

Xpert[®] MTB/XDR

REF GXMTB/XDR-10

Instrukcja użycia

IVD CE

Oświadczenia o znakach towarowych, patentach i prawach autorskich

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.

© 2020–2023 Cepheid.

Cepheid[®], logo Cepheid, GeneXpert[®] i Xpert[®] to znaki towarowe firmy Cepheid, zarejestrowane w USA i w innych krajach.

Wszystkie inne znaki towarowe są własnością ich właścicieli.

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

© 2020–2023 Cepheid.

Opis zmian można znaleźć w części Historia zmian Sekcja 25.

Xpert[®] MTB/XDR

Do diagnostyki *in vitro*

1 Nazwa zastrzeżona

Xpert[®] MTB/XDR

2 Nazwa powszechna lub zwyczajowa

Xpert MTB/XDR

3 Przeznaczenie

3.1 Przeznaczenie

Test Xpert MTB/XDR przeznaczony do stosowania z aparatami systemu GeneXpert, to jakościowy test diagnostyczny *in vitro* oparty na zagnieżdżonej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym, służący do wykrywania DNA prątków z grupy prątków gruźliczych *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) wykazujących poszerzoną oporność na leki (XDR, Extensively Drug-Resistant) w próbkach nieprzetworzonej płwociny, próbkach stężonego osadu przygotowanych z płwociny lub hodowli prowadzonej w probówkach Mycobacterial Growth Indicator Tube (MGIT[™]) firmy BD[™]. W próbkach, w których wykrywane są prątki gruźlicy, test Xpert MTB/XDR może również wykrywać związane z opornością na izoniazyd (INH) mutacje genów *katG* i *fabG1*, międzygenowego rejonu *oxyR-ahpC* oraz promotora *inhA*; związane z opornością na etionamid (ETH) mutacje wyłącznie promotora *inhA*; związane z opornością na fluorochinolony (FLQ) mutacje *gyrA* i *gyrB* w rejonach warunkujących oporność na fluorochinolony (QRDR, Quinolone Resistance Determining Regions); oraz związane z opornością na wstrzykiwalne leki drugiego rzutu (SLID, Second Line Injectable Drug) mutacje genu *rrs* i rejonu promotorowego genu *eis*.

Test Xpert MTB/XDR jest przeznaczony do stosowania jako test następczy w wypadku próbek (nieprzetworzonej płwociny, stężonego osadu płwociny lub hodowli MGIT) uznanych za dodatnie pod względem prątków gruźlicy. Test ten jest przeznaczony do wspomaganego rozpoznania gruźlicy XDR po uwzględnieniu spostrzeżeń klinicznych i wyników innych badań laboratoryjnych.

3.2 Użytkownik docelowy/Środowisko

Test Xpert MTB/XDR jest przeznaczony dla przeszkolonych użytkowników pracujących w środowisku laboratoryjnym.

4 Podsumowanie i objaśnienie

Gruźlica, choroba wywołana przez prątki *Mycobacterium tuberculosis*, pozostaje jedną z najbardziej śmiertelnych chorób na świecie. Liczbę nowych przypadków gruźlicy szacowano w 2018 r. na 10 milionów, z czego około pół miliona stanowiły przypadki gruźlicy odpornej na rifampicynę, zaś 78% z nich to przypadki gruźlicy odporne wielolekowo (MDR-TB)¹. MDR-TB, zdefiniowana jako oporna na izoniazyd i rifampicynę (dwa najbardziej skuteczne leki pierwszego rzutu), pozostaje zagrożeniem dla zdrowia publicznego, zaś Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) wydała nowe zalecenia dotyczące leczenia gruźlicy, obejmujące wykonywanie szybkich testów wrażliwości na leki^{2,3}. Niezależnie od tego, w 2018 r., liczba zanotowanych przypadków MDR/RR-TB stanowiła tylko około 39% szacowanych zachorowań, zaś liczba osób objętych leczeniem była równoważna 32%¹. Podobnie, rośnie obawa przed nierozpoznaną i nieleczoną, oporną na izoniazyd, ale podatną na leczenie rifampicyną, gruźlicą. Nie dysponując łatwym dostępem do badań oporności na INH, kraje z trudem identyfikują pacjentów i wdrażają zalecenia WHO z 2018 r. dotyczące leczenia gruźlicy odpornej

na rifampicyne⁴. Najbardziej niepokojące przypadki gruźlicy są wywołane przez szczepy MDR MTB, które nabyły dodatkowo oporność na fluorochinolony i dowolny ze wstrzykiwalnych leków drugiego rzutu, amikacynę (AMK), kanamycynę (KAN) lub kapreomycynę (CAP). Te wysoce odporne szczepy określa się mianem prątków gruźlicy o poszerzonej oporności na leki (XDR-TB). Gruźlica typu XDR-TB jest bardzo trudna w leczeniu i może prowadzić do wysokiej umieralności, szczególnie jeżeli pozostaje nierozpoznana, zaś odpowiednie leczenie zostaje wdrożone z opóźnieniem⁵.

Hodowla i fenotypowe badanie wrażliwości na leki prątków gruźlicy zajmuje dużo czasu, wymaga dużego nakładu pracy i stanowi poważne zagrożenie biologiczne dla pracowników laboratorium, co powoduje, że w krajach, gdzie gruźlica jest chorobą endemiczną jest mniej akredytowanych ośrodków². Nawet jeżeli można je przeprowadzić, badanie wrażliwości na leki w oparciu o hodowlę może zająć od kilku tygodni do nawet kilku miesięcy. Prątki gruźlicy można także badać pod kątem oporności na leki za pomocą szybkich, czułych i bezpieczniejszych metod opartych na genotypowaniu, które pozwalają wykryć oporność, wskazując mutacje nadające oporność na leki pierwszego i drugiego rzutu w większości szczepów klinicznych². Badania oparte na genotypowaniu, które można uprościć do kilku etapów wykonywanych manualnie, są znacznie bardziej przydatne w diagnostyce przyłóżkowej, co może gwałtownie zwiększyć ich dostępność w populacjach o niskim poziomie świadczonych usług medycznych o niskim i wysokim stopniu endemiczności choroby⁵.

5 Zasada procedury

Test Xpert MTB/XDR jest zautomatyzowanym testem diagnostycznym *in vitro* służącym do wykrywania DNA prątków XDR z grupy prątków gruźliczych i mutacji związanych z opornością. Test jest wykonywany na aparatach firmy Cepheid z 10-kolorowymi modułami GeneXpert.

Urządzenia integrują i automatyzują przetwarzanie próbki, amplifikację kwasu nukleinowego i wykrywanie sekwencji docelowych w próbkach za pomocą reakcji nested real-time PCR i analizy krzywej topnienia. System składa się z aparatu, komputera, skanera kodów kreskowych oraz wstępnie zainstalowanego oprogramowania umożliwiających wykonywanie badań pobranych próbek i wyświetlanie wyników. System wymaga użycia wymiennych, jednorazowych kartridży Xpert, które zawierają odczynniki niezbędne do przeprowadzenia swoistej reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR), w których przebiega proces PCR i następuje wykrycie szczytu krzywej topnienia. Ponieważ kartridże Xpert są samowystarczalne, ryzyko zanieczyszczenia krzyżowego próbek jest zminimalizowane. Pełny opis systemu znajduje się w części *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Kartridż testu Xpert MTB/XDR zawiera odczynniki umożliwiające wykrycie profilu XDR prątków gruźlicy, a także kontrolę przetwarzania próbki (SPC), umożliwiającą monitorowanie prawidłowości przetwarzania badanych bakterii oraz monitorowanie obecności inhibitorów reakcji PCR. Kontrola sondy (PCC) weryfikuje stopień nawodnienia odczynników, napełnienie próbki do PCR w kartridżu, integralność sondy i stabilność barwnika.

Kartridż testu Xpert MTB/XDR zawiera wszystkie odczynniki poza odczynnikiem do próbek (sample reagent, SR), co nakłada na użytkownika konieczność dodania SR do preparatu przed naniesieniem przetworzonego preparatu do kartridża. Test jest przeznaczony do stosowania jako test następczy w wypadku próbek dodatnich pod względem prątków gruźlicy.

Wyniki są interpretowane przez oprogramowanie GeneXpert na podstawie zmierzonych sygnałów fluorescencji i dzięki wbudowanym algorytmom obliczeniowym, a następnie wyświetlane w oknie Wyświetlanie wyników (View Results) w formatach tabelarycznym i graficznym. Oprogramowanie zgłasza również wyniki nieważne i błędne lub brak wyników. Test Xpert MTB/XDR wykrywa prątki XDR wykazujące oporność na INH, ETH, FLQs oraz SLIDs bezpośrednio w nieprzetworzonej płwocinie lub w zagęszczonym osadzie płwociny w czasie krótszym niż 90 minut.

6 Materiały dostarczone

Zestaw testu Xpert MTB/XDR zawiera odczynniki w ilości wystarczającej do przetworzenia 10 próbek pochodzących od pacjentów lub próbek kontroli jakości. Zestaw zawiera następujące elementy:

Xpert MTB/XDR Kartridże testu ze zintegrowanymi komorami reakcyjnymi 10 na zestaw

- | | |
|---|-----------------------|
| • Kulki typu 1, kulki typu 2, kulki typu 3, kulki typu 4 i kulki typu 5 (liofilizowane) | 1 każdego na kartridż |
| • Kulki kontroli przetwarzania próbki (liofilizowane) | 1 każdego na kartridż |
| • Odczynnik 1 | 4,0 ml na kartridż |
| • Odczynnik 2 | 4,0 ml na kartridż |

Jednorazowe pipety transferowe

1 opakowanie po 12 sztuk na zestaw

Odczynnik do próbek

10 × 8 ml na butelkę

Płyta CD

1 na zestaw

- Pliki definicji testu (ADF)
- Instrukcja importowania pliku ADF do oprogramowania GeneXpert
- Instrukcja użycia (ulotka informacyjna)

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

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

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

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

7 Przechowywanie i obsługa

- Składniki zestawu Xpert MTB/XDR należy przechowywać w temperaturze 2–28°C do upływu terminu ważności podanego na etykiecie.
- Wieczko kartridża można otworzyć dopiero wtedy, gdy użytkownik będzie gotowy do wykonania badania.
- Rozpocząć badanie w ciągu 2,5 godziny od momentu dodania do próbki SR lub w ciągu 4 godzin w wypadku przechowywania w temperaturze 2–8°C.
- Nie używać odczynników lub kartridży po upływie daty ważności.
- Nie używać nieszczelnego kartridża.

8 Materiały wymagane, ale nie dostarczone

- GeneXpert Dx System: aparat GeneXpert z 10 kanałami optycznymi GeneXpert, komputer, skaner kodów kreskowych i instrukcja obsługi.
 - Do diagnostyki GeneXpert Dx System: Oprogramowanie w wersji 6.2 lub nowszej
 - Drukarka: jeśli wymagana jest drukarka, informacji o zakupie zalecanej drukarki udzieli przedstawiciel handlowy firmy Cepheid.
- Sterylny zakręcany pojemnik na próbki
- Rękawice jednorazowe
- Etykiety i/lub nieścieralny pisak do etykiet
- Jałowe pipety do przetwarzania próbek

9 Ostrzeżenia i środki ostrożności

9.1 Ogólne

- Do diagnostyki *in vitro*
- Wszystkie preparaty biologiczne, w tym zużyte kartridże, należy traktować jako potencjalnie zakaźne. Ponieważ często niemożliwe jest określenie, który z preparatów biologicznych może być zakaźny, ze wszystkimi należy pracować, zachowując standardowe środków ostrożności.
- Wytyczne dotyczące przetwarzania próbek można uzyskać w amerykańskiej agencji Centers for Disease Control and Prevention³ oraz w instytucie Clinical and Laboratory Standards Institute.^{6,7,8}

- Przestrzegać procedur bezpieczeństwa obowiązujących w placówce w zakresie pracy z substancjami chemicznymi i obsługi próbek biologicznych.
- Stosować jednorazowe rękawice ochronne, fartuchy laboratoryjne i ochronę oczu podczas pracy z preparatami i odczynnikami. Dokładnie umyć ręce po pracy z preparatami i odczynnikami testu.
- Preparaty biologiczne, produkty służące do przenoszenia materiału i zużyte kartridże należy traktować jako materiały potencjalnie zakaźne i wymagające zachowania standardowych środków ostrożności. Należy przestrzegać obowiązujących w instytucji procedur dotyczących odpadów środowiskowych w zakresie odpowiedniego usuwania zużytych kartridży i niewykorzystanych odczynników. Te materiały mogą stanowić niebezpieczne materiały chemiczne, których usuwanie musi się odbywać zgodnie ze swoistymi krajowymi lub regionalnymi przepisami dotyczącymi usuwania. Jeśli krajowe lub regionalne przepisy nie regulują kwestii dotyczących odpowiedniego usuwania odpadów, wówczas próbki biologiczne i zużyte kartridże należy usuwać zgodnie z wytycznymi Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, World Health Organization) dotyczącymi obsługi i usuwania odpadów medycznych.⁹
- Odczynnik do próbek zawiera wodorotlenek sodu (pH > 12,5) i izopropanol. Działa szkodliwie po połknięciu. (H302), Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. (H314). Łatwopalna ciecz i pary (H226).
- Charakterystykę roboczą tego testu określono wyłącznie pod kątem rodzajów próbek wymienionych w sekcji Przeznaczenie. Nie oceniono skuteczności tego testu z innymi rodzajami próbek.
- Należy przestrzegać procedur bezpieczeństwa obowiązujących w placówce w zakresie pracy z substancjami chemicznymi i próbkami biologicznymi.

9.2 Próbką


- Stosowanie procedur pobierania i obsługi próbek wymaga ukończenia odpowiedniego szkolenia i przestrzegania wytycznych.
- Podczas transportu należy utrzymywać odpowiednie warunki przechowywania, aby zapewnić stabilność próbki (patrz Sekcja 12. Procedura). Nie oceniano stabilności próbki w innych, niż zalecane, warunkach transportu.
- Próbkę z widocznymi fragmentami żywności lub innymi cząstkami stałymi należy odrzucić.
- Aby uzyskać prawidłowe wyniki, próbki należy pobierać, przechowywać i transportować w odpowiedni sposób.
- Materiał hodowlany z kolby z hodowlą MGIT dodatniej pod względem obecności prątków można użyć w postaci nierozcieńczonej lub 100-krotnie rozcieńczonej PBS lub podłożem 7H9 Middlebrooka. Badanie można również przeprowadzić na hodowlach inaktywowanych termicznie. W celu przeprowadzenia inaktywacji termicznej zaleca się uprzednie rozcieńczenie 100-krotnie hodowli PBS lub podłożem 7H9 Middlebrooka, a następnie ogrzewanie jej w temperaturze 100°C przez 20 minut.

9.3 Test/odczynnik

- Nie wolno zastępować odczynników testu Xpert MTB/XDR innymi odczynnikami.
- Nie wolno otwierać wieczka kartridża testu Xpert MTB/XDR w celu innym niż dodanie próbki.
- Nie wolno używać kartridża, jeśli upadł on po wyjęciu z zestawu lub został wstrząśnięty po otwarciu wieczka kartridża. Potrząsanie kartridżem lub jego upuszczenie po otwarciu wieczka może prowadzić do uzyskania wyników fałszywych lub nieokreślonych.
- Nie wolno umieszczać etykiety z identyfikatorem próbki na wieczku kartridża ani na etykiecie z kodem kreskowym.
- Nie wolno używać kartridża, jeśli jego komora reakcyjna jest uszkodzona.
- Każdy jednorazowy kartridż testu Xpert MTB/XDR służy do wykonania jednego badania. Nie używać ponownie zużytych kartridży.
- Jednorazowa pipeta służy do przeniesienia jednej próbki. Nie używać ponownie zużytych jednorazowych pipet.
- Nie używać kartridża, jeśli wydaje się wilgotny lub jeśli uszczelka wieczka wygląda na uszkodzoną.
- W celu uniknięcia zanieczyszczenia preparatów lub odczynników, zalecane jest przestrzeganie dobrych praktyk laboratoryjnych, w tym zmiana rękawic przy pracy z preparatami pochodzącymi od różnych pacjentów.
- W przypadku rozlania próbek lub kontroli należy założyć rękawice i usunąć rozlaną substancję za pomocą papierowych ręczników. Następnie należy dokładnie wyczyścić zanieczyszczony obszar przy pomocy świeżo przygotowanego roztworu rozcieńczonego w stosunku 1:10 wybielacza chlorowego. Ostateczne stężenie aktywnego chloru powinno wynosić 0,5%, niezależnie od stężenia wybielacza w danym kraju. Czas kontaktu powinien wynosić co najmniej dwie minuty. Upewnić się, że obszar roboczy jest suchy, a następnie usunąć pozostałości wybielacza za pomocą 70% roztworu denaturowanego etanolu. Przed kontynuowaniem pracy należy poczekać, aż powierzchnia całkowicie wyschnie. Ewentualnie można postępować zgodnie z obowiązującymi w instytucji standardowymi procedurami dotyczącymi zanieczyszczenia lub rozlania substancji. W przypadku sprzętu należy postępować zgodnie z zaleceniami producenta dotyczącymi dekontaminacji sprzętu.
- Test Xpert MTB/XDR zatwierdzono z użyciem oprogramowania Cepheid w wersji 6.2 lub nowszej.

10 Zagrożenia chemiczne^{9,10}

Odczynnik do próbek:

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

11 Pobieranie, transportowanie i przechowywanie próbek

Próbki można pobierać, stosując standardową procedurę danej instytucji.

Właściwe pobieranie, przechowywanie i transportowanie próbek ma krytyczne znaczenie dla skuteczności tego testu. Stabilność próbki w warunkach transportu i przechowywania innych niż wymienione poniżej nie została oceniona pod kątem testu Xpert MTB/XDR.

11.1 Transport osadu płwociny

Transportować próbki osadu w temperaturze 2–8 °C.

11.2 Transport nieprzetworzonej płwociny

Nieprzetworzone preparaty płwociny należy transportować w temperaturze 2–35°C.

11.3 Przechowywanie próbek

Nieprzetworzone preparaty płwociny można przechowywać w temperaturze 2–35°C przez 7 (wliczając w to czas przesyłki).

Dekontaminowane/stężone i ponownie zawieszono osady płwociny można przechowywać w temperaturze 2–8°C do 7 dni do czasu wykonania badania za pomocą urządzenia GeneXpert.

W wypadku badania nieprzetworzonej płwociny lub dekontaminowanego/stężonego osadu płwociny, należy sprawdzić w Tabeli 1 poniżej odpowiednią objętość próbki.

Tabela 1. Wymagana objętość próbki

Rodzaj próbki	Minimalna objętość do jednego badania	Maksymalna objętość próbki	Stosunek próbki do odczynnika do próbek (SR)
Osad płwociny	0,5 ml	2,5 ml	Jeśli objętość próbki do jednego badania wynosi co najmniej 0,7 ml, wówczas stosunek próbki do odczynnika do próbek powinien wynosić 1:3 ^a
Nieprzetworzona płwocina	1,0 ml	4,0 ml	1:2

^a 1:2.

11.4 Pozostałości próbek przygotowanych z użyciem SR.

Xpert MTB/XDR — można używać tego testu do przetestowania pozostałych próbek przetworzonych przy użyciu SR z testów Xpert MTB/RIF lub Xpert MTB/RIF Ultra. Niemniej, w takich wypadkach, objętość pozostałości próbek przygotowanych z użyciem SR musi być ≥ 2 ml, zaś mieszaninę należy przechowywać w temperaturze 2–8°C przez nie dłużej niż 4 godziny lub w temperaturze do 35°C przez nie dłużej niż 2,5 godziny.

11.5 Izolaty z hodowli prowadzonych w probówkach Mycobacterial Growth Indicator Tube (MGIT) firmy BD.

Ważne wyniki uzyskano podczas badania klinicznego przy użyciu testu Xpert MTB/XDR i izolatów z hodowli dodatnich względem MTB pobranych z probówki wskaźnikowej MGIT (Mycobacterial Growth Indicator Tube) firmy BD. W celu przeprowadzenia badania izolatów z kolb hodowlanych MGIT dodatnich pod względem obecności prątków, należy użyć co najmniej 1,0 ml hodowli.

Uwaga

Hodowle prątków wyprowadzone z preparatów klinicznych należy prowadzić w odpowiednio kontrolowanych warunkach zredukowanego ryzyka zagrożenia biologicznego.

Przed rozpoczęciem badania należy rozcieńczyć próbkę SR w proporcji 1:2 i inkubować ją przez 15 minut, worteksując ją przez 10 sekund co 5 minut lub stale wytrząsając, aby zapobiec osadzeniu. Badanie GeneXpert należy rozpocząć w czasie 30 minut, dodając 2 ml SR do materiału z hodowli.

12 Procedura

12.1 Procedura w wypadku nieprzetworzonej plwociny

Ważne Rozpocząć badanie w ciągu 2,5 godziny od momentu dodania do próbki SR lub w ciągu 4 godzin w wypadku przechowywania w temperaturze 2–8°C.

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

Wymagania dotyczące objętości: wymagane jest użycie ≥ 1 ml nieprzetworzonej plwociny.

1. Ostrożnie otworzyć wieczko pojemnika do pobierania plwociny. Patrz Ilustracja 1.



Ilustracja 1. Otwieranie pojemnika do pobierania plwociny

2. Dodać do plwociny około 2-krotnie większą objętość SR (rozcieńczenie 2:1, SR:plwocina). Patrz Ilustracja 2 oraz Ilustracja 3.



Ilustracja 2. Przykład rozcieńczeń 2:1 (8 ml SR:4 ml plwociny)



Ilustracja 3. Przykład rozcieńczenia 2:1 (2 ml SR:1 ml płwociny)

Uwaga Wyrzucić pozostałości SR i butelkę do odpowiedniego pojemnika na odpady, zgodnie ze standardową praktyką obowiązującą w placówce.

3. Zakręcić pokrywę pojemnika na próbki.
4. Energicznie potrząsnąć 10–20 razy lub worteksować przez co najmniej 10 sekund.

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

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

12.2 Procedura w przypadku dekontaminowanego zagęszczonego osadu płwociny.

Ważne Rozpocząć badanie w ciągu 2,5 godziny od momentu dodania do próbki SR lub w ciągu 4 godzin w wypadku przechowywania w temperaturze 2–8°C.

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

Wymagania dotyczące objętości: metodą Kent i Kubica¹¹(procedura wytrawiania-dekontaminacji za pomocą NALC i NaOH oraz ponownego zawieszenia w wodnym buforze fosforanowym o stężeniu 67 mM) można testować przy użyciu testu Xpert MTB/XDR. Po ponownym zawieszeniu należy zachować co najmniej 0,5 ml ponownie zawieszonego osadu na potrzeby testu Xpert MTB/XDR. W wypadku objętości poniżej 0,7 ml, w celu przygotowania próbek należy wykonać kroki 1 do 5. W tych krokach przygotowanie odpowiedniej objętości niezbędnej do zapewnienia optymalnej skuteczności testu wymaga użycia 3 części SR na 1 część osadu. Jeśli objętość próbki wynosi co najmniej 0,7 ml, wówczas odpowiednią objętość można przygotować, dodając 2 części SR do 1 części osadu. W tym przykładzie 1,4 ml SR należy dodać do 0,7 ml osadu. Stosunek tych objętości to 2 części SR na 1 część osadu.

1. Przy pomocy pipety pasteurowskiej przenieść 0,5 ml w pełni ponownie zawieszonego osadu do stożkowej zakręcanej próbówki oznaczonej identyfikatorem próbki i/lub pacjenta.

Uwaga Przechowywać ponownie zawieszony osad w temperaturze 2–8°C, jeśli nie będą przetwarzane niezwłocznie. Nie przechowywać przez czas dłuższy niż 7 dni.

2. Dodać 1,5 ml odczynnika do próbek (SR) do 0,5 ml ponownie zawieszonego osadu.
3. Energicznie potrząsnąć 10–20 razy lub worteksować przez co najmniej 10 sekund.

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

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

12.3 Przygotowywanie kartridża

Ważne Należy się upewnić, że moduł jest przygotowany na przyjęcie kartridża. Należy rozpocząć badanie tak szybko, jak to możliwe i nie dłużej niż w ciągu 2,5 godziny od dodania próbki zmieszanej z odczynnikiem do próbek do kartridża lub w ciągu 4 godzin w wypadku przechowywania w temperaturze 2–8°C.

Przygotować następujące elementy: kartridż testu Xpert, pipetę pasteurowską (dostarczoną) oraz odpowiednio pobraną i opisaną próbkę do badania.

1. Wyjąć kartridż z opakowania.
2. Sprawdzić kartridż pod kątem uszkodzeń. W razie zaobserwowania uszkodzenia nie używać kartridża.
3. Poczekać, aż kartridż osiągnie temperaturę pokojową. Oznaczyć wszystkie kartridże testu Xpert MTB/RIF identyfikatorem próbki. Patrz Ilustracja 4.



Ilustracja 4. Zapisywanie informacji na bocznej powierzchni kartridża.

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

4. Otworzyć wieczko kartridża, a następnie otworzyć pojemnik zawierający próbkę.
5. Za pomocą dostarczonej pipety pasteurowskiej pobrać upłynnioną próbkę do linii zaznaczonej na pipecie. Nie przetwarzać próbki dalej, jeśli jej objętość jest niewystarczająca. Patrz Ilustracja 5.



Ilustracja 5. Pobieranie próbki do linii na pipecie

6. Próbkę należy nanosić powoli, tak aby ograniczyć ryzyko powstania aerozolu. Patrz Ilustracja 6.



Ilustracja 6. Kartridż Xpert MTB/XDR

7. Zamknij wieczko kartridża.

12.4 Rozpoczynanie badania

Ważne Przed rozpoczęciem badania należy się upewnić, że plik definicji testu (ADF) Xpert MTB/XDR został zaimportowany do oprogramowania. Niniejszy punkt zawiera opis podstawowych kroków umożliwiających wykonanie badania. Szczegółowe instrukcje można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx*.

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

1. Włączyć aparat GeneXpert:
 - W przypadku używania aparatu GeneXpert Dx najpierw włączyć aparat, a następnie włączyć komputer. Oprogramowanie GeneXpert Dx zostanie uruchomione automatycznie lub może wymagać dwukrotnego kliknięcia ikony skrótu oprogramowania GeneXpert Dx na pulpicie systemu Windows®.
2. Zalogować się do oprogramowania aparatu systemu GeneXpert, podając nazwę użytkownika i hasło.
3. W oknie systemu GeneXpert Dx należy kliknąć **Nowe badanie (Create Test)**. Zostanie wyświetlone okno **Nowe badanie (Create Test)**.
4. Zeskanować lub wpisać Identyfikator próbki (Sample ID) lub identyfikator pacjenta (Patient ID). W wypadku wpisywania Identyfikatora próbki (Sample ID) upewnić się, że Identyfikator próbki (Sample ID) jest wpisany poprawnie. Identyfikator próbki (Sample ID) jest powiązany z wynikami badania i wyświetlany po lewej stronie okna **Wyświetlanie wyników (View Results)**.
5. Zeskanować kod kreskowy na kartridżu testu Xpert MTB/XDR. Na podstawie informacji zawartych w kodzie kreskowym, oprogramowanie automatycznie wypełni następujące pola: **Identyfikator serii odczynników (Reagent Lot ID)**, **Numer seryjny kartridża (Cartridge SN)** i **Data ważności (Expiration Date)**. Patrz Ilustracja 7.

Uwaga Jeśli nie można zeskanować kodu kreskowego na kartridżu testu Xpert MTB/XDR, wówczas należy powtórzyć badanie z użyciem nowego kartridża.

Ilustracja 7. Okno Nowe badanie (Create Test) w systemie GX Dx

6. Kliknąć **Rozpocznij badanie (Start Test)**. Wpisać hasło w wyświetlonym oknie dialogowym.
7. W przypadku aparatu GeneXpert Dx:
 - a) Otworzyć drzwiczki modułu aparatu z migającą zieloną lampką i załadować kartridż.
 - b) Zamknąć drzwiczki. Badanie zostanie rozpoczęte, a zielona lampka przestanie migać. Po zakończeniu badania lampka przestanie świecić.
 - c) Poczekać, aż system zwolni blokadę drzwiczek, a następnie otworzyć drzwiczki modułu i wyjąć kartridż.
8. Wyrzucić użyte kartridże do odpowiedniego pojemnika na odpady, zgodnie ze standardową praktyką obowiązującą w placówce.

13 Wyświetlanie i drukowanie wyników

W niniejszym punkcie opisano podstawowe kroki umożliwiające wyświetlanie i drukowanie wyników. Szczegółowe instrukcje dotyczące wyświetlania i drukowania wyników można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx* lub *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Infinity*, w zależności od używanego modelu.

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

14 Wbudowane kontrole jakości

Każdy test zawiera kontrolę przetwarzania próbki (Sample Processing Control, SPC) oraz kontrolę sondy (Probe Check Control, PCC).

- **Kontrola przetwarzania próbki (SPC)**— SPC pozwala zweryfikować, czy próbka została odpowiednio przetworzona. Ponadto ta kontrola wykrywa inhibicję reakcji real-time PCR wywołaną przez składniki próbki, a także umożliwia upewnienie się, że warunki reakcji PCR (temperatura i czas) umożliwiają zajście reakcji amplifikacji oraz że odczynniki do PCR działają poprawnie. Wynik kontroli SPC powinien być dodatni w próbce ujemnej i może być ujemny lub dodatni w próbce dodatniej. Kontrola SPC zakończy się powodzeniem, jeśli spełni przypisane kryteria akceptacji.
- **Kontrola sondy (PCC)** — przed rozpoczęciem reakcji PCR system GeneXpert mierzy sygnał fluorescencji z sond w celu monitorowania nawadniania kulek, napełnienia komory reakcyjnej, integralności sondy i stabilności barwnika. Kontrola PCC zakończy się powodzeniem, jeśli spełni przypisane kryteria akceptacji.
- **Kontrola odpowiedniej objętości próbki (Sample Volume Adequacy, SVA)**—przed rozpoczęciem przetwarzania próbki, system GeneXpert mierzy, czy w komorze na próbkę znajduje się jej odpowiednia objętość. Wynik ujemny kontroli SVA, oznacza to, że do komory na próbkę nie dodano odpowiedniej objętości próbki.

Kontrole zewnętrzne — kontroli zewnętrznych można używać zgodnie ze stosownymi wymaganiami lokalnych, regionalnych i krajowych organizacji akredytacyjnych.

15 Interpretacja wyników

System GeneXpert Instrument Systems generuje wyniki na podstawie zmierzonych sygnałów fluorescencji oraz wartości temperatury topnienia (T_m). Mutacje oraz sekwencje typu dzikiego wykrywane są przez system GeneXpert dzięki wartościom T_m . Wrażliwość na leki lub określenie oporności zależy od tego, czy wartości T_m przypadają w zakresie typowym dla typu dzikiego, czy dla mutacji, odpowiednio, dla danego analitu. Dodatkowo wyniki testu Xpert MTB/XDR to: **PRĄTKI GRUŻLICY WYKRYTE (MTB DETECTED)** i wszystkie docelowe sekwencje świadczące o oporności **NIEWYKRYTE (NOT DETECTED)** lub **PRĄTKI GRUŻLICY WYKRYTE (MTB DETECTED)** i jedna lub więcej docelowych sekwencji świadczących o oporności **WYKRYTA (DETECTED)** lub **PRĄTKI GRUŻLICY WYKRYTE (MTB DETECTED)** i/lub jedna lub więcej docelowych sekwencji świadczących o oporności ma status **NIEOKREŚLONY (INDETERMINATE)**. Patrz Tabela 2 w celu zapoznania się z listą możliwych wyników dla każdej z sekwencji docelowych.

Tabela 2. Możliwe wyniki badania dla każdej z sekwencji docelowych objętych testem Xpert MTB/XDR

Klasa leków	Wywołanie wyników
ND	NIEWAŻNY/BŁĄD/BRAK WYNIKU (INVALID/ERROR/NO RESULT)
	WYKRYTO PRĄTKI GRUŻLICY (MTB DETECTED)
	NIE WYKRYTO PRĄTKÓW GRUŻLICY (MTB NOT DETECTED)
Izoniazyd	WYKRYTO niską oporność na INH (Low INH Resistance DETECTED)
	WYKRYTO oporność na INH (INH Resistance DETECTED)
	NIE WYKRYTO oporności na INH (INH Resistance NOT DETECTED)
	Oporność na INH NIEOKREŚLONA (INH Resistance INDETERMINATE)
Fluorochinolony	WYKRYTO niską oporność na FLQ (Low FLQ Resistance DETECTED)
	WYKRYTO oporność na FLQ (FLQ Resistance DETECTED)
	NIE WYKRYTO oporności na FLQ (FLQ Resistance NOT DETECTED)
	Oporność na FLQ NIEOKREŚLONA (FLQ Resistance INDETERMINATE)
Amikacyna	WYKRYTO oporność na AMK (AMK Resistance DETECTED)
	NIE WYKRYTO oporności na AMK (AMK Resistance NOT DETECTED)
	Oporność na AMK NIEOKREŚLONA (AMK Resistance INDETERMINATE)
Kanamycyna	WYKRYTO oporność na KAN (KAN Resistance DETECTED)
	NIE WYKRYTO oporności na KAN (KAN Resistance NOT DETECTED)
	Oporność na KAN NIEOKREŚLONA (KAN Resistance INDETERMINATE)
Kapreomycyna	WYKRYTO oporność na CAP (CAP Resistance DETECTED)
	NIE WYKRYTO oporności na CAP (CAP Resistance NOT DETECTED)
	Oporność na CAP NIEOKREŚLONA (CAP Resistance INDETERMINATE)
Etionamid ^a	WYKRYTO oporność na ETH (ETH Resistance DETECTED)
	NIE WYKRYTO oporności na ETH (ETH Resistance NOT DETECTED)

^a Wynik testu z zasady nie przyjmie wartości „nieokreślony” pod kątem obecności etionamidu.

Tabela 3 zestawia geny, będące przedmiotem badania w teście Xpert MTB/XDR oraz rejony kodonów i nukleotydów w obrębie każdego z genów badane w celu stwierdzenia lub podejrzenia oporności na leki.

Tabela 3. Rejony badane w celu stwierdzenia oporności na leki

Lek	Docelowy gen	Rejony kodonów	Nukleotyd
Izoniazyd	promotor <i>inhA</i>	ND.	Obszar intergenowy od -1 do -32
	<i>katG</i>	311-319	939-957
	<i>fabG1</i>	199-210	597-630
	Obszar międzygenowy <i>oxyR-ahpC</i>	ND.	Obszar intergenowy od -5 do -50 (lub od -47 do -92) ^{12,13}
Etionamid	promotor <i>inhA</i>	ND.	Obszar intergenowy od -1 do -32
Fluorochinolony	<i>gyrA</i>	87-95	261-285
	<i>gyrB</i>	531-544 (lub 492-505) ^{12,14}	1596-1632
Amikacyna, kanamycyna, kapreomycyna	<i>rrs</i>	ND.	1396-1417
	promotor <i>eis</i>	ND.	Rejon międzygenowy od -6 do -42

Tabela 4 przedstawia przykładowe możliwe wyniki oraz odpowiednią interpretację. Ilustracja 8 do Ilustracja 16 to przykłady możliwych wyników testu Xpert MTB/XDR.

Tabela 4. Przykłady wyników testu Xpert MTB/XDR i ich interpretacja

Wynik	Interpretacja
WYKRYTO PRĄTKI GRUŻLICY (MTB DETECTED); NIE WYKRYTO oporności na INH (INH Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na FLQ (FLQ Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na AMK (AMK Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na KAN (KAN Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na CAP (CAP Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na ETH (ETH Resistance NOT DETECTED)	<p>W próbce wykryto sekwencję docelową prątków gruźlicy:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nie wykryto mutacji prowadzących do powstania oporności na INH, FLQ, AMK, KAN, CAP lub ETH. • SPC: Nie dot. (nie dotyczy). Sygnał kontroli SPC nie jest konieczny, ponieważ amplifikacja sekwencji dla prątków gruźlicy może konkurować z tą kontrolą. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS). Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.
WYKRYTO PRĄTKI GRUŻLICY (MTB DETECTED); WYKRYTO oporność na INH (INH Resistance DETECTED) WYKRYTO oporność na FLQ (FLQ Resistance DETECTED) WYKRYTO oporność na AMK (AMK Resistance DETECTED) WYKRYTO oporność na KAN (KAN Resistance DETECTED) WYKRYTO oporność na CAP (CAP Resistance DETECTED) WYKRYTO oporność na ETH (ETH Resistance DETECTED)	<p>W próbce wykryto sekwencję docelową prątków gruźlicy:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mutacje przyczyniające się do rozwoju stopnia oporności na INH wykryto w co najmniej jednym z następujących genów: <i>katG</i>, <i>fabG1</i>, region międzygenowy <i>oxyR-ahpC</i> i promotor <i>inhA</i> • Mutacje prowadzące do powstania oporności na FLQ zostały wykryte w jednym lub większej liczbie następujących genów: regiony determinujące oporność na chinolony (QRDR, Quinolone Resistance Determining Regions) <i>gyrA</i> i <i>gyrB</i> • Mutacje prowadzące do powstania oporności na AMK zostały wykryte w jednym lub większej liczbie następujących genów: gen <i>rrs</i> i promotor <i>eis</i> • Mutacje prowadzące do powstania oporności na KAN zostały wykryte w jednym lub większej liczbie następujących genów: gen <i>rrs</i> i promotor <i>eis</i> • Mutacje prowadzące do powstania oporności na CAP zostały wykryte w jednym lub większej liczbie następujących genów: gen <i>rrs</i> • Mutacje prowadzące do powstania oporności na ETH zostały wykryte w jednym lub większej liczbie następujących genów: promotor <i>inhA</i> • SPC: Nie dot. (nie dotyczy). Sygnał kontroli SPC nie jest konieczny, ponieważ amplifikacja sekwencji dla prątków gruźlicy może konkurować z tą kontrolą. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS). Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.
WYKRYTO PRĄTKI GRUŻLICY (MTB DETECTED); WYKRYTO oporność na INH (INH Resistance DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na FLQ (FLQ Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na AMK (AMK Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na KAN (KAN Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na CAP (CAP Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na ETH (ETH Resistance NOT DETECTED)	<p>W próbce wykryto sekwencję docelową prątków gruźlicy:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nie wykryto mutacji prowadzących do powstania oporności na FLQ, AMK, KAN, CAP i ETH. • Mutacje prowadzące do powstania oporności na INH zostały wykryte w jednym lub większej liczbie następujących genów: <i>katG</i>, <i>fabG1</i> i obszar intergenowy <i>oxyR-ahpC</i> • SPC: Nie dot. (nie dotyczy). Sygnał kontroli SPC nie jest konieczny, ponieważ amplifikacja sekwencji dla prątków gruźlicy może konkurować z tą kontrolą. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS). Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.

Wynik	Interpretacja
<p>WYKRYTO PRĄTKI GRUŻLICY (MTB DETECTED); WYKRYTO oporność na INH (INH Resistance DETECTED) Oporność na FLQ NIEOKREŚLONA (FLQ Resistance INDETERMINATE) NIE WYKRYTO oporności na AMK (AMK Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na KAN (KAN Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na CAP (CAP Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na ETH (ETH Resistance NOT DETECTED)</p>	<p>W próbce wykryto sekwencję docelową prątków gruźlicy:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nie wykryto mutacji prowadzących do powstania oporności na AMK, KAN, CAP i ETH. • Mutacje prowadzące do powstania oporności na INH zostały wykryte w jednym lub większej liczbie następujących genów: <i>katG</i>, <i>fabG1</i> i region intergenowy <i>oxyR-ahpC</i> • Nie dało się określić statusu oporności na FLQ, gdyż wykryto tylko Tm sekwencji dzikiego typu jednej lub większej liczby sond, zaś nie wykryto Tm sekwencji jednej lub więcej sond rozpoznających jeden lub więcej następujących genów: <i>gyrA</i> lub <i>gyrB</i>. „LUB” brak Tm, dla którejkolwiek z sond rozpoznających geny <i>gyrA</i> i <i>gyrB</i>. • SPC: Nie dot. (nie dotyczy). Sygnał kontroli SPC nie jest konieczny, ponieważ amplifikacja sekwencji dla prątków gruźlicy może konkurować z tą kontrolą. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS). Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.
<p>WYKRYTO PRĄTKI GRUŻLICY (MTB DETECTED); WYKRYTO niską oporność na INH (Low INH Resistance DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na FLQ (FLQ Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na AMK (AMK Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na KAN (KAN Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na CAP (CAP Resistance NOT DETECTED) WYKRYTO oporność na ETH (ETH Resistance DETECTED)</p>	<p>W próbce wykryto sekwencję docelową prątków gruźlicy:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nie wykryto mutacji prowadzących do powstania oporności na FLQ, AMK, KAN i CAP. • Mutacje przyczyniające się do rozwoju niskiego stopnia oporności na INH wykryto w rejonie promotorowym <i>inhA</i>. • Mutacje przyczyniające się do rozwoju stopnia oporności na ETH wykryto w rejonie promotorowym <i>inhA</i>. • SPC: Nie dot. (nie dotyczy). Sygnał kontroli SPC nie jest konieczny, ponieważ amplifikacja sekwencji dla prątków gruźlicy może konkurować z tą kontrolą. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS). Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.
<p>WYKRYTO PRĄTKI GRUŻLICY (MTB DETECTED); NIE WYKRYTO oporności na INH (INH Resistance NOT DETECTED) WYKRYTO niską oporność na FLQ (Low FLQ Resistance DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na AMK (AMK Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na KAN (KAN Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na CAP (CAP Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na ETH (ETH Resistance NOT DETECTED)</p>	<p>W próbce wykryto sekwencję docelową prątków gruźlicy; wykryto niską oporność na FLQ:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nie wykryto mutacji prowadzących do powstania oporności na INH, AMK, KAN, CAP i ETH. • Mutacje prowadzące do powstania niskiej oporności na FLQ zostały wykryte w jednym lub większej liczbie następujących genów: <i>gyrA</i> • SPC: Nie dot. (nie dotyczy). Sygnał kontroli SPC nie jest konieczny, ponieważ amplifikacja sekwencji dla prątków gruźlicy może konkurować z tą kontrolą. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS). Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.

Wynik	Interpretacja
<p>WYKRYTO PRĄTKI GRUŻLICY (MTB DETECTED); WYKRYTO oporność na INH (INH Resistance DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na FLQ (FLQ Resistance NOT DETECTED) WYKRYTO oporność na AMK (AMK Resistance DETECTED) WYKRYTO oporność na KAN (KAN Resistance DETECTED) WYKRYTO oporność na CAP (CAP Resistance DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na ETH (ETH Resistance NOT DETECTED)</p>	<p>W próbce wykryto sekwencję docelową prątków gruźlicy:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nie wykryto mutacji prowadzących do powstania oporności na FLQ i ETH. • Mutacje prowadzące do powstania oporności na INH zostały wykryte w jednym lub większej liczbie następujących genów: <i>katG</i>, <i>fabG1</i>, <i>oxyR-aphC</i> • Mutacje prowadzące do powstania oporności na AMK zostały wykryte w jednym lub większej liczbie następujących genów: gen <i>rrs</i>; promotor <i>eis</i> • Mutacje prowadzące do powstania oporności na KAN zostały wykryte w jednym lub większej liczbie następujących genów: gen <i>rrs</i>; promotor <i>eis</i> • Mutacje prowadzące do powstania oporności na CAP zostały wykryte w jednym lub większej liczbie następujących genów: gen <i>rrs</i> • SPC: Nie dot. (nie dotyczy). Sygnał kontroli SPC nie jest konieczny, ponieważ amplifikacja sekwencji dla prątków gruźlicy może konkurować z tą kontrolą. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS). Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.
<p>WYKRYTO PRĄTKI GRUŻLICY (MTB DETECTED); WYKRYTO oporność na INH (INH Resistance DETECTED) WYKRYTO niską oporność na FLQ (Low FLQ Resistance DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na AMK (AMK Resistance NOT DETECTED) WYKRYTO oporność na KAN (KAN Resistance DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na CAP (CAP Resistance NOT DETECTED) NIE WYKRYTO oporności na ETH (ETH Resistance NOT DETECTED)</p>	<p>W próbce wykryto sekwencję docelową prątków gruźlicy:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nie wykryto mutacji prowadzących do powstania oporności na AMK, CAP i ETH. • Mutacje przyczyniające się do rozwoju stopnia oporności na INH wykryto w co najmniej jednym z następujących genów: <i>katG</i>, <i>fabG1</i>, region międzygenowy <i>oxyR-aphC</i> i promotor <i>inhA</i> • Mutacje prowadzące do powstania niskiej oporności na FLQ zostały wykryte w następującym genie: <i>gyrA</i> • Mutacje przyczyniające się do powstania oporności na KAN wykryto w rejonie promotorowym <i>eis</i>. • SPC: Nie dot. (nie dotyczy). Sygnał kontroli SPC nie jest konieczny, ponieważ amplifikacja sekwencji dla prątków gruźlicy może konkurować z tą kontrolą. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS). Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.
<p>NIE WYKRYTO PRĄTKÓW GRUŻLICY (MTB NOT DETECTED)</p>	<p>W próbce nie wykryto sekwencji docelowej prątków gruźlicy:</p> <ul style="list-style-type: none"> • SPC: POWODZENIE (PASS). Kontrola SPC spełniła kryteria akceptacji. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS). Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.
<p>WYNIK NIEWAŻNY (INVALID)</p>	<p>Nie można określić obecności ani nieobecności prątków gruźlicy. Kontrola SPC nie spełniła kryteriów akceptacji, próbka nie została poprawnie przetworzona lub nastąpiło inhibicja reakcji PCR. Należy powtórzyć test. Patrz sekcja Sekcja 16.2. Procedura powtórzenia badania niniejszego dokumentu.</p> <ul style="list-style-type: none"> • PRĄTKI GRUŻLICY (MTB): WYNIK NIEWAŻNY (INVALID) Nie można określić obecności ani nieobecności DNA prątków gruźlicy. • SPC: NIEPOWODZENIE (FAIL). Wynik badania pod kątem sekwencji docelowej prątków gruźlicy jest ujemny, a wartość cyklu progowego (Ct) dla SPC nie mieści się w prawidłowym zakresie. • Kontrola sondy: POWODZENIE (PASS). Wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.

Wynik	Interpretacja
BŁĄD (ERROR)	<p>Nie można określić obecności ani nieobecności prątków gruźlicy. Należy powtórzyć test. Patrz sekcja Sekcja 16.2. Procedura powtórzenia badania niniejszego dokumentu.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● PRĄTKI GRUŹLICY (MTB): BRAK WYNIKU (NO RESULT) ● SPC: BRAK WYNIKU (NO RESULT) ● Kontrola sondy: NIEPOWODZENIE (FAIL). Wszystkie lub jeden wynik kontroli sondy był nieprawidłowy. <p>Uwaga Jeśli kontrola sondy zakończyła się powodzeniem, błąd mógł zostać spowodowany awarią elementu systemu, błędem operatora lub problemem wywołanym nieszczelnością kartridża.</p>
BRAK WYNIKU (NO RESULT)	<p>Nie można określić obecności ani nieobecności prątków gruźlicy. Należy powtórzyć test. Patrz sekcja Sekcja 16.2. Procedura powtórzenia badania niniejszego dokumentu. BRAK WYNIKU (NO RESULT) oznacza, że zgromadzono niewystarczające dane. Taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzymał badanie będące w toku.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● PRĄTKI GRUŹLICY (MTB): BRAK WYNIKU (NO RESULT) ● SPC: BRAK WYNIKU (NO RESULT) ● Kontrola sondy: NIE DOTYCZY (NA)

Uwaga Na następującej ilustracji przedstawiono reprezentatywne wyniki obejmujące tabelę z wartościami szczytów krzywych topnienia, których można oczekiwać dla testu Xpert MTB/XDR w karcie GeneXpert Dx Widok szczegółowy (Detailed User View). Nie przedstawiono wszystkich możliwych kombinacji wyników.

Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Assay Name	MTB-XDR	Version	3			
Test Result	MTB DETECTED; INH Resistance NOT DETECTED; FLQ Resistance NOT DETECTED; AMK Resistance NOT DETECTED; KAN Resistance NOT DETECTED; CAP Resistance NOT DETECTED; ETH Resistance NOT DETECTED					
Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Analyte Name	Melt Peak Temperature	Melt Peak Height				
inhA-melt	76.3	292.5				
katG-melt	73.8	107.0				
fabG1-melt	71.5	242.0				
ahpC-melt	68.7	41.3				
gyrA1-melt	76.2	73.9				
gyrA2-melt	70.4	75.8				
gyrA3-melt	71.0	129.8				
gyrB2-melt	69.5	77.8				
rrs-melt	75.0	188.7				
eis-melt	68.5	145.3				
inhA-mut melt						
katG-mut melt						
fabG1-mut melt						
ahpC-mut melt						
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt						
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt						
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt						
gyrA3-mutC melt						
gyrB2-mut melt						
rrs-mut melt						
eis-mutA melt						
eis-mutB melt						

Ilustracja 8. WYKRYTO PRĄTKI GRUŻLICY; NIE WYKRYTO oporności na INH, FLQ, AMK, KAN, CAP i ETH (MTB DETECTED; INH, FLQ, AMK, KAN, CAP, and ETH Resistance NOT DETECTED)

Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Assay Name MTB-XDR Version 3						
Test Result	MTB DETECTED; INH Resistance DETECTED; FLQ Resistance DETECTED; AMK Resistance DETECTED; KAN Resistance DETECTED; CAP Resistance DETECTED; ETH Resistance DETECTED					
Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Analyte Name	Melt Peak Temperature	Melt Peak Height				
inhA-melt						
katG-melt						
fabG1-melt						
ahpC-melt						
gyrA1-melt	76.1	90.0				
gyrA2-melt	69.6	39.7				
gyrA3-melt						
gyrB2-melt						
rrs-melt						
eis-melt						
inhA-mut melt	70.9	259.6				
katG-mut melt	68.4	214.0				
fabG1-mut melt	75.9	181.1				
ahpC-mut melt	66.2	68.2				
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt						
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt						
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt	76.0	125.0				
gyrA3-mutC melt						
gyrB2-mut melt	66.0	103.2				
rrs-mut melt	71.0	125.7				
eis-mutA melt	71.4	163.9				
eis-mutB melt						

Ilustracja 9. WYKRYTO PRĄTKI GRUŹLICY; WYKRYTO oporność na INH, FLQ, AMK, KAN, CAP i ETH (MTB DETECTED; INH, FLQ, AMK, KAN, CAP, and ETH Resistance DETECTED)

Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Assay Name	MTB-XDR	Version	3			
Test Result	MTB DETECTED; INH Resistance DETECTED; FLQ Resistance NOT DETECTED; AMK Resistance NOT DETECTED; KAN Resistance NOT DETECTED; CAP Resistance NOT DETECTED; ETH Resistance NOT DETECTED					

Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Analyte Name	Melt Peak Temperature	Melt Peak Height				
inhA-melt	76.6	284.9				
katG-melt	74.0	105.2				
fabG1-melt						
ahpC-melt	69.0	35.4				
gyrA1-melt	76.6	65.2				
gyrA2-melt	70.4	64.9				
gyrA3-melt	71.4	92.2				
gyrB2-melt	69.7	84.7				
rrs-melt	75.3	146.8				
eis-melt	68.7	124.2				
inhA-mut melt						
katG-mut melt						
fabG1-mut melt	75.9	178.0				
ahpC-mut melt						
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt						
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt						
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt						
gyrA3-mutC melt						
gyrB2-mut melt						
rrs-mut melt						
eis-mutA melt						
eis-mutB melt						

Ilustracja 10. WYKRYTO PĄTKI GRUŻLICY, WYKRYTO oporność na INH (MTB DETECTED; INH Resistance DETECTED)

Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Assay Name MTB-XDR Version 4						
Test Result	MTB DETECTED; INH Resistance DETECTED; FLQ Resistance NOT DETECTED; AMK Resistance INDETERMINATE; KAN Resistance DETECTED; CAP Resistance INDETERMINATE; ETH Resistance DETECTED					
Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Analyte Name	Melt Peak Temperature	Melt Peak Height				
inhA-melt						
katG-melt						
fabG1-melt	71.5	254.6				
ahpC-melt	68.7	49.4				
gyrA1-melt	76.3	62.9				
gyrA2-melt	70.2	59.8				
gyrA3-melt	71.5	56.5				
gyrB2-melt	69.4	74.8				
rrs-melt						
eis-melt						
inhA-mut melt	70.9	277.7				
katG-mut melt	68.2	157.7				
fabG1-mut melt						
ahpC-mut melt						
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt						
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt						
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt						
gyrA3-mutC melt						
gyrB2-mut melt						
rrs-mut melt						
eis-mutA melt						
eis-mutB melt	62.6	46.5				

Ilustracja 11. WYKRYTO PRĄTKI GRUŻLICY, WYKRYTO oporność na INH i KAN, Oporność na AMK i CAP NIEOKREŚLONA (MTB DETECTED; INH and KAN Resistance DETECTED; AMK and CAP INDETERMINATE)

Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Assay Name MTB-XDR Version 3						
Test Result MTB DETECTED; INH Resistance DETECTED; Low FLQ Resistance DETECTED; AMK Resistance NOT DETECTED; KAN Resistance NOT DETECTED; CAP Resistance NOT DETECTED; ETH Resistance NOT DETECTED						
Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Analyte Name	Melt Peak Temperature	Melt Peak Height				
inhA-melt	76.5	313.1				
katG-melt						
fabG1-melt	71.7	211.5				
ahpC-melt	69.0	47.2				
gyrA1-melt						
gyrA2-melt						
gyrA3-melt						
gyrB2-melt	69.6	81.1				
rrs-melt	75.2	248.1				
eis-melt	68.8	158.2				
inhA-mut melt						
katG-mut melt	68.4	184.6				
fabG1-mut melt						
ahpC-mut melt						
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt	72.3	125.0				
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt	76.0	207.9				
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt	76.5	128.0				
gyrA3-mutC melt						
gyrB2-mut melt						
rrs-mut melt						
eis-mutA melt						
eis-mutB melt						

Ilustracja 12. WYKRYTO PRĄTKI GRUŻLICY; WYKRYTO oporność na INH i niską oporność na FLQ (MTB DETECTED; INH and Low FLQ Resistance DETECTED)

Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Assay Name MTB-XDR Version 3						
Test Result MTB DETECTED; INH Resistance DETECTED; FLQ Resistance DETECTED; AMK Resistance DETECTED; KAN Resistance DETECTED; CAP Resistance NOT DETECTED; ETH Resistance NOT DETECTED						
Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Analyte Name	Melt Peak Temperature	Melt Peak Height				
inhA-melt	76.6	278.9				
katG-melt						
fabG1-melt	71.7	226.6				
ahpC-melt	69.0	42.9				
gyrA1-melt						
gyrA2-melt						
gyrA3-melt						
gyrB2-melt	69.8	68.7				
rrs-melt	75.3	198.7				
eis-melt						
inhA-mut melt						
katG-mut melt	68.5	204.1				
fabG1-mut melt						
ahpC-mut melt						
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt	72.9	88.0				
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt						
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt						
gyrA3-mutC melt	69.1	113.4				
gyrB2-mut melt						
rrs-mut melt						
eis-mutA melt	71.6	183.4				
eis-mutB melt						

Ilustracja 13. WYKRYTO PRĄTKI GRUŻLICY; WYKRYTO oporność na INH, FLQ, AMK i KAN (MTB DETECTED; INH, FLQ, AMK, and KAN Resistance DETECTED)

The screenshot displays the Xpert MTB/XDR software interface. The top section shows the 'Test Result' tab selected, with 'Assay Name: MTB-XDR' and 'Version: 3'. The main result area displays 'MTB NOT DETECTED' in green text. Below this, a table lists various analyte names under the 'Melt Peaks' tab. The table has three columns: 'Analyte Name', 'Melt Peak Temperature', and 'Melt Peak Height'. The 'Analyte Name' column lists 28 different analytes, including standard and mutant forms of inhA, katG, fabG1, ahpC, gyrA1, gyrA2, gyrA3, gyrB2, rrs, and eis.

Analyte Name	Melt Peak Temperature	Melt Peak Height
inhA-melt		
katG-melt		
fabG1-melt		
ahpC-melt		
gyrA1-melt		
gyrA2-melt		
gyrA3-melt		
gyrB2-melt		
rrs-melt		
eis-melt		
inhA-mut melt		
katG-mut melt		
fabG1-mut melt		
ahpC-mut melt		
gyrA1-mutA melt		
gyrA1-mutB melt		
gyrA1-mutC melt		
gyrA2-mutA melt		
gyrA2-mutB melt		
gyrA3-mutA melt		
gyrA3-mutB melt		
gyrA3-mutC melt		
gyrB2-mut melt		
rrs-mut melt		
eis-mutA melt		
eis-mutB melt		

Ilustracja 14. NIE WYKRYTO PRĄTKÓW GRUŹLICY (MTB NOT DETECTED)

Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Assay Name		MTB-XDR		Version 3		
Test Result		INVALID				
Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Analyte Name	Melt Peak Temperature	Melt Peak Height				
inhA-melt	76.8	102.1				
katG-melt						
fabG1-melt	71.7	53.1				
ahpC-melt	69.1	34.9				
gyrA1-melt	76.6	71.4				
gyrA2-melt						
gyrA3-melt	71.5	40.7				
gyrB2-melt	70.2	38.9				
rrs-melt						
eis-melt	68.6	109.4				
inhA-mut melt						
katG-mut melt	68.5	49.4				
fabG1-mut melt						
ahpC-mut melt						
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt						
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt						
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt						
gyrA3-mutC melt						
gyrB2-mut melt						
rrs-mut melt						
eis-mutA melt						
eis-mutB melt						

Ilustracja 15. WYNIK NIEWAŻNY (INVALID)

Analyte Name	Melt Peak Temperature	Melt Peak Height
inhA-melt		
katG-melt		
fabG1-melt		
ahpC-melt		
gyrA1-melt		
gyrA2-melt		
gyrA3-melt		
gyrB2-melt		
rrs-melt		
eis-melt		
inhA-mut melt		
katG-mut melt		
fabG1-mut melt		
ahpC-mut melt		
gyrA1-mutA melt		
gyrA1-mutB melt		
gyrA1-mutC melt		
gyrA2-mutA melt		
gyrA2-mutB melt		
gyrA3-mutA melt		
gyrA3-mutB melt		
gyrA3-mutC melt		
gyrB2-mut melt		
rrs-mut melt		
eis-mutA melt		
eis-mutB melt		

Ilustracja 16. BŁĄD (ERROR)

16 Powtarzanie badań

16.1 Sytuacje, w których należy powtórzyć badanie

W wypadku wystąpienia któregokolwiek z poniższych wyników badania, należy powtórzyć badanie zgodnie z instrukcjami zawartymi w Sekcja 16.2. Procedura powtórzenia badania.

- Wynik **NIEWAŻNY (INVALID)** oznacza, że kontrola SPC się nie powiodła. Próbka nie została poprawnie przetworzona, nastąpiła inhibicja reakcji PCR lub próbka nie została poprawnie pobrana.
- Wynik **BŁĄD (ERROR)** może być spowodowany, między innymi, niepowodzeniem kontroli sondy lub przekroczeniem maksymalnej wartości granicznej ciśnienia.
- Komunikat **BRAK WYNIKU (NO RESULT)** oznacza, że zgromadzono niewystarczające dane. Taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzymał badanie będące w toku lub gdy nastąpiła awaria zasilania.
- Wynik **NIEOKREŚLONY (INDETERMINATE)** oznacza, że za pomocą algorytmu badania nie dało się w sposób jednoznaczny określić oporności na dany lek (dalsze wyjaśnienia opisano w części Sekcja 17. Ograniczenia). Ponowne wykonanie badania z wykorzystaniem innej próbki może, ale nie musi, doprowadzić do uzyskania innego wyniku.

16.2 Procedura powtórzenia badania

Aby powtórzyć badanie, należy użyć nowego kartridża (nie używać ponownie tego samego kartridża). W wypadku dysponowania pozostałościami świeżej płwociny (w minimalnej objętości $\geq 1,0$ ml) lub odtworzonego osadu (w minimalnej objętości $\geq 0,5$ ml), należy zawsze używać nowego odczynnika do próbek w celu dekontaminacji i upłynnienia płwociny przed wykonaniem testu. Należy przestrzegać instrukcji dotyczących przetwarzania zgodnie z Sekcją 12.1. Procedura w wypadku nieprzetworzonej płwociny lub Sekcja 12.2. Procedura w przypadku dekontaminowanego zagęszczonego osadu płwociny..

W wypadku dysponowania dostateczną ilością pozostałości próbki potraktowanej SR, która od chwili dodania SR była przechowywana nie dłużej niż 2,5 godziny w temperaturze nie wyższej niż 35°C lub nie dłużej niż 4 godziny w temperaturze 2–8°C, pozostałości próbki potraktowanej SR można przetworzyć, wykorzystując nowy kartridż. Podczas wykonywania ponownego badania zawsze należy stosować nowy kartridż i rozpoczynać badanie w czasie poniżej 30 minut od chwili dodania przetworzonej próbki do kartridża. Patrz Sekcja 12.3. Przygotowywanie kartridża.

17 Ograniczenia

- Skuteczność testu Xpert MTB/XDR weryfikowano za pomocą procedur opisanych w niniejszej ulotce informacyjnej. Modyfikacje procedury testu XDR należy interpretować z uwzględnieniem innych danych laboratoryjnych i klinicznych dostępnych dla lekarza.
- Skuteczność testu Xpert MTB/XDR zależy od umiejętności operatora i przestrzegania procedury badania. Błędy proceduralne podczas badania mogą prowadzić do uzyskania wyników fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych. Wszyscy operatorzy urządzenia powinni być przeszkoleni pod kątem używania urządzenia i wykonywania testu.
- Wyniki testu powinny być interpretowane przez wyszkolonego profesjonalistę z dziedziny ochrony zdrowia z uwzględnieniem wywiadu lekarskiego, klinicznych objawów przedmiotowych i podmiotowych oraz wyników innych badań diagnostycznych pacjenta.
- Ponieważ wykrycie DNA prątków z grupy prątków gruźliczych zależy od liczności drobnoustrojów w próbce, wiarygodne wyniki testu zależą od odpowiedniego pobrania, przygotowania i przechowywania próbek. Błędne wyniki badania mogą być spowodowane niewłaściwym pobraniem, przygotowaniem lub przechowywaniem próbki, nieprzestrzeganiem zalecanej procedury pobierania próbek, błędem technicznym, wymieszaniem próbek bądź niewystarczającym stężeniem materiału początkowego. Uważne przestrzeganie instrukcji zawartych w niniejszej ulotce informacyjnej pozwoli uniknąć uzyskania błędnych wyników.
- Wyniki badania mogą również zależeć od uprzedniej lub trwającej terapii antybiotykowej. Dlatego za pomocą tego testu nie można ocenić powodzenia ani niepowodzenia terapeutycznego, ponieważ DNA może być nadal obecne po terapii przeciwgruźliczej.
- Wynik dodatni badania niekoniecznie oznacza obecność żywych drobnoustrojów. Jednakże może sugerować obecność DNA prątków z grupy prątków gruźliczych zawierającego mutacje powiązane z opornością na INH, FLQ, AMK, KAN, CAP i ETH.
- Mutacje lub polimorfizmy w rejonach wiążących startery lub sondy mogą wpływać na wykrywanie nowych lub nieznanymi szczepów XDR prątków gruźlicy, co może prowadzić do uzyskania wyniku świadczącego o wrażliwości na lek.
- Test Xpert MTB/XDR nie dostarcza potwierdzenia wrażliwości na INH, FLQ, AMK, KAN, CAP lub ETH, gdyż oprócz mechanizmów oporności wykrywanych testem, mogą istnieć inne, mogące mieć powiązanie z brakiem odpowiedzi klinicznej na leczenie.
- Nie oceniano przydatności próbek krwi, płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR), treści żołądka, kału, tkanek i moczu w teście Xpert MTB/XDR.
- Mimo, że preparaty płwociny indukowanej nie były przedmiotem oceny skuteczności klinicznej testu Xpert MTB/XDR, badaniu poddano roztwory izotoniczne i hipertoniczne, leki rozszerzające oskrzela, w tym podawane wziewnie, służące do pobierania płwociny indukowanej i stwierdzono, że nie zakłócają one testu. Indukcja roztworem soli może prowadzić do uzyskania niewystarczającej liczby organizmów w próbce i w ten sposób wpłynąć na wykrywanie *M. tuberculosis*.
- Zagęszczone osady płwociny stosowane do oceny skuteczności testu Xpert MTB/XDR przygotowano metodą z NALC i NaOH opisaną przez Kent i Kubica¹¹. Zastosowanie innych metod przygotowania osadu może wpłynąć na skuteczność testu.
- Ujemny wynik testu nie wyklucza możliwości izolacji DNA prątków z grupy prątków gruźliczych z próbki płwociny. Test Xpert MTB/XDR można stosować łącznie z hodowlą prątków w celu zmniejszenia ryzyka uzyskania fałszywie ujemnych wyników i uzyskania organizmu w celu dalszej charakterystyki i badania wrażliwości na leki.
- Oczekuje się, że próbki z wynikiem „**WYKRYTO śladowe ilości prątków gruźlicy (MTB Trace DETECTED)**” uzyskany w teście Xpert MTB/RIF Ultra znajdują się poniżej granicy wykrywalności testu MTB/XDR i nie zaleca się ich badania testem Xpert MTB/XDR.

- Test Xpert MTB/XDR z zasady nie różnicuje poszczególnych gatunków z grupy prątków gruźliczych (tzn. *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. caprae*, *M. pinnipedi*, *M. mungi* i *M. orygis*). Co więcej, aby określić, czy poza prątkami z grupy prątków gruźliczych w próbce znajdują się również szczepy niegruźlicze (NTM), należy także założyć hodowlę.
- W literaturze pojawiły się doniesienia o niższej czułości testu w grupie pacjentów pediatrycznych, związanej z rozsiały charakterem zakażenia prątkami gruźlicy w płucach tej grupy pacjentów oraz trudnościami związanymi z pozyskaniem dostatecznej ilości próbki^{16,17}.
- Mieszane zakażenia prątkami gruźlicy i *M. marinum* mogą dawać wynik „**NIEOKREŚLONA (INDETERMINATE)**” dla oporności na FLQ w wypadku łącznej obecności $>10^4$ CFU/ml *M. marinum* i ≤ 408 CFU/ml prątków gruźlicy.
- W rzadkich wypadkach, startery i sondy nakierowane na rozpoznawanie *rrs* mogą reagować krzyżowo z drobnoustrojami środowiskowymi obecnymi w mikroflorze płwociny, co może prowadzić do wyniku „**NIEOKREŚLONA (INDETERMINATE)**” dla oporności na AMK, KAN i CAP.
- Test Xpert MTB/XDR pozwala określić oporność na ETH związaną wyłącznie z mutacjami w rejonie promotora *inhA*. Nieobecność mutacji w rejonie promotora *inhA* nie wyklucza oporności na ETH. Mutacje odpowiadające za oporność na ETH obserwowano w rejonach genomu, które nie są przedmiotem testu Xpert MTB/XDR.¹⁵
- Powiązanie mutacji genów *oxyR-ahpC* i *gyrB*, odpowiednio, z opornością na INH i FLQ, nie zostało jak dotąd jednoznacznie potwierdzone; niemniej opublikowano wyniki badań, w których stwierdzono obecność tych mutacji w szczepach opornych na INH i FLQ.^{18,19}
- Obecność delekcji lub rzadkich mutacji w którymkolwiek z genów docelowych może doprowadzić do uzyskania wyniku „**NIEOKREŚLONA (INDETERMINATE)**” dla danego leku.
- W wypadku próbek pochodzących z mieszanych populacji szczepów wrażliwych i opornych na leki, istnieje prawdopodobieństwo niewykrycia mutacji w teście Xpert MTB/XDR w wypadku, gdy populacja oporna jest obecna w ilościach niewykrywalnych testem.
- W próbkach zawierających bardzo niską liczbę bakterii lub mieszaninę szczepów wrażliwych i opornych na leki, test Xpert MTB/XDR może nie rozróżnić niskiej i wysokiej oporności na FLQ.

18 Skuteczność kliniczna

Przeprowadzono dwa badania kliniczne. Skuteczność kliniczna testu Xpert MTB/XDR oceniano, wykorzystując, w badaniu klinicznym 1, retrospektywnie pobierane zamrożone archiwalne próbki nieprzetworzonej płwociny oraz próbki zagęszczonego osadu płwociny oraz pobierane na bieżąco próbki płwociny i hodowle MGIT w badaniu klinicznym 2.

18.1 Próbkę płwociny

Przeprowadzono zaślepienie badanie kliniczne w celu oceny skuteczności testu Xpert MTB/XDR w wykrywaniu oporności na INH, ETH, FLQ i SLID (AMK, KAN i CAP) w porównaniu z metodami referencyjnymi opartymi na technikach mikrobiologicznych i biologii molekularnej, t.j., odpowiednio, fenotypowemu badaniu wrażliwości na leki (phenotypic drug susceptibility, pDST) oraz sekwencjonowaniu. Dodatkowo, skuteczność kliniczną testu Xpert MTB/XDR porównywano ze skutecznością testów Xpert MTB/RIF i Xpert MTB/RIF Ultra w zakresie wykrywania prątków gruźlicy. Dwa ośrodki z regionów o wysokim współczynniku chorobowości dla gruźlicy MDR i XDR dostarczyły zamrożone archiwalne próbki nieprzetworzonej płwociny oraz próbki zagęszczonego osadu płwociny, które wykazywały wynik dodatni lub ujemny hodowli prątków gruźlicy.

Tabela 5 pokazuje czułość i swoistość testu Xpert MTB/XDR względem pDST w wykrywaniu oporności na leki. Czułość wynosiła $>90\%$ dla INH, FLQ i AMK, $>85\%$ dla KAN i CAP oraz $>64\%$ dla ETH; swoistość wynosiła $>98\%$ dla wszystkich leków.

Tabela 5. Xpert MTB/XDR vs pDST w zakresie lekooporności (próbki retrospektywne)

Leki	N	TP	FN	TN	FP	Czułość (%)	95%CI	Swoistość (%)	95% CI
INH	478	244	23	209	2	91,4	87,4–94,2	99,1	96,6–99,7
Niska oporność na FLQ	417	148	11	254	4	93,1	88,0–96,1	98,5	96,1–99,4
AMK	405	79	7	317	2	91,9	84,1–96,0	99,4	97,7–99,8
KAN	343	58	8	276	1	87,9	77,9–93,7	99,6	98,0–99,9

Leki	N	TP	FN	TN	FP	Czułość (%)	95%CI	Swoistość (%)	95% CI
CAP	167	21	4	142	0	84,0	65,3–93,6	100,0	97,4–100,0
ETH	230	75	41	112	2	64,7 ^a	55,6–72,8	98,3	93,8–99,5

^a Zgłaszanie oporności na ETH bazuje wyłącznie na wykrywaniu mutacji promotora inhA, co skutkuje niższą czułością.

Tabela 6 pokazuje czułość i swoistość testu Xpert MTB/XDR względem sekwencjonowania w wykrywaniu oporności na leki. Czułość wynosiła >93% dla FLQ i ponad 96% dla INH, AMK, KAN, CAP i ETH; swoistość wynosiła 100,0% dla wszystkich leków wymienionych w tabeli poza INH, dla którego wynosiła 98,7%.

Tabela 6. Xpert MTB/XDR vs sekwencjonowanie w zakresie lekooporności (próbki retrospektywne)

Leki	N	TP	FN	TN	FP	Czułość (%)	95%CI	Swoistość (%)	95% CI
INH	471	241	3	224	3	98,8	96,5–99,6	98,7	96,2–99,5
Niska oporność na FLQ	469	152	11	306	0	93,3	88,3–96,2	100,0	98,8–100,0
AMK	463	81	3	379	0	96,4	90,0–98,8	100,0	99,0–100,0
KAN	463	88	3	372	0	96,7	90,8–98,9	100,0	99,0–100,0
CAP	463	78	3	382	0	96,3	89,7–98,7	100,0	99,0–100,0
ETH	473	104	3	366	0	97,2	92,1–99,0	100,0	99,0–100,0

Tabela 7 pokazuje zgodność procentową wyników dodatnich (positive percent agreement, PPA) oraz zgodność procentową wyników ujemnych (negative percent agreement, NPA) dla wykrywania obecności prątków gruźlicy testem Xpert MTB/XDR względem testu Xpert MTB/RIF, które wynoszą, odpowiednio, 98,9% i 93,8%.

Tabela 7. Xpert MTB/XDR vs test Xpert MTB/RIF przy wykrywaniu prątków MTB

		Test Xpert MTB/RIF		
		Wykryto prątki gruźlicy	Nie wykryto prątków gruźlicy	Łącznie
Xpert MTB/XDR	Wykryto prątki gruźlicy	273	2 ^a	275
	Nie wykryto prątków gruźlicy	3 ^b	30	33
	Łącznie	276	32	308
PPA		98,9% (95%CI: 96,9–99,6)		
NPA		93,8% (95%CI: 79,9–98,3)		

^a W momencie pobrania próbki pacjenci od dłuższego czasu przyjmowali leczenie przeciwgruźlicze.

^b Dla próbek uzyskano wynik poniżej granicy wykrywalności testu Xpert MTB/XDR.

Tabela 8 pokazuje PPA i NPA testu Xpert MTB/XDR względem testu Xpert MTB/RIF Ultra dla wykrywania prątków gruźlicy, które wynoszą, odpowiednio, 99,5% i 100,0%.

Tabela 8. Xpert MTB/XDR vs.Xpert MTB/RIF Ultra przy wykrywaniu prątków MTB

		Xpert MTB/RIF Ultra		
		Wykryto prątki gruźlicy	Nie wykryto prątków gruźlicy	Łącznie
Xpert MTB/XDR	Wykryto prątki gruźlicy	207	0	207
	Nie wykryto prątków gruźlicy	1 ^a	14	15
	Łącznie	208	14	222
		PPA	99,5% (95%CI: 97,3–99,9)	
		NPA	100,0% (95%CI: 78,5–100,0)	

^a Wynik testu Xpert MTB/RIF Ultra to **Wykryto śladową ilość prątków MTB (MTB Trace Detected)**.

Spośród 531 wykonanych testu Xpert MTB/XDR przeprowadzonych łącznie w ramach tego badania, 15 dało za pierwszym razem wynik nieokreślony (**BŁĄD (ERROR), NIEWAŻNY (INVALID)** lub **BRAK WYNIKU (NO RESULT)**). Po ponownym przeprowadzeniu badań tych 15 próbek, tylko jeden wynik pozostał nieokreślony. Wskaźnik nieokreśloności dla testów wstępnych wynosił 2,8% (15/531), zaś wskaźnik nieokreśloności dla testów ostatecznych wynosił 0,2% (1/531).

Wieloośrodkowe badanie kliniczne (badanie kliniczne 2) realizowano w celu oceny skuteczności testu Xpert MTB/XDR względem pDST i sekwencjonowania w wykrywaniu oporności na INH, ETH, FLQ i SLID (AMK, KAN i CAP) w próbkach płwociny. Prospektywnie zbierano próbki płwociny z czterech ośrodków o wysokiej wartości współczynnika chorobowości na gruźlicę MDR. Próbki nieprzetworzonej płwociny oraz izolaty z hodowli MGIT, w których potwierdzono obecność prątków gruźlicy metodami hodowlanymi, były analizowane pod kątem oporności na leki.

Tabela 9 pokazuje czułość i swoistość testu Xpert MTB/XDR względem pDST w wykrywaniu oporności na wszystkie leki w próbkach płwociny. Czułość wynosiła >90% dla INH, FLQ i KAN, >85% dla AMK, >70% dla CAP i >50% dla ETH. Swoistość wynosiła ≥ 92% dla wszystkich leków.

Tabela 9. Xpert MTB/XDR vs pDST w zakresie lekooporności (próbki prospektywne)

Leki	N	TP	FN	TN	FP	Czułość (%)	95% CI	Swoistość (%)	95% CI
INH	587	452	24	106	5	95,0	92,6–96,6	95,5	89,9–98,1
Niska oporność na FLQ	583	203	13	347	20	94,0	90,0–96,4	94,6 ^a	91,7–96,4
AMK	571	54	9	500	8	85,7	75,0–92,3	98,4	96,9–99,2
KAN	573	155	14	372	32	91,7	86,6–95,0	92,1 ^b	89,0–94,3
CAP	573	50	17	503	3	74,6	63,1–83,5	99,4	98,3–99,8
ETH	588	169	148	258	13	53,3 ^c	47,8–58,7	95,2	92,0–97,2

^a W przypadku kilku próbek z mutacjami A90V/S91P/D94A w obrębie genu gyrA wykryto podatność w metodzie pDST i oporność przy użyciu testu, co skutkowało niższą swoistością.

^b W przypadku kilku próbek z mutacjami w obrębie regionu promotorowego eis oraz genu rrs typu dzikiego wykryto podatność w metodzie pDST i oporność przy użyciu testu, co skutkowało niższą swoistością.

^c Zgłaszanie oporności na ETH bazuje wyłącznie na wykrywaniu mutacji promotora inhA, co skutkuje niższą czułością.

Tabela 10 pokazuje czułość i swoistość testu Xpert MTB/XDR względem sekwencjonowania w wykrywaniu oporności na wszystkie leki w próbkach płwociny. Czułość wynosiła >90% dla INH, FLQ i KAN (zaokrąglone od wartości 89,5%), >70% dla AMK, >65% dla CAP i >95% dla ETH. Swoistość wynosiła ≥ 98% dla wszystkich leków.

Tabela 10. Xpert MTB/XDR vs sekwencjonowanie w zakresie lekooporności (próbki prospektywne)

Leki	N	TP	FN	TN	FP	Czułość (%)	95% CI	Swoistość (%)	95% CI
INH	515	411	17	85	2	96,0	93,7–97,5	97,7	92–99,4
Niska oporność na FLQ	513	201	6	303	3	97,1	93,8–98,7	99,0	97,2–99,7
AMK	501	50	18	430	3	73,5	62–82,5	99,3	98–99,8
KAN	503	170	20	308	5	89,5	84,3–93,1	98,4	96,3–99,3
CAP	504	45	23	435	1	66,2	54,3–76,3	99,8	98,7–100
ETH	517	160	6	347	4	96,4	92,3–98,3	98,9	97,1–99,6

18.2 Preparaty MGIT

Wieloośrodkowe badanie kliniczne (badanie kliniczne 2) realizowano także w celu oceny skuteczności testu Xpert MTB/XDR względem pDST i sekwencjonowania w wykrywaniu oporności na INH, ETH, FLQ i SLID (AMK, KAN i CAP) w próbkach dodatnich pod względem obecności prątków gruźlicy. Prospektywnie zbierano próbki płwociny z czterech ośrodków o wysokiej wartości współczynnika chorobowości na gruźlicę MDR. Pobrane od każdego pacjenta próbki nieprzetworzonej płwociny oraz izolaty z hodowli MGIT przetestowano przy użyciu testu Xpert MTB/XDR. Po bezpośrednich testach przy użyciu Xpert MTB/XDR, poddane dekontaminacji i stężone próbki płwociny posiano na podłożu hodowli MGIT oraz inkubowano w celu uzyskania potwierdzenia wzrostu prątków MTB. Dodatkowo izolaty hodowli MGIT przebadano przy użyciu testu Xpert MTB/XDR. Izolaty hodowli MGIT przechowywano w temperaturze 2–8°C przed przetestowaniem i większość próbek (96,9%) przetestowano w ciągu 2 miesięcy od dodatniego wyniku hodowli MGIT.

Tabela 11 pokazuje czułość i swoistość testu Xpert MTB/XDR względem pDST w wykrywaniu oporności na leki. Czułość wynosiła >90% dla INH, FLQ i KAN, >85% dla AMK, >75% dla CAP i 55% dla ETH. Swoistość wynosiła ≥ 92% dla wszystkich leków.

Tabela 11. Xpert MTB/XDR vs pDST w zakresie lekooporności (dodatni wynik hodowli MGIT)

Leki	N	TP	FN	TN	FP	Czułość (%)	95% CI	Swoistość (%)	95% CI
INH	596	459	23	109	5	95,2	92,9–96,8	95,6	90,1–98,1
Niska oporność na FLQ	594	208	12	356	18	94,5	90,7–96,9	95,2	92,5–96,9
AMK	593	57	8	520	8	87,7	77,5–93,6	98,5	97,0–99,2
KAN	594	163	11	388	32	93,7	89,0–96,4	92,4 ^a	89,4–94,6
CAP	595	52	17	524	2	75,4	64,0–84,0	99,6	98,6–99,9
ETH	597	177	145	258	17	55,0	49,5–60,3	93,8	90,3–96,1

^a W przypadku kilku próbek z mutacjami w obrębie regionu promotorowego eis oraz genu rrs typu dzikiego wykryto podatność w metodzie pDST i oporność przy użyciu testu, co skutkowało niższą swoistością.

Tabela 12 pokazuje czułość i swoistość testu Xpert MTB/XDR względem sekwencjonowania w wykrywaniu oporności na leki. Czułość wynosiła >96% dla INH, FLQ i ETH, >85% dla KAN, >70% dla AMK i >62% dla CAP. Swoistość wynosiła ≥ 97% dla wszystkich leków.

Tabela 12. Xpert MTB/XDR vs sekwencjonowanie w zakresie lekooporności (dodatni wynik hodowli MGIT)

Leki	N	TP	FN	TN	FP	Czułość (%)	95% CI	Swoistość (%)	95% CI
INH	522	418	15	88	1	96,5	94,4–97,9	98,9	93,9–99,8
Niska oporność na FLQ	521	205	5	309	2	97,6	94,5–99,0	99,4	97,7–99,8
AMK	520	52	20	446	2	72,2	61,0–81,2	99,6	98,4–99,9
KAN	520	177	20	319	4	89,8	84,8–93,3	98,8	96,9–99,5
CAP	522	45	27	450	0	62,5	51,0–72,8	100,0	99,2–100,0
ETH	523	167	4	344	8	97,7	94,1–99,1	97,7	95,6–98,8

Spośród 1211 wykonań testu Xpert MTB/XDR przeprowadzonych w ramach tego badania (606 na próbkach płwociny, 605 na próbkach MGIT), 35 dało za pierwszym razem wynik nieokreślony. Po ponownym przeprowadzeniu badań tych 35 próbek, dwa wyniki pozostały nieokreślone. Wskaźnik nieokreśloności dla testów wstępnych wynosił 2,9% (35/1211), zaś wskaźnik nieokreśloności dla testów ostatecznych wynosił 0,2% (2/1211).

19 Skuteczność analityczna

19.1 Czułość analityczna (granica wykrywalności)

Przeprowadzono badania mające na celu określenie analitycznej granicy wykrywalności (LoD) testu Xpert MTB/XDR z użyciem dwóch serii odczynników w trakcie trzech dni badań. Dodatni wynik na obecność prątków gruźlicy opierał się na wykryciu pojedynczej kopii sekwencji docelowej *inhA*. Do weryfikacji wybrano wyższą granicę wykrywalności określoną za pomocą analizy probitowej, zaobserwowaną dla szczepu i dla serii. Weryfikację określonej granicy wykrywalności wykonano z użyciem jednej serii odczynników w trakcie co najmniej trzech dni badań. Granicę wykrywalności ustalono, stosując dodatek reprezentatywnego przedstawiciela grupy prątków gruźliczych, *Mycobacterium bovis* BCG (*Bacille Calmette-Guerin*), do ujemnych pod względem obecności prątków gruźlicy próbek nieprzetworzonej płwociny oraz ujemnych pod względem obecności prątków gruźlicy próbek zagęszczonego osadu płwociny.

Granica wykrywalności to najniższe stężenie wyrażone w CFU/ml, które w sposób odtwarzalny odróżnia od próbek ujemnych na poziomie ufności $\geq 95\%$. W trakcie 3 dni oceniono co najmniej 20 powtórzeń w od pięciu do ośmiu stężeniach dla dwóch różnych serii odczynników, zaś granicę wykrywalności określono za pomocą analizy probitowej.

Do weryfikacji wybrano wyższą granicę wykrywalności określoną za pomocą analizy probitowej, zaobserwowaną dla każdego z preparatów i serii. Weryfikację określonej granicy wykrywalności wykonano z użyciem jednej serii odczynników w trakcie co najmniej trzech dni badań, w oparciu o co najmniej 19 z 20 dodatnich powtórzeń. Oszacowania granicy wykrywalności podanej w CFU/ml zestawiono w Tabeli 13.

Tabela 13. Czułość analityczna (granica wykrywalności)

Rodzaj próbki	Oszacowanie granicy wykrywalności, CFU/ml
Nieprzetworzona płwocina	136
Osad	86

19.2 Swoistość analityczna (wyłączność)

Swoistość analityczną testu Xpert MTB/XDR oceniano, testując panel 57 organizmów, obejmujący 21 gatunków bakterii, 1 gatunek grzyba, 7 wirusów i 28 gatunków prątków niegruźliczych (NTM), będących powszechnie występującymi patogenami dróg oddechowych lub należących do grupy organizmów potencjalnie spotykanych we florze dróg oddechowych, gardła i jamy ustnej. Trzy powtórzenia każdego ze szczepów bakterii i drożdży badano w stężeniach $\geq 1 \times 10^6$ CFU/ml. Wszystkie wirusy badano w dawkach $\geq 1 \times 10^5$ TCID₅₀/ml (dawek zakaźnych dla 50% hodowli komórkowych/ml). Dla 2 szczepów bakteryjnych i 1 szczepu grzybów badano DNA lub RNA w stężeniach $\geq 10^6$ kopii/ml, gdyż całe

organizmy były niedostępne lub nie można było ich zastosować ze względów bezpieczeństwa biologicznego. Trzy powtórzenia każdego wirusa badano w stężeniach $\geq 1 \times 10^5$ TCID₅₀/ml. Swoistość analityczna wyniosła 100%. Badane drobnoustroje zestawiono w Tabela 1, Tabela 2 i Tabela 3. Żaden z badanych organizmów nie wykazywał reaktywności krzyżowej z sondą wykrywającą prątki gruźlicy, dając wynik „**NIE WYKRYTO PRĄTKÓW GRUŻLICY (MTB NOT DETECTED)**” w wypadku wszystkich badanych organizmów we wszystkich powtórzeniach. W tabelach poniżej zestawiono organizmy badane pod kątem swoistości analitycznej testu. *Aspergillus fumigatus* był badany analitycznie i nie powodował interferencji ani reaktywności krzyżowej. Reaktywność krzyżowa innych gatunków grzybów nie jest oczywista na podstawie analizy *in silico*.

Tabela 14. Swoistość analityczna testu Xpert MTB/XDR (bakterie/grzyby)

Drobnoustrój
<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Chlamydomydia pneumoniae</i> ^a
<i>Citrobacter freundii</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Escherichia coli</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Moraxella catarrhalis</i>
<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Neisseria mucosa</i>
<i>Nocardia asteroides</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>

^a Genomowe DNA

Tabela 15. Swoistość analityczna testu Xpert MTB/XDR (wirusy)

Drobnoustrój
Koronawirus 229E
Metapneumowirus człowieka (hMPV) 16 typu A1
Wirus paragrypy typu 1
Wirus paragrypy typu 2

Drobnoustrój
Wirus paragrypy typu 3
Syncytialny wirus oddechowy
Rhinowirus 1A

Tabela 16. Swoistość analityczna testu Xpert MTB/XDR (NTM)

Drobnoustrój
<i>Mycobacterium asiaticum</i>
<i>Mycobacterium avium</i> NJH
<i>Mycobacterium celatum</i>
<i>Mycobacterium chelonae</i>
<i>Mycobacterium flavescens</i>
<i>Mycobacterium fortuitum</i> subsp. <i>Fortuitum</i>
<i>Mycobacterium gastri</i>
<i>Mycobacterium gordonae</i> (3 szczepy. (zob. Tabela 20).
<i>Mycobacterium genavense</i>
<i>Mycobacterium haemophilum</i>
<i>Mycobacterium malmoense</i>
<i>Mycobacterium marinum</i>
<i>Mycobacterium phlei</i>
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>
<i>Mycobacterium simiae</i>
<i>Mycobacterium szulgai</i>
<i>Mycobacterium terrae</i>
<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>
<i>Mycobacterium triviale</i>
<i>Mycobacterium vaccae</i>
<i>Mycobacterium xenopi</i>
<i>Mycobacterium avium</i>
<i>Mycobacterium intracellulare</i>
<i>Mycobacterium abscessus</i>
<i>Mycobacterium marinum</i>
<i>Mycobacterium kansasii</i>

19.3 Reaktywność analityczna (inkluzywność)

Reaktywność analityczną (inkluzywność) testu Xpert MTB/XDR oceniano, stosując filogenetycznie zróżnicowany panel wrażliwych i opornych na leki szczepów prątków gruźlicy w celu określenia trafności wyników badania wrażliwości na leki uzyskiwanych w teście. Panel składający się z dwudziestu dwóch (22) szczepów prątków z grupy prątków gruźliczych (MTBC) obejmował osiem (8) szczepów wrażliwych na leki, mających geny docelowe typu dzikiego (Tabela 17) oraz czternaście (14) dobrze scharakteryzowanych szczepów opornych na leki (Tabela 18). Wszystkie szczepy badano w trzech

powtórzeniach w stężeniach równych lub bliskich $3 \times$ granicy wykrywalności dla sekwencji docelowej promotora *inhA*. Liczba kopii badana w wypadku lizatów genomowego DNA została określona w oparciu o metodę pomiaru wiązania barwnika fluorescencyjnego swoistego dla dwuniciowego DNA (dsDNA).

Badane szczepy wrażliwe na leki obejmowały pięć szczepów prątków gruźlicy (AR2, GD139, AH1, HR36, H37Rv) i trzy gatunki prątków z grupy prątków gruźliczych (*M. bovis*, *M. canetti* i *M. microti*). Szczepy prątków gruźlicy dobrano tak, aby szeroko reprezentowały zakres zmienności genetycznej i obejmowały przedstawicieli każdej z głównych linii filogenetycznych określonych na podstawie grup klastrów SNP (SCGs)²⁰.

14 opornych na leki szczepów prątków gruźlicy badano na podstawie lizatów genomowego DNA uzyskanych z dobrze scharakteryzowanych preparatów zawierających 16 klinicznie istotnych kanonicznych mutacji, z których co najmniej jedna znajdowała się w każdym z ośmiu rejonów docelowych objętych testem. Mutacje te powszechnie występują w cechujących się opornością wielolekową lub rozszerzoną opornością na leki szczepach prątków gruźlicy na całym świecie, z wyjątkiem mutacji genu *gyrB*.

Tabela 17 podsumowuje wyniki uzyskane na szczepach podatnych na leki, prezentując liczbę poprawnych wyników dla poszczególnych analitów badanych testem. Dla wszystkich elementów panelu uzyskano wynik **WYKRYTO PRAŃKI MTB; NIE WYKRYTO OPORNOŚCI (MTB DETECTED; RESISTANCE NOT DETECTED)**. Test Xpert MTB/XDR poprawnie wskazał wszystkie powtórzenia szczepów badane w stężeniu bliskim granicy wykrywalności, dając wyniki dla szczepów typu dzikiego w wypadku wszystkich sond poza *oxyR-ahpC*. Ponieważ sekwencja docelowa *oxyR-ahpC* cechuje się wyższą granicą wykrywalności niż inne sekwencje docelowe objęte testem, w niektórych powtórzeniach nie udało się uzyskać wyników Tm.

Wyniki w Tabeli 18 wskazują, że test prawidłowo wskazał oczekiwane mutacje związane z opornością we wszystkich 14 szczepach opornych na izoniazyd, wykazujących mutację promotora *inhA*, *katG* i rejonu międzygenowego *oxyR-ahpC*; oporność na SLID związaną z muracjami *rrs* i rejonu promotora *eis* oraz oporność na FLQ związaną mutacjami w *gyrA*.

Tabela 17. Reaktywność analityczna (inkluzywność) dla szczepów wrażliwych na leki

Próbka	Linia filogenetyczna szczepu	<i>inhA</i>	<i>katG</i>	<i>fabG1</i>	<i>oxyR-ahpC</i> ^a	<i>gyrA1</i>	<i>gyrA2</i>	<i>gyrA3</i>	<i>gyrB2</i>	<i>rrs</i>	<i>eis</i>
(<i>M. bovis</i> BCG)	Nie przypisano	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	NIEPOWODZENIE (FAIL)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>M. bovis</i>	Nie przypisano	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	NIEPOWODZENIE (FAIL)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>MTB</i> (AR2)	2	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>MTB</i> (GD139)	3	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>MTB</i> (AH1)	4	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>MTB</i> (HR36)	5	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>MTB</i> (HR37Rv)	4	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	NIEPOWODZENIE (FAIL)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>M. canetti</i>	Nie przypisano	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	NIEPOWODZENIE (FAIL)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>M. microti</i>	Nie przypisano	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)

^a Granica wykrywalności *oxyR-ahpC* jest wyższa od granicy wykrywalności sekwencji *inhA* stosowanej do określenia obecności prątków gruźlicy. „POWODZENIE (PASS)” oznacza, że dla wszystkich badanych powtórzeń uzyskano wartość Tm oczekiwaną dla typu dzikiego; „NIEPOWODZENIE (FAIL)” oznacza, że w jednym lub większej liczbie powtórzeń nie udało się uzyskać wartości Tm.

Tabela 18. Reaktywność analityczna (inkluzywność) dla szczepów opornych na leki (liczba wyników pozytywnych wśród wszystkich badanych)

Identyfikator szczepu	Gen	Oczekiwana mutacja	Wykryto prątki gruźlicy	Wykryto Tm dla sondy wykrywającej mutację (liczba dodatnich/badanych)	Prawidłowe wyniki WYKRYTO OPORNOŚĆ (RESISTANCE DETECTED) (liczba wyników dodatnich/liczba testów)
Kliniczne	gyrA	GAC 94 TAC	3 / 3	gyrA1-MutB (3/3); gyrA3-MutC (3/3)	FLQ [3/3]
	katG	AGC 315 ACC		katG Mut (3/3)	INH [3/3]
	fabG1	G609A		fabG1 Mut (3/3)	INH [3/3]
Kliniczne	gyrA	GGC 88 GCC, GCG 90 GTG, TCG 91 CCG	3 / 3	gyrA1-MutB (2/3), ^a gyrA1-MutC (2/3), gyrA2-MutA (3/3), gyrA3-MutB (1/3)	FLQ [3/3]
	katG	AGC 315 ACC		katG Mut (3/3)	INH [3/3]
	rrs	A1401G		rrs-Mut (3/3)	AMK, CAP, KAN [3/3]
Kliniczne	gyrA	GAC 94 GGC	3 / 3	gyrA3-MutB (3/3)	FLQ [3/3]
	katG	AGC 315 ACC		katG Mut (3/3)	INH [3/3]
	rrs	A1401G		rrs-Mut (3/3)	AMK, CAP, KAN [3/3]
14-14194	gyrA	GAC 94 GCC	3 / 3	gyrA1-MutA, gyrA2-MutA	FLQ [3/3]
	katG	AGC 315 ACC		katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	inhA	C -15 T		inhA-Mut (3/3)	INH, ETH [3/3]
15-14175	katG	AGC 315 ACC	3 / 3	katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	eis	-10G/A		eis-Mut (3/3)	KAN [3/3]
15-14191	katG	AGC 315 ACC	3 / 3	katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	eis	-10G/A		eis-Mut (3/3)	KAN [3/3]
16-05612	katG	AGC 315 ACC	3 / 3	katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	inhA	C -15 T		inhA-Mut (3/3)	INH, ETH [3/3]
	eis	-12C/T		eis-Mut (3/3)	KAN [3/3]
16-05613	katG	AGC 315 ACC	3 / 3	katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	inhA	C -15 T		inhA-Mut (3/3)	INH, ETH [3/3]
	eis	-12C/T		eis-Mut (3/3)	KAN [3/3]
14-13764	katG	AGC 315 ACC	3 / 3	katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	ahpC	-48G/A		ahpc-Mut (3/3)	INH [3/3]
14-13806	katG	AGC 315 ACC	3 / 3	katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	ahpC	-48G/A		ahpc-Mut (3/3)	INH [3/3]
Kliniczne	gyrA	GCG 90 GTG, GAC 94 GGC	3 / 3	gyrA3-MutB (3/3)	FLQ [3/3]

Identyfikator szczepu	Gen	Oczekiwana mutacja	Wykryto prątki gruźlicy	Wykryto Tm dla sondy wykrywającej mutację (liczba dodatnich/badanych)	Prawidłowe wyniki WYKRYTO OPORNOŚĆ (RESISTANCE DETECTED) (liczba wyników dodatnich/ liczba testów)
	inhA	C -15 T		inhA-Mut (3/3)	INH [3/3]
	ahpC	G-6A		ahpC (2/3) ^b	INH [3/3]
Kliniczne	katG	AGC 315 ACC	3 / 3	katG Mut (3/3)	INH [3/3]
Kliniczne	gyrB2	ACC 539 AAC	3 / 3	gyrB2 WT ^c	*Nie wykryto oporności [0/3]
	rrs	A1401G		rrs-Mut (3/3)	AMK, CAP, KAN [3/3]
	gyrA	GCG 90 GTG		gyrA1 MuB (3/3), gyrA2 MutA (3/3), gyrA3 MutB (3/3)	FLQ [3/3]
	ahpC	g -6 a		ahpC Mut (3/3)	INH [3/3]
	inhA	C -15 T		inhA Mut (3/3)	INH, ETH [3/3]
Kliniczne	gyrA	TCG 91 CCG	3 / 3	gyrA1-MutB (3/3), gyrA2-MutA (3/3), gyrA3-MutC (3/3)	FLQ [3/3]
	inhA	C -15 T		inhA Mut (3/3)	INH, ETH [3/3]

- a W tej próbce, zawierającej trzy różne mutacje genu *gyrA*, nie udało się uzyskać wartości Tm dla mutantów dla wszystkich trzech sond *gyrA* za każdym razem. Niemniej jednak, aby doprowadzić do wyświetlenia komunikatu o prawidłowym typie oporności, przynajmniej dla jednej sondy należy uzyskać wartość Tm dla mutantów. Wyświetlany był prawidłowy komunikat, gdyż zawsze przynajmniej dla jednej sondy *gyrA* udało się uzyskać wartość Tm dla mutantów w trakcie badania.
- b Ta próbka to podwójny mutant katG/ahpC. Dla powtórzenia, dla którego brakowało Tm dla mutantów ahpC, wyświetlony został komunikat o oporności na INH-R z uwagi na obecność mutacji katG, która została wykryta w badaniu.
- c Ta swoista mutacja nie jest wykrywana w teście. Niemniej istnieją ograniczone dowody kliniczne, że ta mutacja może faktycznie przyczynić się do rozwoju mutacji FLQ (mutacja o niskim poziomie pewności wywołująca oporność na FLQ).

19.4 Badanie substancji interferujących

Skuteczność testu Xpert MTB/XDR oceniono w obecności 35 potencjalnie interferujących substancji, których obecności można spodziewać się w płwocinie. Do klas potencjalnie interferujących substancji należą związki endogenne, które mogą znajdować się w płwocinie oraz związki egzogenne, które mogą zostać wprowadzone do próbki. Badano izotoniczne lub hipertoniczne roztwory soli, leki rozszerzające oskrzela, w tym podawane wziewnie, powszechnie stosowane w procedurach pobierania indukowanej, płwociny nie interferowały z testem. Indukcja roztworem soli może prowadzić do uzyskania niewystarczającej liczby organizmów w próbce i w ten sposób wpłynąć na wykrywanie *M. tuberculosis*.

Listę badanych substancji zawiera Tabela 19, gdzie przedstawiono składniki aktywne i badane stężenia. Dla każdej substancji badano próbki ujemne (n = 8) w celu określenia wpływu na skuteczność kontroli przetwarzania próbki (SPC). Dla każdej substancji badano próbki pozytywne (n = 8) z dodatkiem *Mycobacterium bovis*, *Bacille Calmette-Guerin (BCG)* w ilości 3-krotnie wyższej niż analityczna granica wykrywalności dla prątków gruźlicy. Wszystkie substancje badano w matrycy, którą stanowiły połączone pule płwociny człowieka ujemne pod kątem obecności prątków gruźlicy stosowane w tym badaniu. Wszystkie powtórzenia dodatnich i ujemnych próbek zostały zidentyfikowane prawidłowo za pomocą testu Xpert MTB/XDR, z wyjątkiem próbek, gdzie stosowano żel Zicam (50% w/o; w wypadku 11,1% badanych powtórzeń uzyskano wynik „NIE WYKRYTO PRĄTKÓW GRUŹLICY (MTB NOT DETECTED)”).

Tabela 19. Substancje potencjalnie interferujące w teście Xpert MTB/XDR

Substancja/klasa	Opis / składnik aktywny	Badane stężenie
Krew (człowieka)	5% krew (o/o)	5% (o/o)
DNA/komórki człowieka	Linia komórkowa HeLa 229	10 ⁸ komórek/ml
Krwinki białe (człowieka)	Matryca krwinki białe/ropa (kożuszek leukocytarno-płytkowy 30%; osocze 30%; PBS 40%) [^]	100% (obj./obj.)
Środek przeciwgrzybiczy; antybiotyk	Nystatyna 500 KU (100%)	20% (obj./obj.)
Płyn bakteriobójczy do płukania jamy ustnej	Glukonian chloroheksydyny (0,12%), do płukania jamy ustnej, USP	20% (obj./obj.)
Odczynniki do przetwarzania próbek	Chlorek cetylopirydyniowy, 1% w 2% NaCl	0,5% (o/o) w 1% NaCl
Odczynniki do przetwarzania próbek	Chlorek cetylopirydyniowy, 1% w 2% NALC	0,5% (o/o) w 1% NALC
Odczynniki do przetwarzania próbek	Chlorek cetylopirydyniowy, 1% w 2% NALC z dodatkiem 25 mM roztworu cytrynianu	0,5% (o/o) w 1% NALC z dodatkiem 12,5 mM roztworu cytrynianu
Sok żołądkowy	Roztwór wodny o pH 3–4, neutralizowany wodorowęglanem sodu	100% (obj./obj.)
Środki znieczulające (intubacja dotchawicza)	Chlorowodorek lidokainy 4%	4% (o/o)
Roztwory do nebulizacji	NaCl 5% (w/o)	5% (wag./obj.)
Mucyna	Mucyna 5% (w/o)	5% (wag./obj.)
Lek przeciwbakteryjny, układowy	Lewofloksacyna 25 mg/ml	5 mg/ml
Kortykosteroidy donosowe	Flutikazon 500 µg/sprej	5 µg/ml;
Leki rozszerzające oskrzela stosowane wziewnie	Siarczan albuterolu (2 mg/5 ml)	100 µg/ml
Doustne środki znieczulające	Orajel (benzokaina 20%)	5% (wag./obj.)
Leki przeciwwirusowe	Acyklowir	50 µg/ml
Antybiotyk, maść do nosa	Neosporin (400 j.m. bacytracyny, 3,5 mg neomycyny, 5000 j.m. polimyksyny B)	5% (wag./obj.)
Tytoń	Nicogel 40% ekstrakt tytoniu	0,5%
Leki przeciwgruźlicze	Streptomycyna 1 mg/ml	25 µg/mL
Leki przeciwgruźlicze	Etambutol 1 mg/ml	50 µg/ml
Leki przeciwgruźlicze	Izoniazyd 50 mg/5 ml	50 µg/ml
Doustne leki wykrztuśne	Gwajafenezyna (400 mg/tabletka)	5 mg/ml
Leki przeciwgruźlicze	Pirazynamid (500 mg/tabletka)	100 µg/ml
Żel do nosa (homeopatyczny)	Żel Zicam	50% (wag./obj)
		20% (wag./obj)

Substancja/klasa	Opis / składnik aktywny	Badane stężenie
Sprej do nosa	Fenylefryna 1%	0,5% (obj./obj.)
Leki przeciwgruźlicze	Rifampicyna (300 mg/tabletka)	25 µg/ml
Lek przeciwalergiczny (homeopatyczny)	100% czysty olejek drzewa herbacianego (<5% Cineole, >35% Terpinen-4-ol)	0,5% (obj./obj.)
Roztwory do nebulizacji	Izotonian pentamidyny	300 ng/ml
Leki przeciwgruźlicze	Amoksycylina	25 µg/ml
Lek rozszerzający oskrzela	Epinefryna	1 mg/ml
Leki przeciwgruźlicze	Amikacyna	70 ug/ml
Leki przeciwgruźlicze	Kapreomycyna	50 ug/ml
Leki przeciwgruźlicze	Kanamycyna	50 ug/ml
Leki przeciwgruźlicze	Etionamid	50 ug/ml
FluMist Qual Nasal	Żywa donosowa szczepionka przeciwko grypie	5%

19.5 Badanie przenoszenia zanieczyszczeń

Przeprowadzono badanie, w celu wykazania, że praca z jednorazowymi, samowystarczalnymi kartridżami Xpert MTB/XDR, nie niesie się ze sobą ryzyka zanieczyszczenia krzyżowego. Badanie polegało na przetworzeniu próbki ujemnej w tym samym module Gene Xpert natychmiast po przetworzeniu próbki płucociny człowieka o dużej zawartości *Mycobacterium bovis Bacille Calmette-Guerin* (BCG) w ilości $1 \times 10^{+6}$ CFU/ml. Ten schemat badania powtórzono 20 razy w dwóch modułach aparatu GeneXpert, wykonując łącznie 41 badań, w wyniku których, w przeliczeniu na moduł, 20 próbek miało wynik dodatni, a 21 próbek wynik ujemny.

Wszystkie 20 próbki dodatnie zostały prawidłowo zgłoszone z wynikiem **WYKRYTO PRĄTKI GRUŹLICY; NIE WYKRYTO oporności na INH; NIE WYKRYTO oporności na FLQ; NIE WYKRYTO oporności na AMK; NIE WYKRYTO oporności na KAN; NIE WYKRYTO oporności na CAP; NIE WYKRYTO oporności na ETH (MTB DETECTED; INH Resistance NOT DETECTED; FLQ Resistance NOT DETECTED; AMK Resistance NOT DETECTED; KAN Resistance NOT DETECTED; CAP Resistance NOT DETECTED; ETH Resistance NOT DETECTED)**. Wszystkie 21 próbki ujemne zostały poprawnie zgłoszone z wynikiem **NIE WYKRYTO PRĄTKÓW GRUŹLICY (MTB NOT DETECTED)**. W warunkach badania nie stwierdzono jakiegokolwiek przeniesienia zanieczyszczenia mimo testowania wysoce dodatniej próbki BCG zawierającej $1,0 \times 10^{+6}$ CFU/ml.

19.6 Badanie interferencji sekwencji współzawodniczących

Interferencję sekwencji współzawodniczących w ramach testu wywołowaną przez wpływ obecności wysokiej zawartości prątków niegruźliczych (NTM) na wykrywanie niskiej zawartości prątków gruźlicy w teście Xpert MTB/XDR badano, wykorzystując reprezentatywnego przedstawiciela grupy prątków gruźliczych, BCG, w ilości wynoszącej ~ 3-krotność granicy wykrywalności (411 CFU/ml) w obecności różnych szczepów NTM w ilości $1 \times 10E+06$ CFU/ml w matrycy, którą stanowił bufor kontroli ujemnej. Wykrycie odpowiedniej wysokości szczytu krzywej topnienia oraz temperatury topnienia dla promotora *inhA* stanowiło dodatni wynik testu w kierunku prątków gruźlicy. Wykrywanie oporności opiera się na stwierdzeniu wysokości szczytów krzywych topnienia i temperatur topnienia odpowiednich dla mutacji poszczególnych analitów (*inhA*, *katG*, *gyrA1*, *gyrA2*, *gyrA3*, *gyrB2* i *eis*). *oxyR-ahpC* i *fabG1* zostały wyłączone z analizy, z uwagi na niższą czułość, zaś *rrs* wyłączone z uwagi na znaną interferencję mikroflory. Wszystkie próbki zawierające BCG powinny zostać zgłoszone z wynikiem **WYKRYTO PRĄTKI GRUŹLICY; NIE WYKRYTO oporności na INH; NIE WYKRYTO oporności na FLQ; NIE WYKRYTO oporności na AMK; NIE WYKRYTO oporności na KAN; NIE WYKRYTO oporności na CAP; NIE WYKRYTO oporności na ETH (MTB DETECTED; INH Resistance NOT DETECTED; FLQ Resistance NOT DETECTED; AMK Resistance NOT DETECTED; KAN Resistance NOT DETECTED; CAP Resistance NOT DETECTED; ETH Resistance NOT DETECTED)**.

Badano próbki każdej z mieszanin kompetycyjnych NTM/BCG w czterech powtórzeniach wraz z kontrolą dodatnią zawierającą tylko BCG ~ 3-krotność granicy wykrywalności. Żaden z badanych szczepów NTM nie zakłócał wykrycia 411 CFU/ml BCG i prowadził do uzyskania prawidłowego wyniku wspomnianego powyżej. Jednakże, w warunkach tego badania obserwowano efekty hamujące tylko jednego z dwóch badanych szczepów *M. marinum* (ATCC 0927). Interferencję z sondami dla gyrA2 obserwowano tylko przy bardzo wysokich wartościach rzędu $>10^4$ CFU/ml, co powodowało zgłoszenie wyniku NIEOKREŚLONA oporność na FLQ (FLQ resistance INDETERMINATE) dla tych wartości. W celu uzyskania dalszych informacji, por. Sekcja 17. Ograniczenia

Tabela 20. Interferencja sekwencji współzawodniczących NTM z detekcją prątków gruźlicy i określeniem wrażliwości na leki

Warunki testu/ Identyfikator szczepu NTM	NTM CFU/ml	Wykryto prątki gruźlicy	INH	Niska oporność na FLQ	AMK	KAN	CAP	ETH
<i>MTB + M. avium</i> / (NJH)	10E+06	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>MTB + M. gastrii</i> / (ATCC 15754)	10E+06	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>MTB + M. goodii</i> / (NJH)	10E+06	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>MTB + M. goodii</i> / (ATCC 14470)	10E+06	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>MTB + M. goodii</i> / (ATCC 35760)	10E+06	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>MTB + M. marinum</i> / (NJH)	10E+06	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>MTB + M. marinum</i> / (ATCC 0927)	10E+06	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	NIEPOWODZENIE (FAIL)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
	10E+05	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	NIEPOWODZENIE (FAIL)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
	10E+04	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
	10E+03	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>MTB + M. xenopi</i> / (ATCC 700084)	10E+06	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>MTB + M. avian</i> / (ATCC 15769)	10E+06	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>MTB + M. intracellulare</i> / (ATCC 35771)	10E+06	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>MTB + M. abscessus</i> / (ATCC 19977)	10E+06	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
<i>MTB + M. kansasii</i> / (ATCC 12478)	10E+06	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)	POWODZENIE (PASS)
„POWODZENIE (PASS)” wskazuje, że dla wszystkich badanych powtórzeń uzyskano wynik „NIE WYKRYTO OPORNOŚCI (RESISTANCE NOT DETECTED)” dla danego leku.								
„NIEPOWODZENIE (FAIL)” wskazuje, że przynajmniej dla jednego lub większej liczby badanych powtórzeń uzyskano wynik „OPORNOŚĆ NIEOKREŚLONA (RESISTANCE INDETERMINATE)” dla danego leku.								

19.7 Równoważność płwociny świeżej i mrożonej

Równoważność płwociny świeżej i mrożonej oceniano za pomocą testu Xpert MTB/XDR, badając komórki *M. bovis* – Bacillus Calmette-Guerin (BCG) w matrycy utworzonej przez połączenie puli ujemnej pod względem prątków gruźlicy płwociny na dwóch poziomach, odpowiadających 3-krotności granicy wykrywalności (400 CFU/ml) i 1000-krotności granicy wykrywalności ($1,3 \times 10^5$ CFU/ml). Powtarzające się próbki dla danego poziomu zamrożono i przechowywano w temperaturze -80°C , zaś co najmniej 8 powtórzeń rozmrożono i zbadano po upływie 1 tygodnia, 2 tygodni, 1 miesiąca, 3 miesięcy, 6 miesięcy i 9 miesięcy. Wyniki porównywano z wynikami dla nieprzetworzonej płwociny z dodatkiem tej samej ilości prątków badanymi w czasie zero przed zamrożeniem.

Nie stwierdzono wpływu na skuteczność testu, zaś poprawne wyniki uzyskano dla wszystkich badanych powtórzeń dla 3-krotności granicy wykrywalności po przechowywaniu w temperaturze -80°C przez 2 tygodnie, 3 miesiące i 6 miesięcy. W wypadku pojedynczego powtórzenia dla czasu 1 tydzień uzyskano wynik „**Oporność na INH nieokreślona (NH-Resistance Indeterminate)**” z uwagi na zanik sygnału dla sondy *katG*, a w wypadku pojedynczego powtórzenia dla czasu 1 miesiąc wystąpił zanik sygnału sondy *ahpC*, ale dla punktów czasowych 3 i 6 miesięcy uzyskano poprawne wyniki. W wypadku punktu czasowego 9 miesięcy, dla 3-krotności granicy wykrywalności uzyskano poprawne wyniki w wypadku 8 z 9 powtórzeń (89%). Nie obserwowano wpływu przechowywania plwociny w temperaturze -80°C na wydajność testu dla żadnego z punktów czasowych do 9 miesięcy w wypadku próbek z dodatkiem prątków w ilości 1000-krotnie przekraczającej granicę wykrywalności. Wyniki tego badania przemawiają za możliwością przechowywania zamrożonej plwociny w temperaturze -80°C przez czas do 6 miesięcy.

19.8 Dezaktywacja prątków w próbkach plwociny

Właściwości dezynfekujące odczynnika do próbek wykorzystywanego w teście Xpert MTB określono za pomocą standaryzowanej ilościowej zawiesinowej metody określania działania prątkobójczego.²¹ Do próbek plwociny dodano wysokie stężenie żywych bakterii *M. bovis*, wymieszanych z odczynnikiem do próbek w stosunku 2:1, a następnie inkubowano przez 15 minut. Po inkubacji, mieszanina odczynnika do próbek i plwociny została zneutralizowana poprzez rozcieńczenie i filtrację, a następnie poddana hodowli. Żywotność bakterii *M. bovis* w próbkach przetworzonej plwociny uległa redukcji o co najmniej 6 rzędów wielkości w porównaniu z nieprzetworzoną kontrolą.

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

20 Precyzja i odtwarzalność

Precyzję i odtwarzalność testu Xpert MTB/XDR określono w ramach wieloosrodkowego (trzy ośrodki) badania prowadzonego metodą ślepej próby za pomocą wieloczynnikowego modelu zagnieżdżonego. Badanie obejmowało pięcioelementowy panel próbek, zaś każdy z elementów panelu was przygotowany poprzez dodatnie prątków gruźlicy szczepu dzikiego (wild type, WT) i szczepu zmutowanego (MUT) do matrycy sztucznej plwociny. Szczepy WT i MUT zostały przygotowane za pomocą plazmidów zawierających albo sekwencję typu dzikiego albo zmutowaną, odpowiadającą za XDR, wykrywaną w teście, enkapsulowanych w martwych, chemicznie utrwalonych komórkach *E. coli*.

Elementy panelu zostały przygotowane dla ~1-krotności granicy wykrywalności i ~3-krotności granicy wykrywalności za pomocą temperatur topnienia (T_m) sekwencji docelowej rejonu promotorowego *inhA* w teście Xpert MTB/XDR, w sposób, który generował wynik **WYKRYTO PRĄTKI GRUŻLICY/NIE WYKRYTO PRĄTKÓW GRUŻLICY (MTB DETECTED/NOT DETECTED)** zależnie od wskazania lub braku T_m swoistej dla dzikiego lub zmutowanego promotora *inhA*. Badania prowadzono przez sześć dni, wykorzystując kartridże Xpert MTB/XDR z trzech serii. W każdym ośrodku pracowało dwóch operatorów (OP1 i OP2), z których każdy wykonywał dwa oznaczenia w dwóch powtórzeniach na oznaczenie dziennie. Powtórzenie stanowiło pojedyncze badanie za pomocą kartridża. Procentową zgodność dla każdego elementu panelu przedstawiono w Tabeli 21.

Tabela 21. Procentowa zgodność testu Xpert MTB/XDR w kierunku prątków gruźlicy i wykrywania *inhA*

Próbka	Ośrodek 1			Ośrodek 2			Ośrodek 3			% całkowitej zgodności wg próbki
	OP 1	OP 2	Suma częściowa	OP 1	OP 2	Suma częściowa	OP 1	OP 2	Suma częściowa	

Próbka	Ośrodek 1			Ośrodek 2			Ośrodek 3			% całkowitej zgodności wg próbki
	OP 1	OP 2	Suma częściowa	OP 1	OP 2	Suma częściowa	OP 1	OP 2	Suma częściowa	
Prątki MTB MUT 1×granica wykrywalność	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	97,9% (47/48)	91,7% (22/24)	91,7% (22/24)	91,7% (44/48)	96,5% (139/144)
Prątki MTB MUT 3×granica wykrywalność	95,8% (23/24)	100% (24/24)	97,92% (47/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	99,3% (143/144)
Prątki MTB WT 1×granica wykrywalność	100% (24/24)	91,67% (22/24)	95,8% (46/48)	91,7% (22/24)	91,7% (22/24)	91,7% (44/48)	91,7% (22/24)	100% (24/24)	95,8% (46/48)	94,4% (136/144)
Prątki MTB WT 3×granica wykrywalność	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
UJEMNY (NEG)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	97,9% (47/48)	99,3% (143/144)

Skuteczność testu Xpert MTB/XDR dla prątków gruźlicy szczepów WT i MUT dla elementów panelu o niskiej (~1×) i umiarkowanej (~3×) krotności granic wykrywalności dla każdego z genów docelowych w sytuacjach, gdy wykryto prątki gruźlicy przedstawiono w Tabela 22.

Tabela 22. Procentowa zgodność testu Xpert MTB/XDR dla próbek prątków typu MUT i WT

Lek	Zgodność procentowa			
	Prątki MTB MUT 1× granica wykrywalności (95% CI) [n zgodnych/ łączne n]	Prątki MTB MUT 3× granica wykrywalności (95% CI) [n zgodnych/ łączne n]	Prątki MTB WT 1× granica wykrywalności (95% CI) [n zgodnych/ łączne n]	Prątki MTB WT 3× granica wykrywalności (95% CI) [n zgodnych/ łączne n]
INH	100,00% (97,3–100) [139/139]	100,00% (97,4–100,0) [143/143]	89,1% (82,6–93,4) [115/129]	99,3% (96,2–99,9) [143/144]
Niska oporność na FLQ	87,80% (81,3–92,2) [122/139]	100,00% (97,4–100,0) [143/143]	81,4% (73,8–87,2) [105/129]	95,8% (91,2–98,1) [138/144]
ETH	100,00% (97,3–100) [139/139]	100,00% (97,4–100,0) [143/143]	99,2% (95,7–99,9) [128/129]	100,0% (97,4–100,0) [144/144]

Lek	Zgodność procentowa			
	Prążki MTB MUT 1× granica wykrywalności (95% CI) [n zgodnych/ łączne n]	Prążki MTB MUT 3× granica wykrywalności (95% CI) [n zgodnych/ łączne n]	Prążki MTB WT 1× granica wykrywalności (95% CI) [n zgodnych/ łączne n]	Prążki MTB WT 3× granica wykrywalności (95% CI) [n zgodnych/ łączne n]
AMK	100,00% (97,3–100) [139/139]	100,00% (97,4–100,0) [143/143]	91,5% (85,4–95,2) [118/129]	98,6% (95,1–99,6) [142/144]
CAP	99,30% (96,3–99,0) [138/139]	100,00% (97,4–100,0) [143/143]	98,4% (94,5–99,6) [127/129]	99,3% (96,2–99,9) [143/144]
KAN	100,00% (97,3–100) [139/139]	100,00% (97,4–100,0) [143/143]	91,5% (85,4–95,2) [118/129]	98,6% (95,1–99,6) [142/144]

21 Piśmiennictwo

1. WHO. Global Tuberculosis Report 2019. www.who.int/tb/publications/global_report
2. WHO. 2018, Rapid Communication: Key changes to treatment of multidrug- and rifampicin-resistant tuberculosis.
3. WHO, 2019, Rapid Communication: Key changes to the treatment of drug-resistant tuberculosis
4. Sulis G, Pai M 2020) Isoniazid-resistant tuberculosis: A problem we can no longer ignore. *PLoS Med* 17(1): e1003023
5. Soumitesh Chakravorty, Sandy S. Roh, et al. Department of Medicine, New Jersey Medical School, Newark, New Jersey, USA Detection of Isoniazid-, Fluoroquinolone-, Amikacin-, and Kanamycin-Resistant Tuberculosis in an Automated, Multiplexed 10-Color Assay Suitable for Point-of-Care Use *J Clin Microbiol* Jan 2017 Volume 55 Issue 1.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Chosewood, LC and Wilson, DE (eds) (2009). HHS Publication number (CDC) 21-1112.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Dokument M29 (patrz najnowsze wydanie).
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Laboratory Detection and Identification of Mycobacteria; Document M48A (patrz najnowsze wydanie).
9. ROZPORZĄDZENIE PARLAMENTU EUROPEJSKIEGO I RADY (WE) NR 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające listę zwrotów wskazujących środki ostrożności, dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE (zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006).
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. 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. Camus JC, et al. 2002. Re-annotation of the genome sequence of Mycobacterium tuberculosis H37Rv. *Microbiology* 148:2967–73.)
13. Zhang et al. 1996. Molecular basis for the exquisite sensitivity of Mycobacterium tuberculosis to isoniazid. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(23):13212–13216
14. Maruri et al. 2012. A systematic review of gyrase mutations associated with fluoroquinolone-resistant Mycobacterium tuberculosis and a proposed gyrase numbering system. *J Antimicrob Chemother*.
15. Vadwai V, Ajbani K, Jose M, Vineeth VP, Nikam C, Deshmukh M, Shetty A, Soman R, Rodrigues C. Can inhA mutation predict ethionamide resistance? *Int J Tuberc Lung Dis*. 2013 Jan;17(1):129-30. doi: 10.5588/ijtld.12.0511. Epub 2012 Nov 8. PubMed PMID: 23146620

16. Dunn JJ, Starke JR, Revell PA. 2016. Laboratory diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection and disease in children. *J Clin Microbiol* 54:1434–1441. doi:10.1128/JCM.03043
17. Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children, *Am J Respir Crit Care Med* Vol 161. pp 1376–1395, 2000.
18. Seifert M, Catanzaro D, Catanzaro A, Rodwell TC (2015) Genetic Mutations Associated with Isoniazid Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: A Systematic Review. *PLoS ONE* 10(3): e0119628. doi:10.1371/journal.pone.0119628
19. Farhat MR, Jacobson KR, Franke MF, Kaur D, Sloutsky A, Mitnick CD, Murray M. 2016. Gyrase mutations are associated with variable levels of fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 54:727–733. doi:10.1128/JCM.02775-15.
20. Gagneux S, Small PM. Global phylogeography of *Mycobacterium tuberculosis* and implications for tuberculosis product development. *Lancet Infect Dis.* 2007 May;7(5):328-37.
21. 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.

22 Lokalizacja siedziby głównej firmy Cepheid

Siedziba główna firmy

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Siedziba główna w Europie

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

23 Wsparcie techniczne

Przed skontaktowaniem się z firmą Cepheid

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

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

USA




















Telefon: + 1 888 838 3222
E-mail: techsupport@cepheid.com

Francja

Telefon: + 33 563 825 319
E-mail: support@cepheideurope.com

Dane kontaktowe wszystkich oddziałów Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid są dostępne na naszej stronie internetowej:
www.cepheid.com/en/support/contact-us

24 Tabela symboli

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Wyrób medyczny przeznaczony do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Oznaczenie CE — zgodność z normami europejskimi
	Nie używać ponownie
	Kod partii
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Producent
	Zawiera ilość wystarczającą do przeprowadzenia <i>n</i> testów
	Kontrola
	Data ważności
	Ograniczenie temperatury
	Zagrożenia biologiczne
	Przeostroga
	Łatwopalne ciecze
	Działanie żrące na skórę
	Toksyczność dla układu rozrodczego i narządów
	Kraj produkcji
	Upoważniony przedstawiciel w Szwajcarii
	Importer



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



25 Historia zmian

Punkt	Opis zmiany
Tabela symboli	Dodano symbole „CH REP” i „Importer” oraz ich definicje w tabeli symboli. Dodano informacje „CH REP” i „Importer” oraz adres w Szwajcarii.
Historia zmian	Zaktualizowano tabelę historii zmian.