml
Inhalacijski bronhodilatatorji	Albuterol sulfat 2 mg/5 ml	75 µg/ml (m/v); 100 µg/ml (m/v)
Peroralni anestetiki	Orajel (20 % benzokain)	5 % (m/v)
Protivirusna zdravila	Aciklovir, i.v. 50 mg/ml	50 µg/ml

Snov	Opis/aktivna sestavina	Testirana koncentracija
Antibiotik, mazilo za nos	Neosporin (400 E bacitracin, 3,5 mg neomicin, 5000 e polimiksin B)	5 % (m/v)
Tobak	Nicogel (40 % izvleček tobaka)	0,5 % (m/v)
Zdravila proti tuberkulozi	Streptomycin 1 mg/ml	25 µg/ml
Zdravila proti tuberkulozi	Etambutol 1 mg/ml	50 µg/ml
Zdravila proti tuberkulozi	Izoniazid 1 mg/ml	50 µg/ml
Peroralni ekspektoranti	Gvajfenezin (400 mg/tableto)	5 mg/ml
Zdravila proti tuberkulozi	Pirazinamid 10 mg/ml	100 µg/ml
Nazalni gel (homeopatski)	Gel Zicam	50 % (m/v)
Nazalni sprej	Fenilefrin 1-%	0,5 % v/v
Zdravila proti tuberkulozi	Rifampicin 1 mg/ml	25 µg/ml
Zdravilo za lajšanje alergij (homeopatsko)	Olje čajevca (<5% Cineole, >35 % terpinen 4-ol)	0,5 % v/v
Živo intranazalno cepivo proti virusu gripe	Živo cepivo proti virusu gripe FluMist	5 %
Zdravilo proti <i>Pneumocystis jiroveci</i>	Pentamidin	300 ng/ml
Bronhodilatator	Epinefrin (formulacija za injiciranje)	1 mg/ml
Zdravila proti tuberkulozi	Amoksicilin	25 µg/ml

16.2 Analitična občutljivost (meja zaznavnosti)

Izvedene so bile študije za določitev analitične občutljivosti ali meje zaznavnosti (LoD, Limit of Detection) testa Xpert MTB/RIF Ultra pri uporabi seva *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv in *Mycobacterium bovis* BCG (Bacille Calmette-Guerin), razredčenega v človeškem sputumu in sedimentu človeškega sputuma. Pozitiven rezultat MTB temelji na zaznavanju tarč IS1081/IS6110.

Izvedene so bile tudi študije za določitev analitične občutljivosti ali meje zaznavnosti testa Xpert MTB/RIF Ultra za zaznavanje odpornosti na RIF z uporabo dobro označenega kliničnega seva, odpornega na rifampin (*Mycobacterium tuberculosis*) (TDR125), ki vsebuje mutacijo D516V v „osrednjem“ območju baze 81 gena *rpoB*, razredčenega v človeškem sputumu in sedimentu človeškega sputuma.

LoD je najnižja koncentracija, za CFU/ml, ki se lahko ponovljivo razlikuje od negativnih vzorcev s 95-odstotno zanesljivostjo. Najmanj 20 ponovitev za dva seva smo ovrednotili pri petih do osmih koncentracijah v 3 dneh, LoD pa smo določili z analizo Probit. Zatrjevane LoD so povzete v spodnji preglednici.

Preglednica 12. Analitični podatki Probit in zatrjevanje LoD v CFU/ml

Vrste mikobakterij	Vrsta vzorca	Zatrjevana LoD
<i>M. bovis</i> (BCG)	Sputum	30
	Sediment sputuma	33
<i>M. tuberculosis</i> (H37Rv)	Sputum	12
	Sediment sputuma	11

Preglednica 13. Analitični podatki Probit in zatrjevanje odpornosti LoD v CFU/ml

Vrste mikobakterij	Vrsta vzorca	Zatrjevana LoD
<i>M. tuberculosis</i> (TDR125)	Sputum	1093
	Sediment sputuma	4000

16.3 Analitična specifičnost (ekskluzivnost)

Kulture 30 sevov netuberkuloznih mikobakterij (NTM) so bile testirane s testom Xpert MTB/RIF Ultra. Tri ponovitve vsakega izolata so bile vmešane v pufer in testirane pri koncentraciji $\geq 10^6$ CFU/ml. Glejte Preglednica 14.

Preglednica 14. Sevi NTM, testirani na specifičnost

<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 shimodei</i>
<i>Mycobacterium malmoeense</i>	<i>Mycobacterium phlei</i>
<i>Mycobacterium marinum</i>	<i>Mycobacterium terrae</i>

V pogojih študije so za vse izolate NTM poročali o **MTB NOT DETECTED (MTB NI ZAZNAN)**. V študijo so bile vključene pozitivne in negativne kontrole. Specifičnost je bila 100-%.

Dodatno so za ugotovitev, ali bi visoke koncentracije NTM ovirale odkrivanje nizkih ravni (3X LoD) tuberkuloze, šest reprezentativnih sevov, navedenih v Preglednica 14, zmešali s sevom tuberkuloze H37Rv in *M. bovis* v sputumu do končne koncentracije 10^6 CFU/ml NTM in 36 CFU/ml *M. tuberculosis* H37Rv oziroma 90 CFU/ml *M. bovis*.

Mikrobne motnje ne-tuberkuloznih mikobakterij (NTM) v prisotnosti H37Rv-mc2 6030 smo ocenili z uporabo šestih reprezentativnih sevov NTM (*M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. celatum*, *M. abscessus* 19977 in *M. gordonae*). Testirali so po 5 ponovitev za vsak tarčni sev in vsako kombinacijo kompetitivnega seva. 5 ponovljenih vzorcev pri 3 x LoD

je dalo 5 od 5 veljavnih rezultatov za vseh 6 kombinacij mešanic pri CFU/ml $36 \geq 1 \times 10^6$ H37Rv-mc2 6030. V pogojih te študije visoke koncentracije NTM niso zavirale odkrivanja nizkih ravni *Mycobacterium tuberculosis* z uporabo testa Xpert MTB/RIF Ultra. Konkurenčnih zaviralnih učinkov niso opazili.

Mikrobne motnje ne-tuberkuloznih mikobakterij (NTM) v prisotnosti celic MTB-BCG smo ocenili z uporabo osmih reprezentativnih sevov NTM (*M. avium* 19250, *M. intracellulare* 35771, *M. kansasii* 12478, *M. kansasii* 35776, *M. celatum* 51131, *M. abscessus* 700868, in *M. goodii* 14470, *M. goodii* 35760). Testirali so po 5 ponovitev za vsak tarčni sev in vsako kombinacijo kompetitivnega seva. 5 ponovljenih vzorcev je dalo 5 od 5 veljavnih rezultatov za vseh 8 kombinacij mešanic. Mešanice so bile testirane v CFU/ml v razmerju 90 do $\geq 1 \times 10^6$ MTB-BCG celic. V pogojih te študije visoke koncentracije NTM niso zavirale odkrivanja nizkih ravni *Mycobacterium tuberculosis* z uporabo testa Xpert MTB/RIF Ultra. Konkurenčnih zaviralnih učinkov niso opazili.

16.4 Vrste/sevi, testirani glede specifičnosti

Naslednji mikroorganizmi, vključno z gramnegativnimi bakterijami, grampozitivnimi bakterijami, glivičnimi organizmi, virusi in kvasovkami, so bili testirani glede lažno pozitivnega rezultata testa Xpert MTB/RIF Ultra. Ponovitve vsakega izolata so bile vmešane v pufer in testirane v koncentraciji $\geq 10^6$ CFU/ml (bakterije in sevi gliv) ali $\geq 10^6$ kopij/ml (genomska DNA za bakterije in glive) in $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml (sevi virusov).

Preglednica 15. Vrste in sevi

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Respiratorni sincicijski virus tipa B</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Rhinovirus</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Chlamydia 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 parainfluenze tip 1</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Koronavirus</i>	<i>Virus parainfluenze tip 2</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Virus 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 tipa A</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Humani metapneumovirus (hMPV) 16 tip A1</i>		

V pogojih študije so za vse testirane mikroorganizme poročali o **MTB NI ZAZNAN (MTB NOT DETECTED)**. V študijo so bile vključene pozitivne in negativne kontrole. Specifičnost je bila 100-%.

16.5 Analitična inkluzivnost

Enainštirideset sevov kompleksa MTB, sestavljenih iz 20 sevov, občutljivih na rifampin, z območjem jedra *rpoB* divjega tipa, in 21 sevov, odpornih na rifampin, z enim nukleotidnim polimorfizmom (SNP) v območju jedra *rpoB*, je bilo testiranih v štirih izvodi s testom Xpert MTB/RIF Ultra. Vzorci DNA iz skupaj 41 sevov MTB so bili testirani na GeneXpert z uporabo protokola Xpert MTB/RIF Ultra, modificiranega za testiranje DNA. Končne komponente reakcije in ciklični pogoji PCR so bili nespremenjeni glede na protokol, zasnovan za testiranje vzorcev bolnikov. Dvanajst sevov je bilo iz zbirke SZO/TDR, šest pa iz laboratorijske zbirke Univerze Rutgers. Skupaj ti sevi predstavljajo izolate iz 8 držav in vsebujejo 21 izolatov, odpornih na RIF, sestavljenih iz enojne, dvojne in ene trojne mutacije v jedrni regiji *rpoB*. Vzorci so bili testirani tako, da je bilo v komoro za lizat kartuše dodanih 100 µl vzorca DNA. Pri negativnih reakcijah je bil kot vzorec uporabljen pufer. Analiza je pravilno identificirala vseh 20 sevov divjega tipa in pravilno identificirala odpornost na rifampin v 21 sevih, odpornih na rifampin z mutacijami v območju jedra *rpoB*. Za 3 mutantne seve so bili dobljeni nedoločljivi rezultati za rifampin. *M. caprae* in *M. pinnipedii* v tej študiji nista bila ocenjena.

Termolizati seva mutantov (toplotno obdelane celice) in nukleinske kisline (DNA) so bili pridobljeni iz Belgije in Rutgers New Jerseyja in izvirajo iz centrov za nadzor in preprečevanje bolezni (CDC, Centers for Disease Control and Prevention), ameriške zbirke kulture tipov (ATCC, American Type Culture Collection) in posebnega programa kolekcije za raziskave in usposabljanje za tropske bolezni UNICEF/UNDP/Svetovna banka/SZO. Analiza je pravilno identificirala vseh 20 sevov divjega tipa in pravilno identificirala odpornost na rifampin v vseh 21 sevih, odpornih na rifampin z mutacijami v območju jedra *rpoB*.

16.6 Analitična inaktivacija mikobakterije v vzorcih sputuma

Zmožnost razkuževanja reagenta za vzorec Xpert MTB/RIF Ultra je bila določena s standardizirano količinsko metodo tuberkulocidne kulture.¹² Vzorci sputuma so bili spajkani z viabilno *M. bovis* visoke koncentracije, pomešani z reagentom za vzorce v razmerju 2:1 in inkubirani 15 minut. Po inkubaciji smo reagent za vzorec/mešanico sputuma nevtralizirali z redčenjem in filtriranjem ter nato gojili. Viabilnost organizmov *M. bovis* iz obdelanega sputuma se je zmanjšala za najmanj 6 vnosov glede na neobdelano kontrolo.

Vsak laboratorij mora z lastnimi standardiziranimi metodami določiti učinkovitost dezinfekcijskih lastnosti reagenta za vzorec in upoštevati priporočene predpise o biološki varnosti.

17 Reference

1. WHO report 2018. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274453/9789241565646-eng.pdf?ua=1>.
2. WHO Global TB Report 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 (glejte zadnjo izdajo).
9. UREDBA (ES) št. 1272/2008 EVROPSKEGA PARLAMENTA IN SVETA z dne 16. decembra 2008 o razvrščanju označevanju in pakiranju snovi in mešanic, ki spreminja in razveljavlja Seznam previdnostnih stavkov, direktivi 67/548/EGS in 1999/45/ES (ki spreminja uredbo (ES) št. 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 Kraji sedeža družbe Cepheid

Sedež družbe

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Sedež v Evropi

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

19 Tehnična pomoč

Preden stopite v stik z nami

Preden stopite v stik z oddelkom za tehnično podporo Cepheid, zberite naslednje informacije:

- Ime izdelka
- Številka lota
- Serijska številka instrumenta
- Sporočila o napakah (če so se prikazala)
- Različica programske opreme in, če je primerno, številka značke računalniškega servisa

Tehnična podpora v Združenih državah

Telefon: + 1 888 838 3222

E-pošta: techsupport@cepheid.com

Tehnična podpora v Franciji

Telefon: + 33 563 825 319

E-pošta: support@cepheideurope.com

Informacije za stik z vsemi oddelki za tehnično podporo Cepheid so na voljo na naši spletni strani: www.cepheid.com/en/support/contact-us.

20 Preglednica simbolov

Simbol	Pomen
	Kataloška številka
	<i>In vitro</i> diagnostični medicinski pripomoček
	Ne uporabiti ponovno
	Koda serije
	Glejte navodila za uporabo
	Svarilo
	Proizvajalec

Simbol	Pomen
	Država izdelave
	Dovolj snovi za n testov
CONTROL	Kontrola
	Rok uporabe
	Oznaka CE – skladnost z evropskimi predpisi
	Omejitev temperature
	Biološka tveganja
	Vnetljive tekočine
	Razjedanje kože
	Toksično za reprodukcijo in organe
CH REP	Pooblaščen predstavnik v Švici
	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 Zgodovina revizij

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

Razdelek	Opis spremembe
8,1	Dodane informacije o pipeti za enkratno uporabo.
9	Manjše revizije.
10.3	Določen specifični vzorec.
11.1.1	Dodane informacije o prepovedi odklopa instrumenta.
14	Dodane motnje testa.
15.1, 15.2	Posodobljene informacije o vzorcu.
15.7, 16	Popravljen lokacija 3 za Xpertise. Premik preglednice 10 iz razdelka 16 v razdelek 15.7.
16.1, 16.2, 16.4	Manjše revizije.
16.3	Dodane mikrobne motnje ne-tuberkuloznih mikobakterij (NTM).
16.5	Dodane informacije o termolizatih seva mutantov (toplotno obdelanih celicah) in nukleinskih kislinah (DNA).