

Xpert[®] MTB/XDR

REF GXMTB/XDR-10

Инструкция по эксплуатации

IVD CE

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

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[®], логотип Cepheid, GeneXpert[®] и Xpert[®] являются товарными знаками компании Cepheid, зарегистрированными в США и других странах.
Все другие товарные знаки являются собственностью их соответствующих владельцев.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩЕЙ ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

© 2020–2023 Cepheid.

Изменения описаны в разделе История изменений Раздел 25.

Хpert® MTB/XDR

Для диагностических тестов *in vitro*

1 Патентованное название

Хpert® MTB/XDR

2 Общепринятое или распространенное наименование

Хpert MTB/XDR

3 Назначение

3.1 Назначение

Тест Хpert MTB/XDR, выполняемый на системе приборов GeneХpert, представляет собой качественный диагностический тест *in vitro*, основанный на гнездной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени и применяемый с целью обнаружения ДНК комплекса *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ) в образцах необработанной мокроты или концентрированных осадках, приготовленных из мокроты, или в культуре BD™ *Mycobacterial Growth Indicator Tube* (MGIT™). В образцах, в которых обнаружена МБТ, тест Хpert MTB/XDR также может обнаружить мутации, связанные с устойчивостью к изониазиду (INH), в генах *katG* и *fabG1*, интергенной области *oxyR-ahpC* и промоторе *inhA*; устойчивостью к этионамиду (ETH), связанную только с мутациями промотора *inhA*; устойчивостью к фторхинолону (FLQ), связанную с мутациями в областях *gyrA* и *gyrB*, определяющих устойчивость к хинолонам (QRDR); и мутации, связанные с устойчивостью к инъекционным препаратам второй линии в гене *rrs* и промоторном участке *eis*.

Тест Хpert MTB/XDR предназначен для применения в качестве уточняющего теста с образцом (необработанной мокротой, концентрированными осадками мокроты или культурой MGIT), в которых обнаружена МБТ. Тест предназначен для оказания помощи в диагностике туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ) в сочетании с клиническими и другими лабораторными данными.

3.2 Целевой пользователь/целевая окружающая среда

Тест Хpert MTB/XDR предназначен для использования в лаборатории обученными специалистами.

4 Краткие сведения и разъяснения

Туберкулез (ТБ) — это заболевание, вызванное *Mycobacterium tuberculosis*, которое остается одним из главных причин смерти от заболеваний в мире. По существующим оценкам, в 2018 году обнаружено 10 миллионов новых случаев ТБ и примерно полмиллиона новых случаев рифампицин-устойчивого ТБ, из которых 78 % имели ТБ с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ)¹. МЛУ-ТБ, определяемый по устойчивости к изониазиду и рифампицину (двум наиболее эффективным препаратам первой линии), по-прежнему является угрозой общественному здоровью, и Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) выпустила новые рекомендации по лечению, подчеркивающие значение быстрых тестов на чувствительность к лекарственным препаратам^{2,3}. Несмотря на это, в 2018 году во всем мире число случаев МЛУ/рифампицин-устойчивого ТБ составило только 39 % оцениваемого количества впервые выявленных случаев, и число получающих лечение пациентов составило 32 %¹. Аналогичным образом, также существует возрастающая озабоченность недиагностированными и нелеченными случаями изониазид-устойчивого рифампицин-чувствительного ТБ. Без легкого доступа к тестам INH-устойчивости

разные страны стремятся выявлять пациентов и применяют рекомендации ВОЗ 2018 года по лечению изониазид-устойчивого рифампацин-чувствительного ТБ (Hr-TB)⁴. Наиболее тяжелые случаи ТБ вызваны штаммами МЛУ-ТБ с приобретенной дополнительной устойчивостью к фторхинолонам и любому одному из инъекционных препаратов второй линии: амикацину (AMK), канамицину (KAN) или капреомицину (CAP). Эти высокоустойчивые штаммы называются штаммами туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ). ШЛУ-ТБ очень трудно лечить, и он может сопровождаться высокой смертностью, обычно при отсутствии диагностики ШЛУ-ТБ и позднем назначении соответствующего лечения⁵.

Исследования лекарственной чувствительности МБТ, связанные с культурами и фенотипом, занимают много времени, трудоемки и представляют серьезные биологический риск для сотрудников лабораторий, в результате чего в странах, эндемичных по МБТ, число аккредитованных лабораторий мало². Даже если исследования чувствительности на основе культур доступны, их выполнение может занять от нескольких недель до месяцев. Возможно также исследование лекарственной чувствительности МБТ с применением быстрых, чувствительных и более безопасных тестов для определения генотипа, в которых устойчивость определяется путем выявления мутаций, несущих устойчивость к препаратам первой и второй линии у большинства клинических штаммов². Подходы к тестам на основе определения генотипа могут быть сведены к нескольким выполняемым вручную этапам и более пригодны к приближенной к пациенту помощи, что может существенно расширить их доступность для групп, недостаточно охваченных медицинской помощью, в условиях низкой и высокой эндемичности⁵.

5 Принципы проведения процедуры

Тест Xpert MTB/XDR является автоматизированным диагностическим тестом *in vitro* для выявления ДНК комплекса ШЛУ-МБТ и связанных с устойчивостью мутаций. Тест проводится на Cepheid, оснащенном 10-цветными модулями GeneXpert.

В объединены и автоматически выполняются следующие процессы: подготовка образцов, амплификация нуклеиновых кислот и выявление целевых последовательностей в образцах с использованием гнездовой ПЦР в реальном времени и обнаружения пиков плавления. состоит из прибора, персонального компьютера, сканера штрихкодов и предустановленного программного обеспечения для управления процессом анализа собранных образцов и просмотра результатов. Эта система требует применения одноразовых картриджей Xpert, которые содержат специфичные для целевой последовательности реагенты полимеразной цепной реакции (ПЦР) и являются местом выполнения процесса ПЦР и обнаружения пика плавления. Поскольку картриджи Xpert представляют собой целостные системы, риск перекрестной контаминации образцов сведен к минимуму. Полное описание системы приводится в .

Картридж теста Xpert MTB/XDR содержит реагенты для определения ШЛУ-МБТ, а также контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC), предназначенный для обеспечения правильной обработки целевых последовательностей бактерий и выявления ингибиторов реакции ПЦР. Контроль зондов (Probe Check Control, PCC) предназначен для проверки регидратации реагентов, заполнения пробирки для ПЦР в картридже, целостности зондов и стабильности красителя.

Картридж теста Xpert MTB/XDR содержит все реагенты, за исключением реагента для образца, для которого требуется, чтобы пользователь добавил его в образец непосредственно перед загрузкой обработанного образца в картридж. Тест предназначен для использования в качестве средства уточнения результата для образцов, в которых была обнаружена МБТ.

Результаты интерпретируются программным обеспечением GeneXpert на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета, а затем отображаются в окне «Просмотреть результаты» (View Results) в табличном и графическом форматах. Он также сообщает, если анализ недействительный, с ошибкой или без результата. Xpert MTB/XDR обнаруживает ШЛУ-МБТ с устойчивостью к изониазиду (INH), этионамиду (ETH), фторхинолону (FLQ) и инъекционным препаратам второй линии (SLID) непосредственно в образцах необработанной мокроты или концентрированного осадка мокроты менее чем за 90 минут.

6 Комплект поставки

Набор Xpert MTB/XDR содержит реагенты в количестве, достаточном для анализа 10 полученных от пациентов образцов или образцов для контроля качества. В набор входят следующие компоненты:

Хpert MTB/XDR Картриджи со встроенными реакционными пробирками	10 в каждом наборе
<ul style="list-style-type: none"> • Гранулы 1, 2, 3, 4 и 5 (лиофилизированные) • Гранула контроля обработки образца (лиофилизированная) • Реагент 1 • Реагент 2 	<p>по 1 каждого типа в одном картридже</p> <p>по 1 каждого типа в одном картридже</p> <p>4,0 мл в одном картридже</p> <p>4,0 мл в одном картридже</p>
Одноразовые пипетки для переноса	1 пакет с 12 шт. на набор
Реагент для образцов	10 шт. x 8 мл в одной бутылке
Компакт-диск	1 в каждом наборе
<ul style="list-style-type: none"> • Файлы описания теста (assay definition files, ADF) • Инструкция по импорту файла ADF в программное обеспечение GeneXpert • Инструкция по применению (вкладыш-инструкция) 	

Прим. Цвет реагента для образцов может варьироваться от бесцветного до желтого или янтарного. Цвет может становиться более интенсивным со временем, но он не влияет на рабочие характеристики.

Прим. Паспорта безопасности (Safety Data Sheets, SDS) можно найти на www.cephheid.com или www.cephheidinternational.com **на вкладке SUPPORT (ПОДДЕРЖКА)**.

Прим. Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма крови животных, выращенных в США. В пищу животных не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время производства не происходило смешивания сырья с другими материалами животного происхождения.

Прим. На пипетки для переноса нанесено одно деление, показывающее минимальный объем обработанного образца, который необходимо перенести в картридж. Пипетки следует применять только с этой целью. Все остальные пипетки должны предоставляться лабораторией.

7 Хранение и обращение

- Храните содержимое набора Xpert MTB/XDR при температуре 2–28 °C до истечения срока годности, указанного на этикетке.
- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение теста.
- Начните тест не позднее чем через 2,5 часа после добавления к образцу реагента для образцов или не позднее чем после 4 часов хранения при температуре 2–8 °C.
- Не используйте реагенты или картриджи с истекшим сроком годности.
- Не используйте картриджи с признаками утечки.

8 Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- GeneXpert Dx System: прибор GeneXpert, оборудованный 10-цветными модулями, компьютером, сканером штрихкодов и руководством оператора

- Для GeneXpert Dx System: Программное обеспечение версии 6.2 или выше
- Принтер: если необходим принтер, обратитесь к торговому представителю компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.
- Стерильный контейнер для образцов с завинчивающейся крышкой
- Одноразовые перчатки
- Этикетки и/или нестираемый маркер
- Стерильные пипетки для обработки образцов

9 Предупреждения и меры предосторожности

9.1 Общие положения

- Для диагностических тестов *in vitro*
- При работе со всеми биологическими образцами, в том числе и с использованными картриджами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами требует соблюдения стандартных мер предосторожности.
- Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются Центрами по контролю и профилактике заболеваний США (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)³ и Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute).^{6,7,8}
- Следуйте принятым в учреждении правилам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.
- При работе с образцами и реагентами необходимо надевать одноразовые защитные перчатки, лабораторную одежду и средства индивидуальной защиты глаз. После работы с образцами и реагентами теста необходимо тщательно вымыть руки.
- Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, при обращении с ними необходимо соблюдать стандартные меры предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реагентов следуйте принятым в вашем учреждении правилам защиты окружающей среды при обращении с отходами. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых национальных или региональных процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе правила не дают ясных указаний по правильному удалению в отходы, биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их удаления⁹.
- Реактив для образцов содержит натрия гидроксид (pH > 12,5) и изопропанол. Опасен при проглатывании (H302), вызывает тяжелые ожоги кожи и повреждение глаз (H314). Огнеопасная жидкость и пары (H226).
- Функциональные характеристики этого теста установлены только для типа образцов, перечисленных в разделе Назначение. Функциональные характеристики этого теста для других образцов или типов образцов не установлены.
- Следуйте принятым в учреждении процедурам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.

9.2 Образец


- Процедуры взятия и обработки образцов требуют специальной подготовки и инструкций.
- Соблюдайте надлежащие условия хранения при транспортировке образцов, чтобы обеспечить их целостность (см. Раздел 12. Процедура). Не изучалась стабильность образца при транспортировке в условиях, отличных от рекомендованных.
- Отбракуйте образцы, содержащие явно видимые частицы пищи или другие твердые частицы.
- Надлежащее взятие, хранение и транспортировка образцов крайне важны для получения правильных результатов.
- Положительный материал из флакона MGIT можно использовать в неразбавленном виде или разбавленным в 100 раз раствором ФСБ или средой Middlebrook 7H9. Тест также можно выполнять с термоинактивированными культурами. Для термоинактивации рекомендуется сначала развести культуру в 100 раз раствором ФСБ или средой Middlebrook 7H9, а затем нагревать при 100 °C в течение 20 минут.

9.3 Тест/реагент

- Не заменяйте реагенты теста Xpert MTB/XDR другими реагентами.
- Открывайте крышку картриджа теста Xpert MTB/XDR только для внесения образца.
- Не используйте картридж, который падал после извлечения из набора или подвергался сотрясениям после открытия крышки картриджа. Встряхивание или падение картриджа после вскрытия его крышки может привести к получению недостоверных или неопределенных результатов.
- Не размещайте этикетку с идентификационным номером образца на крышке картриджа или на этикетке со штрихкодом.
- Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- Каждый одноразовый картридж теста Xpert MTB/XDR используется для выполнения только одного теста. Не используйте уже применявшиеся картриджи повторно.
- Одноразовая пипетка используется для переноса одного образца. Не используйте одноразовые пипетки повторно.
- Не используйте картридж с влажной поверхностью или с предположительно нарушенной герметичностью крышки.
- Во избежание контаминации образцов и реагентов рекомендуется следовать принципам надлежащей лабораторной практики, включая правило смены перчаток перед началом работы с образцом каждого следующего пациента.
- При разливе образцов или контролей наденьте перчатки и впитайте разлитую жидкость бумажными полотенцами. Затем тщательно очистите загрязненную область разбавленным в соотношении 1:10 свежеприготовленным раствором бытового хлорного отбеливателя. Конечная концентрация активного хлора должна составлять 0,5 % независимо от концентрации гипохлорита в бытовом отбеливателе в вашей стране. Продолжительность контакта поверхности с раствором отбеливателя должна составлять не менее двух минут. Высушите рабочую поверхность и затем удалите с нее остатки раствора отбеливателя при помощи 70 % денатурированного этилового спирта. Прежде чем продолжать, дождитесь полного высыхания поверхности. Также можно следовать стандартным процедурам, предусмотренным для случаев контаминации или разлива в вашем учреждении. При загрязнении оборудования следуйте рекомендациям по деконтаминации, предоставленным производителем этого оборудования.
- Тест Xpert MTB/XDR прошел валидацию с использованием программного обеспечения Cepheid версии 6.2 или выше.

10 Опасные химические факторы^{9,10}

Реактив для образцов:

- Содержит изопропиловый спирт
- Содержит гидроксид натрия
- Сигнальное слово: ОПАСНО
- Символы опасности СГС ООН: 
- **Заявления об опасности СГС ООН**
 - Воспламеняющаяся жидкость и пары.
 - Вызывает серьезные ожоги кожи и повреждение глаз.
 - Вызывает серьезное повреждение глаз.
 - Предположительно вызывает генетические дефекты.
 - Предположительно неблагоприятно влияет на способность к деторождению или на развивающийся плод.
 - Может вызвать повреждение органов при длительном или повторном воздействии.
- **Предостерегающие заявления СГС ООН**
- **Профилактика**
 - Перед использованием получить специальные инструкции.
 - Перед использованием ознакомиться с инструкциями по технике безопасности.
 - Беречь от нагревания, искр, открытого огня и/или горячих поверхностей. - Не курить.
 - Хранить в плотно закрытом контейнере.
 - Избегать вдыхания тумана, паров и (или) вещества в распыленном состоянии.

- После использования тщательно вымыть.
- Пользоваться защитными перчатками, защитной одеждой, средствами защиты глаз/лица.
- Использовать соответствующие индивидуальные средства защиты.
- **Реагирование**
 - В случае пожара: Использовать соответствующие средства пожаротушения.
 - ПРИБЫТИИ: Переместить пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении.
 - Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту/терапевту.
 - ПРИБЫТИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой/принять душ.
 - Выстирать загрязненную одежду перед повторным использованием.
 - Требуется специальное лечение; см. дополнительную информацию о первой помощи.
 - ПРИБЫТИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь, и если это легко сделать. Продолжить промывание.
 - ДЕЙСТВИЯ ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: Прополоскать рот. НЕ вызывать рвоту.
 - ПРИБЫТИИ или подозрении на возможность воздействия: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
 - При плохом самочувствии обратиться за помощью/консультацией к врачу.
- **Хранение/удаление в отходы**
 - Удаление в отходы содержимого и (или) тары должно осуществляться в соответствии с местными, региональными, государственными и/или международными нормами.

11 Образцы: взятие, транспортировка и хранение

Образцы можно собрать в соответствии со стандартной процедурой учреждения пользователя.

Правильное взятие, хранение и транспортировка образцов имеют решающее значение для функциональных характеристик этого анализа! Стабильность образцов в условиях транспортировки и хранения, не соответствующих рекомендованным ниже, для теста Xpert MTB/XDR не изучена.

11.1 Транспортировка осадка мокроты

Транспортируйте образцы осадка при 2–8 °С.

11.2 Транспортировка необработанной мокроты

Необработанные образцы мокроты следует транспортировать при температуре 2–35 °С.

11.3 Хранение образца

Необработанные образцы мокроты можно хранить при температуре 2–35 °С в течение 7 дней (включая время доставки)

Деконтаминированный/концентрированный и ресуспендированный осадок мокроты можно хранить в холодильнике при 2–8 °С не более 7 суток до выполнения теста в системе GeneXpert.

Чтобы определить адекватный объем образца необработанной мокроты или деконтаминированного/концентрированного осадка мокроты, ознакомьтесь с Таблица 1 ниже.

Таблица 1. Требуемый объем образца

Тип образца	Минимальный объем для одного анализа	Максимальный объем образца	Соотношение объемов образца и реагента для образцов
Осадок мокроты	0,5 мл	2,5 мл	1:3 ^a
Необработанная мокрота	1,0 мл	4,0 мл	1:2

^a если объем образца составляет 0,7 мл или более, соотношение объемов образца и реагента для образца должно составлять 1:2 для одного теста.

11.4 Оставшиеся образцы, обработанные реагентом для образцов

Тест Хpert МТВ/ХDR можно использовать для тестирования образца, обработанного реагентом для образцов, оставшегося после теста Хpert МТВ/РИF или Хpert МТВ/РИF Ultra. В таких случаях объем оставшегося образца, обработанного реагентом для образцов, должен составлять ≥ 2 мл, и смесь следует хранить при температуре 2–8 °С не более 4 часов или при температуре до 35 °С не более 2,5 часов.

11.5 Культуральные изоляты из индикаторной пробирки роста микобактерий (BD Mycobacterial Growth Indicator Tube, MGIT)

Достоверные результаты были получены с помощью теста Хpert МТВ/ХDR с использованием МБТ-положительных культур из пробирки MGIT. Для анализа изолятов МБТ из флаконов MGIT с положительной культурой используйте не менее 1,0 мл культурального материала.

Прим.

С культурами микобактерий из клинических образцов следует обращаться с соблюдением соответствующих мер биологической безопасности.

Перед началом теста следует использовать соотношение 1 объема образца к 2 объемам реагента для образца с последующей 15-минутной инкубацией. Во время инкубации образец следует перемешивать на вихревой мешалке в течение 10 секунд каждые 5 минут или же постоянно встряхивать для предотвращения образования осадка. Запустите цикл теста GeneХpert в течение 30 минут после добавления 2 мл реагента для образца к культуральному материалу.

12 Процедура

12.1 Процедура с использованием необработанной мокроты

Важное замечание Начните тест не позднее чем через 2,5 часа после добавления к образцу реагента для образцов или не позднее чем после 4 часов хранения при температуре 2–8 °С.

Прим.

Отбракуйте образцы, содержащие явно видимые частицы пищи или другие твердые частицы.

Требования к объему: требуется ≥ 1 мл необработанной мокроты.

1. Осторожно откройте крышку герметичного контейнера для сбора мокроты. См. Рисунок 1.



Рисунок 1. Открытый контейнер для сбора мокроты

2. Добавьте к мокроте реагент для образцов (SR) в объеме, приблизительно в 2 раза превышающем объем мокроты (разведение SR:мокрота должно составлять 2:1). См. Рисунок 2 и Рисунок 3.



Рисунок 2. Пример разведений 2:1 (8 мл реагента для образцов : 4 мл мокроты)



Рисунок 3. Пример разведения 2:1 (2 мл реагента для образцов : 1 мл мокроты)

Прим. Удалите остатки реагента для образца и флакон в соответствующий контейнер для отходов согласно стандартным правилам вашего учреждения.

3. Плотно закройте контейнер для образцов крышкой.
4. Энергично встряхните пробирку 10—20 раз или поместите ее во встряхиватель не менее чем на 10 секунд.

Прим. Одно встряхивание — это одно движение пробиркой вперед-назад.

5. Инкубируйте в течение 10 минут при комнатной температуре и затем энергично встряхните пробирку 10-20 раз или поместите ее в вихревую мешалку не менее чем на 10 секунд.
6. Инкубируйте образец при комнатной температуре еще 5 минут.

12.2 Процедура с использованием деконтаминированного концентрированного осадка мокроты

Важное замечание Начните тест не позднее чем через 2,5 часа после добавления к образцу реагента для образцов или не позднее чем после 4 часов хранения при температуре 2–8 °С.

Прим. Отбракуйте образцы, содержащие явно видимые частицы пищи или другие твердые частицы.

Требования к объему: образцы мокроты, приготовленные по методу Кента (Kent) и Кубица (Kubica)¹¹ (процедура деконтаминации разложением с применением NALC-NaOH и ресуспендирования в 67 мМ фосфатно/водного буфера), можно анализировать с помощью теста Xpert MTB/XDR. После ресуспендирования зарезервируйте не менее 0,5 мл ресуспендированного осадка для проведения теста Xpert MTB/XDR. Для всех объемов менее 0,7 мл выполните шаги с 1 по 5, чтобы подготовить образцы. Для этого требуется 3 части реагента для образцов и 1 часть осадка, чтобы получить нужный объем образца и обеспечить оптимальные рабочие характеристики теста. Если объем образца составляет 0,7 мл или более, адекватный объем для теста можно получить, добавив 2 части реагента для образцов к 1 части осадка. В данном примере 1,4 мл реагента для образцов добавляется к 0,7 мл осадка. Таким образом 2 части реагента для образцов добавляются к 1 части осадка.

1. Перенесите с помощью пипетки для переноса 0,5 мл полностью ресуспендированного осадка в коническую пробирку с завинчивающейся крышкой; пробирка должна иметь этикетку с идентификатором образца и (или) пациента.

Прим. Ресуспендированный осадок, который не будет сразу использоваться для теста, следует хранить при температуре от 2 до 8 °С. Срок хранения не должен превышать 7 дней.

2. Добавьте 1,5 мл реагента для образцов к 0,5 мл ресуспендированного осадка.
3. Энергично встряхните пробирку 10—20 раз или поместите ее во встряхиватель не менее чем на 10 секунд.

Прим. Одно встряхивание — это одно движение пробиркой вперед-назад.

4. Инкубируйте в течение 10 минут при комнатной температуре и затем энергично встряхните пробирку 10-20 раз или поместите ее в вихревую мешалку не менее чем на 10 секунд.
5. Инкубируйте образец при комнатной температуре еще 5 минут.

12.3 Подготовка картриджа

Важное замечание

Убедитесь, что модуль готов принять картридж. Начните тест как можно раньше, но не позже чем через 2,5 часа с момента добавления в картридж образца, обработанного реагентом для образца, или в течение 4 часов, если он хранится при температуре 2–8 °С.

Подготовьте следующие материалы: картридж Хpert, пипетку для переноса (входит в комплект) и надлежащим образом собранный и промаркированный образец.

1. Извлеките картридж из упаковки.
2. Осмотрите картридж на предмет отсутствия повреждений. В случае повреждения не используйте его.
3. Дождитесь согревания картриджа до комнатной температуры. Нанесите на каждый картридж Хpert MTB/XDR идентификационные номера образцов. См. Рисунок 4.



Рисунок 4. Надпишите номер на боковой части картриджа.

Прим. Напишите идентификационный номер на боковой стороне картриджа или прикрепите этикетку с идентификационным номером. Не наклеивайте этикетку на крышку картриджа и не закрывайте этикеткой двухмерный штрихкод, имеющийся на картридже.

4. Откройте крышку картриджа, а потом откройте контейнер с образцом.
5. Возьмите входящую в набор пипетку для переноса и наберите разжиженный образец до отметки на пипетке. Если объем образца недостаточен, не используйте для анализа этот образец. См. Рисунок 5.



Рисунок 5. Аспирация до отметки на пипетке

6. Медленно выливайте образец из пипетки, чтобы свести к минимуму риск образования аэрозоля. См. Рисунок 6.



Рисунок 6. Картридж Xpert MTB/XDR

7. Закройте крышку картриджа.

12.4 Запуск теста

Важное замечание

Прежде чем начинать тест, убедитесь, что файл описания теста (assay definition file, ADF) Xpert® MTB/XDR импортирован в программное обеспечение. В данном разделе перечисляются основные действия при выполнении теста. Подробные инструкции см. в руководстве оператора системы GeneXpert Dx.

Прим.

Выполняемые вами действия могут быть другими, если администратор системы изменил установленную по умолчанию рабочую последовательность системы.

1. Включите прибор GeneXpert:

- При использовании анализатора GeneXpert Dx следует сначала включать сам прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert Dx запустится автоматически либо после двойного щелчка по ярлыку программного обеспечения GeneXpert Dx на рабочем столе Windows®.

2. Войдите в программное обеспечение приборной системы GeneXpert, используя свое имя пользователя и пароль.

3. В окне системы GeneXpert Dx щелкните **«Создать анализ» (Create Test)**. Открывается диалоговое окно **«Создать анализ» (Create Test)**.

4. Отсканируйте или введите идентификатор пациента или образца. Если вводится «ID образца» (Sample ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID образца» (Sample ID) указывается в левой части окна **«Просмотреть результаты» (View Results)** и связывается с результатами анализа.

5. Просканируйте штрихкод на картридже Xpert MTB/XDR. На основе информации, считанной со штрихкода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: **«ID партии реагента» (Reagent Lot ID)**, **«С/Н картриджа» (Cartridge SN)** и **«Срок годности» (Expiration Date)**. См. Рисунок 7.

Прим. Если штрихкод картриджа Xpert MTB/XDR не сканируется, повторите тест с новым картриджем.

Создать анализ

ID пациента: John Smith

ID образца: CPN123-01

Выбор тестов:

Название	Версия
Xpert MTB/XDR IVD	1

Выбор модуля: A1

ID партии реактива: 00503 Срок годности: 2090/12/24 С/Н картриджа: 0384099858

Тип анализа: Образец

Тип образца: Другой Другой тип образца: []

Примечания: []

Кнопки: Начать анализ, Сканировать штрих-код картриджа, Отменить

Рисунок 7. Окно «Создать анализ GX Dx» (GX Dx Create Test)

6. Щелкните **«Начать тест» (Start Test)**. В появившемся диалоговом окне введите свой пароль.
7. Для прибора GeneXpert Dx:
 - a) Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
 - b) Закройте дверцу. После этого начинается тест, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса теста индикаторная лампа выключается.
 - c) Перед открытием дверцы модуля и извлечением картриджа дождитесь разблокирования системой замка дверцы.
8. Удалите использованные картриджи в подходящий контейнер для сбора отходов образцов согласно стандартной практике, принятой в вашем учреждении.

13 Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечислены основные действия по просмотру и печати результатов. Более подробные инструкции по просмотру и печати результатов представлены в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, что зависит от используемой модели.

1. Для просмотра результатов выберите ярлык **Просмотреть результаты (View Results)**.
2. По завершении теста нажмите кнопку **Отчет (Report)** в окне Просмотреть результаты (View Results) для просмотра и (или) получения отчета в формате PDF.

14 Встроенные контроли качества

В каждый тест входит контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC) и контроль зондов (Probe Check Control, PCC).

- **Контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC)** — проверяет правильность обработки образца. Кроме того, этот контроль позволяет выявить связанное с образцом ингибирование реакции ПЦР в реальном времени, удостовериться в наличии надлежащих для протекания реакции амплификации условий ПЦР (температура и время) и в действенности реагентов для ПЦР. Результат для SPC должен быть положительным

для отрицательного образца и может быть как положительным, так и отрицательным для положительного образца. SPC считается пройденным, если его результат соответствует заданным критериям приемлемости.

- **Контроль зондов (Probe Check Control, PCC)** — перед началом ПЦР системой GeneXpert измеряется флуоресцентный сигнал от зондов для проверки регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль PCC считается пройденным, если его результат соответствует заданным критериям приемлемости.
- **Контроль достаточности объема образца (Sample Volume Adequacy control, SVA)** — перед обработкой образца система GeneXpert измеряет наличие достаточного объема образца в камере для образцов. Если проверка достаточности объема образца не пройдена, это означает, что необходимый для анализа объем образца не был добавлен в камеру для образцов.

Внешние контроли — Внешние контроли могут использоваться в порядке, установленном применимыми требованиями местных, региональных и федеральных уполномоченных органов.

15 Интерпретация результатов

Система GeneXpert Instrument Systems генерирует результаты на основе комбинации измеренных флуоресцентных сигналов и значений температуры плавления (T_m). Мутации и дикие последовательности обнаруживаются системой GeneXpert на основании полученных значений T_m . Определение чувствительности или лекарственной устойчивости зависит от того, где значения T_m попадают в пределы окна дикого или мутантного типа для конкретного анализируемого вещества. Положительные результаты для теста Xpert MTB/XDR: **МБТ ОБНАРУЖЕНА (MTB DETECTED)**, все устойчивые целевые последовательности **НЕ ОБНАРУЖЕНЫ (NOT DETECTED)** или **МБТ ОБНАРУЖЕНА (MTB DETECTED)**, одна или более устойчивых целевых последовательностей **ОБНАРУЖЕНЫ (DETECTED)** или **МБТ ОБНАРУЖЕНА (MTB DETECTED)**, и (или) одна или более устойчивых целевых последовательностей **НЕОПРЕДЕЛЕНА (INDETERMINATE)**. См. список возможных результатов для каждой целевой последовательности в Таблица 2.

Таблица 2. Возможные результаты анализа для каждой целевой последовательности в тесте Xpert MTB/XDR

Класс лекарственного препарата	Результат
Неприменимо	НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ/ОШИБКА/НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (INVALID/ERROR/NO RESULT)
	МБТ ОБНАРУЖЕНА (MTB DETECTED)
	МБТ НЕ ОБНАРУЖЕНА (MTB NOT DETECTED)
Изониазид	Низкая устойчивость к INH ОБНАРУЖЕНА (Low INH Resistance DETECTED)
	Устойчивость к INH ОБНАРУЖЕНА (INH Resistance DETECTED)
	Устойчивость к INH НЕ ОБНАРУЖЕНА (INH Resistance NOT DETECTED)
	Устойчивость к INH НЕОПРЕДЕЛЕННАЯ (INH Resistance INDETERMINATE)
Фторхинолон	Низкая устойчивость к FLQ ОБНАРУЖЕНА (Low FLQ Resistance DETECTED)
	Устойчивость к FLQ ОБНАРУЖЕНА (FLQ Resistance DETECTED)
	Устойчивость к FLQ НЕ ОБНАРУЖЕНА (FLQ Resistance NOT DETECTED)
	Устойчивость к FLQ НЕОПРЕДЕЛЕННАЯ (FLQ Resistance INDETERMINATE)
Амикацин	Устойчивость к АМК ОБНАРУЖЕНА (AMK Resistance DETECTED)
	Устойчивость к АМК НЕ ОБНАРУЖЕНА (AMK Resistance NOT DETECTED)
	Устойчивость к АМК НЕОПРЕДЕЛЕННАЯ (AMK Resistance INDETERMINATE)
Канамицин	Устойчивость к KAN ОБНАРУЖЕНА (KAN Resistance DETECTED)
	Устойчивость к KAN НЕ ОБНАРУЖЕНА (KAN Resistance NOT DETECTED)

Класс лекарственного препарата	Результат
	Устойчивость к KAN НЕОПРЕДЕЛЕННАЯ (KAN Resistance INDETERMINATE)
Капреомицин	Устойчивость к CAP ОБНАРУЖЕНА (CAP Resistance DETECTED)
	Устойчивость к CAP НЕ ОБНАРУЖЕНА (CAP Resistance NOT DETECTED)
	Устойчивость к CAP НЕОПРЕДЕЛЕННАЯ (CAP Resistance INDETERMINATE)
Этионамид ^а	Устойчивость к ETH ОБНАРУЖЕНА (ETH Resistance DETECTED)
	Устойчивость к ETH НЕ ОБНАРУЖЕНА (ETH Resistance NOT DETECTED)

^а Методика теста не предусматривает получения неопределенного результата в отношении этионамида.

Таблица 3 предоставляет сводные данные по генам, которые являются целевыми генами теста Хpert МТВ/ХDR, областям кодонов и нуклеотидам; данные предоставляются для каждого из генов, исследуемых с целью обнаружения лекарственной устойчивости или предположения ее существования.

Таблица 3. Исследование областей, определяющих лекарственную устойчивость

Лекарственный препарат	Генная мишень	Регионы кодонов	Нуклеотид
Изониазид	промотор <i>inhA</i>	Н/П	От -1 до -32, интергенные
	<i>katG</i>	311–319	939–957
	<i>fabG1</i>	199–210	597–630
	интергенный регион <i>oxyR-ahpC</i>	Н/П	От -5 до -50, интергенные (или от -47 до -92) ^{12,13}
Этионамид	промотор <i>inhA</i>	Н/П	От -1 до -32, интергенные
Фторхинолоны	<i>gyrA</i>	87–95	261–285
	<i>gyrB</i>	531–544 (или 492-505) ^{12,14}	1596–1632
Амикацин, Канамицин, Капреомицин	<i>rrs</i>	Н/П	1396–1417
	промотор <i>eis</i>	Н/П	От -6 до -42, интергенные

Примеры возможных результатов и соответствующей интерпретации см. в Таблица 4. Рисунок 8–Рисунок 16 являются примерами возможных результатов теста Хpert МТВ/ХDR.

Таблица 4. Примеры результатов теста Хpert МТВ/ХDR и их интерпретация

Результат	Интерпретация
-----------	---------------

Результат	Интерпретация
<p>МБТ ОБНАРУЖЕНА (MTV DETECTED); Устойчивость к INH НЕ ОБНАРУЖЕНА (INH Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к FLQ НЕ ОБНАРУЖЕНА (FLQ Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к AMK НЕ ОБНАРУЖЕНА (AMK Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к KAN НЕ ОБНАРУЖЕНА (KAN Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к CAP НЕ ОБНАРУЖЕНА (CAP Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к ETH НЕ ОБНАРУЖЕНА (ETH Resistance NOT DETECTED)</p>	<p>В образце присутствует целевая МБТ:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Мутации, приводящие к устойчивости к изониазиду, фторхинолону, амикацину, канамицину, капреомицину или этионамиду, не обнаружены. • Контроль обработки образца (SPC): Н/П (неприменимо). Сигнал контроля SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации МБТ с данным контролем. • Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS) Все проверки в рамках контроля зондов успешно пройдены.
<p>МБТ ОБНАРУЖЕНА (MTV DETECTED); Устойчивость к INH ОБНАРУЖЕНА (INH Resistance DETECTED) Устойчивость к FLQ ОБНАРУЖЕНА (FLQ Resistance DETECTED) Устойчивость к AMK ОБНАРУЖЕНА (AMK Resistance DETECTED) Устойчивость к KAN ОБНАРУЖЕНА (KAN Resistance DETECTED) Устойчивость к CAP ОБНАРУЖЕНА (CAP Resistance DETECTED) Устойчивость к ETH ОБНАРУЖЕНА (ETH Resistance DETECTED)</p>	<p>В образце присутствует целевая МБТ:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Мутации, способствующие устойчивости к изониазиду, были обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: <i>katG</i>, <i>fabG1</i>, в интергенном регионе <i>oxyR-aphC</i> и промоторе <i>inhA</i> • Мутации, способствующие устойчивости к фторхинолонам (FLQ), были обнаружены в одном или нескольких из следующих генов, определяющих устойчивость к хинолонам (QRDR): <i>gyrA</i> и <i>gyrB</i> • Мутации, способствующие устойчивости к амикацину, были обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: <i>rrs</i> и промоторе <i>eis</i> • Мутации, способствующие устойчивости к канамицину, были обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: <i>rrs</i> и промоторе <i>eis</i> • Мутации, способствующие устойчивости к капреомицину, были обнаружены в следующем гене: <i>rrs</i> • Мутации, способствующие устойчивости к этионамиду, были обнаружены в следующем гене: промотор <i>inhA</i> • Контроль обработки образца (SPC): Н/П (неприменимо). Сигнал контроля SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации МБТ с данным контролем. • Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS) Все проверки в рамках контроля зондов успешно пройдены.
<p>МБТ ОБНАРУЖЕНА (MTV DETECTED); Устойчивость к INH ОБНАРУЖЕНА (INH Resistance DETECTED) Устойчивость к FLQ НЕ ОБНАРУЖЕНА (FLQ Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к AMK НЕ ОБНАРУЖЕНА (AMK Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к KAN НЕ ОБНАРУЖЕНА (KAN Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к CAP НЕ ОБНАРУЖЕНА (CAP Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к ETH НЕ ОБНАРУЖЕНА (ETH Resistance NOT DETECTED)</p>	<p>В образце присутствует целевая МБТ:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Мутации, приводящие к устойчивости к фторхинолону, амикацину, канамицину, капреомицину и этионамиду, не обнаружены. • Мутации, способствующие устойчивости к изониазиду, были обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: <i>katG</i>, <i>fabG1</i>, в интергенном регионе <i>oxyR-aphC</i> • Контроль обработки образца (SPC): Н/П (неприменимо). Сигнал контроля SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации МБТ с данным контролем. • Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS) Все проверки в рамках контроля зондов успешно пройдены.

Результат	Интерпретация
<p>МБТ ОБНАРУЖЕНА (MTB DETECTED); Устойчивость к INH ОБНАРУЖЕНА (INH Resistance DETECTED) Устойчивость к FLQ НЕОПРЕДЕЛЕННАЯ (FLQ Resistance INDETERMINATE) Устойчивость к АМК НЕ ОБНАРУЖЕНА (AMK Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к KAN НЕ ОБНАРУЖЕНА (KAN Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к CAP НЕ ОБНАРУЖЕНА (CAP Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к ETH НЕ ОБНАРУЖЕНА (ETH Resistance NOT DETECTED)</p>	<p>В образце присутствует целевая МБТ:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Мутации, приводящие к устойчивости к амикацину, канамицину, капреомицину и этионамиду, не обнаружены. • Мутации, способствующие устойчивости к изониазиду, были обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: <i>katG</i>, <i>fabG1</i>, в интергенном регионе <i>oxyR-aphC</i> • Мутации, способствующие устойчивости к фторхинолону, не могли быть определены из-за обнаружения температуры плавления только немутантного типа одного или нескольких зондов и отсутствия данных о температуре плавления одного или нескольких зондов, нацеленных на один или несколько из следующих генов: <i>gyrA</i> или <i>gyrB</i>. ИЛИ не была определена температура плавления ни от одного из зондов, нацеленных на гены <i>gyrA</i> и <i>gyrB</i>. • Контроль обработки образца (SPC): Н/П (неприменимо). Сигнал контроля SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации МБТ с данным контролем. • Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS) Все проверки в рамках контроля зондов успешно пройдены.
<p>МБТ ОБНАРУЖЕНА (MTB DETECTED); Низкая устойчивость к INH ОБНАРУЖЕНА (Low INH Resistance DETECTED) Устойчивость к FLQ НЕ ОБНАРУЖЕНА (FLQ Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к АМК НЕ ОБНАРУЖЕНА (AMK Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к KAN НЕ ОБНАРУЖЕНА (KAN Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к CAP НЕ ОБНАРУЖЕНА (CAP Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к ETH ОБНАРУЖЕНА (ETH Resistance DETECTED)</p>	<p>В образце присутствует целевая МБТ:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Мутации, приводящие к устойчивости к фторхинолонам, амикацину, канамицину и капреомицину, не обнаружены. • Мутации, способствующие низкой устойчивости к изониазиду, были обнаружены в промоторной области <i>inhA</i> • Мутации, способствующие устойчивости к этионамиду, были обнаружены в промоторной области <i>inhA</i> • Контроль обработки образца (SPC): Н/П (неприменимо). Сигнал контроля SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации МБТ с данным контролем. • Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS) Все проверки в рамках контроля зондов успешно пройдены.
<p>МБТ ОБНАРУЖЕНА (MTB DETECTED); Устойчивость к INH НЕ ОБНАРУЖЕНА (INH Resistance NOT DETECTED) Низкая устойчивость к FLQ ОБНАРУЖЕНА (Low FLQ Resistance DETECTED) Устойчивость к АМК НЕ ОБНАРУЖЕНА (AMK Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к KAN НЕ ОБНАРУЖЕНА (KAN Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к CAP НЕ ОБНАРУЖЕНА (CAP Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к ETH НЕ ОБНАРУЖЕНА (ETH Resistance NOT DETECTED)</p>	<p>Целевая последовательность МБТ присутствует в образце; обнаружена низкая устойчивость к фторхинолону:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Мутации, приводящие к устойчивости к изониазиду, амикацину, канамицину, капреомицину и этионамиду, не обнаружены. • Мутации, способствующие низкой устойчивости к фторхинолонам, были обнаружены в следующем гене: <i>gyrA</i> • Контроль обработки образца (SPC): Н/П (неприменимо). Сигнал контроля SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации МБТ с данным контролем. • Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS) Все проверки в рамках контроля зондов успешно пройдены.

Результат	Интерпретация
<p>МБТ ОБНАРУЖЕНА (MTB DETECTED); Устойчивость к INH ОБНАРУЖЕНА (INH Resistance DETECTED) Устойчивость к FLQ НЕ ОБНАРУЖЕНА (FLQ Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к АМК ОБНАРУЖЕНА (AMK Resistance DETECTED) Устойчивость к KAN ОБНАРУЖЕНА (KAN Resistance DETECTED) Устойчивость к CAP ОБНАРУЖЕНА (CAP Resistance DETECTED) Устойчивость к ETH НЕ ОБНАРУЖЕНА (ETH Resistance NOT DETECTED)</p>	<p>В образце присутствует целевая МБТ:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Мутации, приводящие к устойчивости к фторхинолону и этионамиду, не обнаружены. ● Мутации, способствующие устойчивости к изониазиду (INH), были обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: <i>katG</i>, <i>fabG1</i>, <i>oxyR-ahpC</i> ● Мутации, способствующие устойчивости к амикацину, были обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: <i>rrs</i>; промоторе <i>eis</i> ● Мутации, способствующие устойчивости к канамицину, были обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: <i>rrs</i>; промоторе <i>eis</i> ● Мутации, способствующие устойчивости к капреомицину, были обнаружены в следующем гене: <i>rrs</i> ● Контроль обработки образца (SPC): Н/П (неприменимо). Сигнал контроля SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации МБТ с данным контролем. ● Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS) Все проверки в рамках контроля зондов успешно пройдены.
<p>МБТ ОБНАРУЖЕНА (MTB DETECTED); Устойчивость к INH ОБНАРУЖЕНА (INH Resistance DETECTED) Низкая устойчивость к FLQ ОБНАРУЖЕНА (Low FLQ Resistance DETECTED) Устойчивость к АМК НЕ ОБНАРУЖЕНА (AMK Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к KAN ОБНАРУЖЕНА (KAN Resistance DETECTED) Устойчивость к CAP НЕ ОБНАРУЖЕНА (CAP Resistance NOT DETECTED) Устойчивость к ETH НЕ ОБНАРУЖЕНА (ETH Resistance NOT DETECTED)</p>	<p>В образце присутствует целевая МБТ:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Мутации, приводящие к устойчивости к амикацину, капреомицину и этионамиду, не обнаружены. ● Мутации, способствующие устойчивости к изониазиду, были обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: <i>katG</i>, <i>fabG1</i>, в интергенном регионе <i>oxyR-ahpC</i> и промоторе <i>inhA</i> ● Мутации, способствующие низкой устойчивости к фторхинолонам, были обнаружены в следующем гене: <i>gyrA</i> ● Мутации, способствующие устойчивости к канамицину, были обнаружены в промоторной области <i>ieis</i> ● Контроль обработки образца (SPC): Н/П (неприменимо). Сигнал контроля SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации МБТ с данным контролем. ● Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS) Все проверки в рамках контроля зондов успешно пройдены.
<p>МБТ НЕ ОБНАРУЖЕНА (MTB NOT DETECTED)</p>	<p>В образце отсутствует целевая последовательность МБТ:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Контроль обработки образца (SPC): ПРОЙДЕН (PASS) Результат для SPC соответствует критериям приемлемости. ● Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS) Все проверки в рамках контроля зондов успешно пройдены.

Результат	Интерпретация
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)	<p>Присутствие или отсутствие МБТ в образце установить невозможно. Результат для SPC не соответствует критериям приемлемости, процесс обработки образца прошел ненадлежащим образом или ПЦР была ингибирована. Повторите анализ. См. раздел Раздел 16.2. Процедура повторного теста этого документа.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● МБТ: НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID). Невозможно установить, присутствует или отсутствует в образце ДНК МБТ. ● Контроль обработки образца (SPC): FAIL (НЕ ПРОЙДЕНО). Результат анализа на целевую последовательность МБТ отрицательный, при этом порог цикла (Ct) контроля обработки образца не находится в пределах диапазона валидности. ● Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS) Все проверки в рамках контроля зондов успешно пройдены.
ОШИБКА (ERROR)	<p>Присутствие или отсутствие МБТ в образце установить невозможно. Повторите анализ. См. раздел Раздел 16.2. Процедура повторного теста этого документа.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● МБТ: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) ● Контроль обработки образца (SPC): НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) ● Контроль зондов: FAIL (НЕ ПРОЙДЕНО). Все или одна из проверок в рамках контроля зондов не пройдены(-а). <p>Прим. Если контроль зондов пройден, ошибка может быть вызвана сбоем компонента системы, ошибкой оператора или нарушением целостности картриджа.</p>
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	<p>Присутствие или отсутствие МБТ в образце установить невозможно. Повторите анализ. См. раздел Раздел 16.2. Процедура повторного теста этого документа. Сообщение НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если лаборант прервал текущий процесс анализа.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● МБТ: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) ● Контроль обработки образца (SPC): НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) ● Контроль зондов: Неприменимо (NA)

Прим. На следующих рисунках представлены репрезентативные результаты, включая вкладку пиков плавления, которых можно ожидать при выполнении теста Хpert МТВ/ХDR в представлении для пользователя GeneXpert Dx с расширенными полномочиями. Показаны не все возможные комбинации результатов.

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название теста		МТВ-ХDR		Версия 3		
Результат	МТВ ОБНАРУЖЕН; INH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; FLQ Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; АМК Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; KAN Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; CAP Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; ETH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН					
Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название аналита		Температура Пика Плавления		Высота Пика Плавления		
inhA-melt			76,3		76,3	292,5
katG-melt			73,8		73,8	107,0
fabG 1-melt			71,5		71,5	242,0
ahpC-melt			68,7		68,7	41,3
gyrA1-melt			76,2		76,2	73,9
gyrA2-melt			70,4		70,4	75,8
gyrA3-melt			71,0		71,0	129,8
gyrB2-melt			69,5		69,5	77,8
rrs-melt			75,0		75,0	188,7
eis-melt			68,5		68,5	145,3
inhA-mut melt						
katG-mut melt						
fabG 1-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						

Рисунок 8. МТВ ОБНАРУЖЕНА; устойчивость к INH, FLQ, АМК, KAN, CAP и ETH НЕ ОБНАРУЖЕНА

Результат	Результат по анализу	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название теста МТВ-XDR Версия 3						
Результат	МТВ ОБНАРУЖЕН; INH Resistance ОБНАРУЖЕН; FLQ Resistance ОБНАРУЖЕН; AMK Resistance ОБНАРУЖЕН; KAN Resistance ОБНАРУЖЕН; CAP Resistance ОБНАРУЖЕН; ETH Resistance ОБНАРУЖЕН					
Результат	Результат по анализу	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название аналита	Температура Пика Плавления	Высота Пика Плавления				
inhA-melt						
katG-melt						
fabG 1-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				
fabG 1-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						

Рисунок 9. МБТ ОБНАРУЖЕНА; устойчивость к INH, FLQ, AMK, KAN, CAP и ETH ОБНАРУЖЕНА

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название теста	МТВ-ХDR		Версия 3			
Результат	<p>МТВ ОБНАРУЖЕН; INH Resistance ОБНАРУЖЕН; FLQ Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; AMK Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; KAN Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; CAP Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; ETH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН</p>					

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название аналита	Температура Пика Плавления	Высота Пика Плавления				
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						

Рисунок 10. МБТ ОБНАРУЖЕНА; устойчивость к INH ОБНАРУЖЕНА

Результат	Результат по анализу	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название теста	MTB-XDR		Версия 4			
Результат	<p>MTB ОБНАРУЖЕН; INH Resistance ОБНАРУЖЕН; FLQ Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; AMK Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ; KAN Resistance ОБНАРУЖЕН; CAP Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ; ETH Resistance ОБНАРУЖЕН</p>					
Результат	Результат по анализу	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
	Название аналита		Температура Пика Плавления			Высота Пика Плавления
	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

Рисунок 11. МБТ ОБНАРУЖЕНА; устойчивость к INH и KAN ОБНАРУЖЕНА; устойчивость к AMK и CAP НЕОПРЕДЕЛЕННАЯ

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название теста	MTB-XDR		Версия 3			
Результат	<p>MTB ОБНАРУЖЕН; INH Resistance ОБНАРУЖЕН; Low FLQ Resistance ОБНАРУЖЕН; AMK Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; KAN Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; CAP Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; ETH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН</p>					

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
	Название аналита		Температура Пика Плавления		Высота Пика Плавления	
	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					

Рисунок 12. МБТ ОБНАРУЖЕНА; устойчивость к INH и низкая устойчивость к FLQ ОБНАРУЖЕНА

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название теста		MTB-XDR				
Версия		3				
Результат	<p>MTB ОБНАРУЖЕН; INH Resistance ОБНАРУЖЕН; FLQ Resistance ОБНАРУЖЕН; AMK Resistance ОБНАРУЖЕН; KAN Resistance ОБНАРУЖЕН; CAP Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; ETH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН</p>					
Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название аналита		Температура Пика Плавления		Высота Пика Плавления		
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						

Рисунок 13. МБТ ОБНАРУЖЕНА; устойчивость к INH, FLQ, AMK и KAN ОБНАРУЖЕНА

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название теста		МТВ-ХDR		Версия 3		
Результат		МТВ НЕ ОБНАРУЖЕН				
Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название аналита	Температура Пика Плавления	Высота Пика Плавления				
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						

Рисунок 14. МБТ НЕ ОБНАРУЖЕНА (MTV NOT DETECTED)

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название теста		MTB-XDR		Версия 3		
Результат		НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ				
Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название аналита		Температура Пика Плавнения		Высота Пика Плавнения		
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						

Рисунок 15. НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название теста	MTB-XDR		Версия 3			
Результат	ОШИБКА					

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
	Название аналита		Температура Пика Плавления			Высота Пика Плавления
	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					

Рисунок 16. ОШИБКА (ERROR)

16 Повторное выполнение теста

16.1 Причины повторного выполнения теста

При получении любого из следующих результатов анализа повторите анализ в соответствии с указаниями, изложенными в Раздел 16.2. Процедура повторного теста.

- **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** результат указывает на то, что не пройдены проверки SPC. Процесс обработки образца прошел ненадлежащим образом, ПЦР была ингибирована или не соблюдались правила взятия образца.
- Результат **ОШИБКА (ERROR)** мог быть обусловлен, помимо прочего, непрохождением контроля зондов или превышением пределов максимального давления.
- Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Например, если оператор прервал выполняющийся процесс анализа или произошел перебой в подаче электроэнергии.
- Результат **«НЕОПРЕДЕЛЕННАЯ (INDETERMINATE)»** указывает на то, что нельзя сделать окончательный вывод об устойчивости к данному препарату на основе алгоритма теста (подробнее см. Раздел 17. Ограничения). Повторное тестирование с другим образцом может привести или не привести к другому результату.

16.2 Процедура повторного теста

Повторите анализ с новым картриджем (не используйте картридж повторно). При наличии неиспользованной мокроты (не менее 1,0 мл) или восстановленного осадка (не менее 0,5 мл) всегда следует использовать новый реагент для образцов с целью деконтаминации и разжижения мокроты перед проведением теста. Следуйте инструкциям по обработке образцов в соответствии с указаниями Раздел 12.1. Процедура с использованием необработанной мокроты или Раздел 12.2. Процедура с использованием деконтаминированного концентрированного осадка мокроты.

Если имеется достаточное количество неиспользованного образца, обработанного реагентов для образцов, который хранился не более 2,5 часов при температуре до 35 °С или не более 4 часов при 2–8 °С с момента первоначального добавления реагента для образцов, то такой оставшийся образец можно проанализировать с помощью нового картриджа. При повторном тестировании всегда используйте новый картридж и начинайте тест в течение 30 минут после добавления обработанного образца в картридж. См. Раздел 12.3. Подготовка картриджа.

17 Ограничения

- Функциональные характеристики теста Xpert MTB/XDR прошли валидацию только с использованием процедур, описанных в данном вкладыше-инструкции. Изменения процедуры теста XDR следует интерпретировать с учетом других лабораторных и клинических данных, имеющихся у врача.
- Рабочие характеристики теста Xpert MTB/XDR зависят от профессиональных навыков оператора и соблюдения процедур выполнения теста. Ошибки при выполнении теста могут приводить к получению ложноположительных или ложноотрицательных результатов. Все операторы, работающие с устройством, должны пройти надлежащее обучение по работе с устройством и тестом.
- Квалифицированный медицинский работник должен интерпретировать результаты теста, учитывая историю болезни пациента, клинические признаки и симптомы, а также результаты других диагностических тестов.
- Так как возможность обнаружения ДНК комплекса МБТ зависит от количества присутствующих в образце микроорганизмов, достоверность результатов теста зависит от правильности сбора образца, обращения с ним и его хранения. Ошибочные результаты анализа могут быть связаны с неправильным сбором образца, несоблюдением рекомендованной процедуры сбора образцов, инструкций по обращению и хранению, технической ошибкой, перемешиванием образцов или недостаточной концентрацией исходного материала. Чтобы избежать получения ошибочных результатов необходимо тщательно соблюдать инструкции, представленные в данном листке-вкладыше.
- Также на результаты теста может повлиять сопутствующий или предшествующий прием антибиотиков. При помощи этого теста нельзя оценивать успех или неэффективность лечения, так как возможно присутствие ДНК микобактерий в образцах и после завершения противотуберкулезной терапии.
- Положительный результат теста не свидетельствует однозначно о присутствии жизнеспособных микроорганизмов. Однако предполагается наличие ДНК комплекса МБТ, включая мутации, связанные с устойчивостью к изониазиду, фторхинолону, амикацину, канамицину, капреомицину и этионамиду.
- Мутации или полиморфизмы в участках связывания праймера или зонда могут повлиять на возможность обнаружения новых или неизвестных штаммов ШЛУ-МБТ и привести к получению результата о наличии чувствительности к лекарственному препарату.
- Тест Xpert MTB/XDR не подтверждает чувствительность к изониазиду, фторхинолону, амикацину, канамицину, капреомицину и этионамиду, поскольку могут существовать механизмы устойчивости, отличные от тех, которые выявляются с помощью данного теста, и которые могут быть связаны с отсутствием клинического ответа на лечение.

- Возможность использования теста Xpert MTB/XDR для анализа крови, спинномозговой жидкости, желудочного аспирата, кала, тканей, мочи не оценивалась.
- Хотя образцы индуцированной мокроты не были включены в оценку клинической эффективности теста Xpert MTB/XDR, изотонические или гипертонические растворы, бронходилататоры и ингаляционные бронхорасширяющие средства, обычно используемые при сборе индуцированной мокроты, были протестированы и было установлено, что они не влияют на результаты теста. Индукция солевым раствором может привести к недостаточному количеству восстановленных микроорганизмов и может повлиять на обнаружение *M. tuberculosis*.
- Концентрированные осадки мокроты, использованные при оценке эффективности теста Xpert MTB/XDR, были приготовлены с применением NALC-NaOH по методу Кента (Kent) и Кубица (Kubica)¹¹. Использование других методов подготовки осадка может повлиять на результаты теста.
- Отрицательный результат теста не исключает возможности выделения ДНК комплекса МБТ из образца мокроты. Тест Xpert MTB/XDR следует использовать в сочетании с микобактериальной культурой во избежание риска получения ложноотрицательных результатов и для выделения микроорганизмов для их дальнейшего определения и тестирования на чувствительность к лекарственным препаратам.
- Ожидается, что показатели образцов с результатами **«ОБНАРУЖЕНЫ следы МБТ (MTB Trace DETECTED)»** при анализе с помощью теста Xpert MTB/RIF Ultra будут ниже порога обнаружения теста MTB/XDR; их не рекомендуется использовать для анализа с помощью теста Xpert MTB/XDR.
- Методика теста Xpert MTB/XDR не предусматривает выявления различий между видами комплекса МБТ (например, *МБТ*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. caprae*, *M. pinnipedi*, *M. mungi* и *M. orygis*). Кроме того, необходимо также провести культивирование, чтобы определить, присутствует ли штамм НТМ наряду с комплексом МБТ.
- В публикациях сообщается о более низкой чувствительности у пациентов детского возраста из-за диффузного характера инфекции МБТ в легких этой популяции пациентов, а также из-за трудности получения нужных образцов^{16,17}.
- Смешанные инфекции, вызванные МБТ и *M. marinum*, могут привести к получению результата **«НЕОПРЕДЕЛЕННАЯ (INDETERMINATE)»** для фторхинолона при $>10^4$ КОЕ/мл *M. marinum* на фоне МБТ на уровне ≤ 408 КОЕ/мл.
- В редких случаях праймеры и зонды *rrs* могут перекрестно взаимодействовать с микробами окружающей среды или микрофлорой мокроты, что может привести к получению результата **«НЕОПРЕДЕЛЕННАЯ (INDETERMINATE)»** для амикацина, канамицина и капреомицина.
- Тест Xpert MTB/XDR определяет устойчивость к этионамиду, связанную только с мутациями в промоторной области *inhA*. Отсутствие мутаций в промоторной области гена *inhA* не исключает устойчивости к этионамиду (ETH). Было установлено, что мутации, обеспечивающие устойчивость к этионамиду, присутствуют в геномных областях, не охваченных тестом Xpert MTB/XDR.¹⁵
- Связь мутаций в генах *oxyR-ahpC* и *gyrB* с устойчивостью к изониазиду и фторхинолону, соответственно, окончательно не установлена; однако в опубликованных исследованиях сообщается, что эти мутации обнаруживаются в штаммах, устойчивых к изониазиду и фторхинолонам^{18,19}.
- Наличие делеций или редких мутаций в любом из генов-мишеней может привести к получению результата **«НЕОПРЕДЕЛЕННАЯ (INDETERMINATE)»** для конкретного лекарственного препарата.
- В случае образцов со смешанной популяцией как чувствительных, так и устойчивых штаммов, существует вероятность того, что тест Xpert MTB/XDR может не обнаружить мутацию, если устойчивая популяция присутствует на неопределяемых для теста уровнях.
- В образцах с очень низкой бактериальной нагрузкой или в смеси чувствительных и устойчивых штаммов тест Xpert MTB/XDR не может надежно различить низкий и высокий уровень устойчивости к фторхинолону.

18 Клинические функциональные характеристики

Было проведено два клинических исследования. Клиническая эффективность теста Xpert MTB/XDR оценивалась с использованием ретроспективно собранных заархивированных замороженных образцов необработанной мокроты и концентрированного осадка мокроты в Клиническом исследовании 1, а также по проспективным образцам мокроты и культуры MGIT (индикаторная пробирка роста микобактерий) в Клиническом исследовании 2.

18.1 Образцы мокроты

Было проведено слепое клиническое исследование для оценки эффективности теста Xpert MTB/XDR относительно микробиологических и молекулярных эталонных методов, то есть тестирование и секвенирование фенотипической лекарственной чувствительности (фТЛЧ) для выявления лекарственной устойчивости к изониазиду, этионамиду,

фторхинолону и инъекционным препаратам второй линии (амикацину, канамицину и капреомицину). Кроме того, клиническую эффективность теста Хpert МТВ/XDR для обнаружения МБТ сравнивали с тестом Хpert МТВ/RIF или тестом Хpert МТВ/RIF Ultra. В двух исследовательских центрах с известной высокой распространенностью МЛУ-ТБ и ШЛУ-ТБ были получены замороженные архивные необработанные образцы мокроты или концентрированного осадка мокроты, о которых известно, что они являются положительными или отрицательными по посеву МБТ

В Таблица 5 представлены данные по чувствительности и специфичности теста Хpert МТВ/XDR для определения лекарственной устойчивости относительно фТЛЧ. Чувствительность составляла >90 % для изониазида, фторхинолона и амикацина, >85 % для канамицина и карпреомицина, >64 % для этионамида; показатель специфичности составлял >98 % для всех лекарственных препаратов.

Таблица 5. Хpert МТВ/XDR по сравнению с фТЛЧ для определения лекарственной устойчивости (ретроспективные образцы)

Лекарственные препараты	N	ИП	ЛО	ИО	ЛП	Чувствительность (%)	95%ДИ	Специфичность (%)	95 % ДИ
INH	478	244	23	209	2	91,4	87,4–94,2	99,1	96,6–99,7
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
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 Сообщение о резистентности к этионамиду основано только на обнаружении мутаций промотора inhA, что приводит к более низкой чувствительности.

В Таблица 6 представлены данные по чувствительности и специфичности теста Хpert МТВ/XDR для определения лекарственной устойчивости относительно секвенирования. Чувствительность составляла >93 % для FLQ (фторхинолон) и более 96 % для INH (изониазид), AMK (амикацин), KAN (канамицин), CAP (капреомицин) и ETH (этионамид); специфичность составляла 100,0 % для всех лекарств, перечисленных в таблице, кроме INH, для этот параметр был равен 98,7 %.

Таблица 6. Хpert МТВ/XDR по сравнению с секвенированием для определения лекарственной устойчивости (ретроспективные образцы)

Лекарственные препараты	N	ИП	ЛО	ИО	ЛП	Чувствительность (%)	95%ДИ	Специфичность (%)	95 % ДИ
INH	471	241	3	224	3	98,8	96,5–99,6	98,7	96,2–99,5
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

В Таблица 7 представлены показатели процента совпадения положительных результатов (positive percent agreement, PPA) и процента совпадения отрицательных результатов (negative percent agreement, NPA) теста Хpert МТВ/XDR относительно теста Хpert МТВ/RIF для обнаружения МБТ, которые составляют 98,9 % и 93,8 % соответственно.

Таблица 7. Хpert MTB/XDR по сравнению с тестом Хpert MTB/RIF для определения МБТ

		Хpert MTB/RIF Тест		
		МБТ обнаружена (MTB detected)	МБТ не обнаружена (MTB not detected)	Всего
Хpert MTB/XDR	МБТ обнаружена (MTB detected)	273	2 ^a	275
	МБТ не обнаружена (MTB not detected)	3 ^b	30	33
	Всего	276	32	308
		PPA	98,9 % (95 % ДИ: 96,9–99,6)	
		NPA	93,8 % (95 % ДИ: 79,9–98,3)	

^a На момент сбора образцов пациенты проходили длительную противотуберкулезную терапию.

^b Образцы были ниже порога обнаружения для теста Хpert MTB/XDR.

В Таблица 8 представлены значения PPA и NPA для теста Хpert MTB/XDR относительно теста Хpert MTB/RIF Ultra для обнаружения МБТ, которые составляют 99,5 % и 100,0 % соответственно.

Таблица 8. Хpert MTB/XDR по сравнению с Хpert MTB/RIF Ultra для определения МБТ

		Хpert MTB/RIF Ultra		
		МБТ обнаружена (MTB detected)	МБТ не обнаружена (MTB not detected)	Всего
Хpert MTB/XDR	МБТ обнаружена (MTB detected)	207	0	207
	МБТ не обнаружена (MTB not detected)	1 ^a	14	15
	Всего	208	14	222
		PPA	99,5 % (95 % ДИ: 97,3–99,9)	
		NPA	100,0 % (95 % ДИ: 78,5–100,0)	

^a Полученный Хpert MTB/RIF Ultra результат: **Обнаружены следы МБТ (MTB Trace Detected)**.

В 15 из выполненных 531 циклов теста Хpert MTB/XDR в рамках этого исследования с первой попытки были получены неопределенные результаты (**ОШИБКА (ERROR), НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)**). При повторном тестировании этих 15 образцов один результат остался неопределенным. Показатель неопределенных результатов первичного теста составил 2,8 % (15 из 531), а показатель неопределенных результатов конечного теста составил 0,2 % (1 из 531).

Целью многоцентрового клинического исследования (Клиническое исследование 2) была оценка эффективности теста Хpert MTB/XDR относительно фТЛЧ и секвенирования для выявления в образцах мокроты устойчивости к изониазиду, этионамиду, фторхинолону и инъекционным препаратам второй линии (амикацину, канамицину и капреомицину). В исследование были включены проспективно собранные образцы мокроты из четырех центров с высокой распространенностью МЛУ-ТБ. Необработанные образцы мокроты и образцы изолятов культуры MGIT, которые, как было известно, были МБТ-положительными, были проанализированы на лекарственную устойчивость.

В Таблица 9 представлены данные по чувствительности и специфичности теста Хpert MTB/XDR для любой лекарственной устойчивости относительно фТЛЧ при анализе образцов мокроты. Чувствительность составила >90 % для изониазида, фторхинолона и канамицина, >85 % для амикацина, >70 % для капреомицина и >50 % для этионамида. Специфичность для всех препаратов составила ≥ 92 %.

Таблица 9. Хpert МТВ/ХDR по сравнению с фТЛЧ для определения лекарственной устойчивости (проспективные образцы)

Лекарственные препараты	N	ИП	ЛО	ИО	ЛП	Чувствительность (%)	95 % ДИ	Специфичность (%)	95 % ДИ
INH	587	452	24	106	5	95,0	92,6–96,6	95,5	89,9–98,1
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 Несколько образцов с мутациями A90V/S91P/D94A в гене *gugA* были определены с помощью фТЛЧ как чувствительные, но как устойчивые с помощью теста, что привело к снижению специфичности.
- ^b Несколько образцов с мутациями промотора *eis* и геном дикого типа *gts* были определены с помощью фТЛЧ как чувствительные, но как устойчивые с помощью теста, что привело к снижению специфичности.
- ^c Сообщение о резистентности к этионамиду основано только на обнаружении мутаций промотора *inhA*, что приводит к более низкой чувствительности.

В Таблица 10 представлены данные по чувствительности и специфичности теста Хpert МТВ/ХDR для любой лекарственной устойчивости относительно секвенирования при анализе образцов мокроты. Чувствительность составила >90 % для изониазида, фторхинолона и канамицина (показатель округлен с 89,5 %), >70 % для амикацина, >65 % для капреомицина и >95 % для этионамида. Специфичность для всех лекарственных препаратов составила ≥ 98 %.

Таблица 10. Хpert МТВ/ХDR по сравнению с секвенированием для определения лекарственной устойчивости (проспективные образцы)

Лекарственные препараты	N	ИП	ЛО	ИО	ЛП	Чувствительность (%)	95 % ДИ	Специфичность (%)	95 % ДИ
INH	515	411	17	85	2	96,0	93,7–97,5	97,7	92–99,4
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 Образцы MGIT

Целью многоцентрового клинического исследования (Клиническое исследование 2) была также оценка эффективности теста Хpert МТВ/ХDR относительно фТЛЧ и секвенирования для выявления в МБТ-положительных образцах устойчивости к изониазиду, этионамиду, фторхинолону и инъекционным препаратам второй линии (амикацину, канамицину и капреомицину). В исследование были включены проспективно собранные образцы мокроты из четырех центров с высокой распространенностью МЛУ-ТБ. Необработанные образцы мокроты и изоляты культур MGIT от каждого субъекта были протестированы с помощью Хpert МТВ/ХDR. После непосредственного тестирования с применением теста Хpert МТВ/ХDR обеззараженные и концентрированные образцы мокроты инокулировали в питательную среду MGIT и инкубировали для выявления положительного роста МБТ. Положительные изоляты культуры MGIT анализировали с помощью теста Хpert МТВ/ХDR. Изоляты культур MGIT перед тестированием хранили при 2–8 °С, и большинство образцов (96,9 %) были протестированы в течение 2 месяцев после получения положительного результата на культуру MGIT.

В Таблица 11 представлены данные по чувствительности и специфичности теста Хpert MTB/XDR для любой лекарственной устойчивости относительно фТЛЧ. Чувствительность составила >90 % для изониазида, фторхинолона и канамицина, >85 % для амикацина, >75 % для капреомицина и 55 % для этионамида. Специфичность для всех препаратов составила ≥ 92 %.

Таблица 11. Хpert MTB/XDR по сравнению с фТЛЧ для определения устойчивости к лекарственным средствам (положительный результат по культуре MGIT)

Лекарственные препараты	N	ИП	ЛО	ИО	ЛП	Чувствительность (%)	95 % ДИ	Специфичность (%)	95 % ДИ
INH	596	459	23	109	5	95,2	92,9–96,8	95,6	90,1–98,1
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 Несколько образцов с мутациями промотора *eis* и геном дикого типа *rrs* были определены с помощью фТЛЧ как чувствительные, но как устойчивые с помощью теста, что привело к снижению специфичности.

В Таблица 12 представлены данные по чувствительности и специфичности теста Хpert MTB/XDR для определения лекарственной устойчивости относительно секвенирования. Чувствительность составила >96 % для изониазида, фторхинолона и этионамида, >85 % для канамицина, >70 % для амикацина и >62 % для капреомицина. Специфичность для всех препаратов составила ≥ 97 %.

Таблица 12. Хpert MTB/XDR по сравнению с секвенированием для определения устойчивости к лекарственным средствам (положительный результат по культуре MGIT)

Лекарственные препараты	N	ИП	ЛО	ИО	ЛП	Чувствительность (%)	95 % ДИ	Специфичность (%)	95 % ДИ
INH	522	418	15	88	1	96,5	94,4–97,9	98,9	93,9–99,8
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

Из 1211 циклов теста Хpert MTB/XDR, выполненных в этом исследовании (606 на образцах мокроты, 605 на образцах MGIT), 35 продемонстрировали неопределенные результаты в первичном тесте. При повторном тестировании этих 35 образцов два результата остались неопределенными. Показатель неопределенных результатов первичного теста составил 2,9 % (35 из 1211), а показатель неопределенных результатов конечного теста составил 0,2 % (2 из 1211).

19 Аналитические функциональные характеристики

19.1 Аналитическая чувствительность (порог обнаружения)

На протяжении трех дней испытаний были проведены исследования для определения аналитического порога обнаружения с применением теста Хpert MTB/XDR и двух партий реагентов. Результат, положительный в отношении микобактерии туберкулеза (МБТ), основан на обнаружении одной единственной копии целевой последовательности *inhA*. Для верификации выбирали более высокий порог обнаружения, определенный пробит-анализом для штамма и для партии. Проверку утверждения об оцененном LoD выполняли с одной партией

реагентов на протяжении, как минимум, трех дней испытаний. Порог обнаружения был определен с применением репрезентативного образца комплекса МБТ — *Mycobacterium bovis* BCG (корова туберкулезная палочка, бактерия Кальмета-Герена), добавленного в МБТ-отрицательную необработанную мокроту и в МБТ-отрицательный концентрированный осадок мокроты.

Порог обнаружения — это наименьшая концентрация (регистрируемая в КОЕ/мл), воспроизводимо отличимая от отрицательных образцов с достоверностью $\geq 95\%$. Исследовали не менее 20 повторов при пяти — восьми концентрациях из двух разных партий реагентов на протяжении 3 дней; порог обнаружения определяли с применением пробит-анализа.

Для верификации выбирали более высокий порог обнаружения, определенный пробит-анализом для каждого образца и для партии. Проверку утверждения об оцененном LoD выполняли с одной партией реагентов на протяжении, как минимум, трех дней испытаний, основываясь, как минимум, на 19 из 20 положительных повторов. Точечные оценки порога обнаружения в КОЕ/мл приведены в Таблица 13.

Таблица 13. Аналитическая чувствительность (порог обнаружения)

Тип образца	Точечная оценка порога обнаружения, КОЕ/мл
Необработанная мокрота	136
Осадок	86

19.2 Аналитическая специфичность (эксклюзивность)

Аналитическая специфичность теста Xpert MTB/XDR оценивалась путем тестирования панели из 57 микроорганизмов, состоящих из 21 бактерии, 1 грибка, 7 вирусов и 28 нетуберкулезных микобактерий (НТМ), представляющих общие респираторные патогены или те, которые потенциально встречаются в дыхательных путях и (или) флоре ротоглотки. Три повтора каждого штамма бактерий и дрожжей были протестированы при концентрациях $\geq 1 \times 10^6$ КОЕ/мл. Все вирусы были протестированы при $\geq 1 \times 10^5$ (инфицирующая доза для тканевой культуры) TCID₅₀/мл. ДНК или РНК были протестированы на 2 бактериальных и 1 грибковом штаммах в концентрациях $\geq 10^6$ копий/мл, поскольку целых микроорганизмов не было в наличии или они не были доступны из-за ограничений биобезопасности. Три повтора каждого вируса были проанализированы при концентрациях $\geq 1 \times 10^5$ TCID₅₀/мл. Аналитическая специфичность составила 100%. Исследованные микроорганизмы перечислены в Табл. 1, Табл. 2 и Табл. 3. Ни один из протестированных микроорганизмов не продемонстрировал перекрестного взаимодействия с зондом для обнаружения МБТ, генерируя результат «МБТ НЕ ОБНАРУЖЕНА (MTB NOT DETECTED)» для всех микроорганизмов и для всех повторов. В таблицах ниже перечислены микроорганизмы, протестированные с целью анализа аналитической специфичности. *Aspergillus fumigatus* был проанализирован и не продемонстрировал влияния или перекрестного взаимодействия. Перекрестное взаимодействие с любыми другими видами грибка не очевидно при выполнении смоделированного анализа.

Таблица 14. Аналитическая специфичность Xpert MTB/XDR (бактериальный/грибковый)

Микроорганизм
<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Chlamydomypha 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>

Микроорганизм
<i>Acinetobacter baumannii</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 Геномная ДНК

Таблица 15. Аналитическая специфичность Хpert МТВ/ХDR (вирусов)

Микроорганизм
Coronavirus 229E
Метапневмовирус человека (hMPV) 16 тип А1
Вирус парагриппа тип 1
Вирус парагриппа тип 2
Вирус парагриппа тип 3
Респираторно-синцитиальный вирус
Rhinovirus 1A

Таблица 16. Аналитическая специфичность Хpert МТВ/ХDR (НТМ)

Микроорганизм
<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 goodii</i> (3 штамма. См. Таблица 20.)
<i>Mycobacterium genavense</i>
<i>Mycobacterium haemophilum</i>
<i>Mycobacterium mageritense</i>

Микроорганизм
<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 Аналитическая реактивность (инклюзивность)

Аналитическая реактивность (инклюзивность) теста Xpert MTB/XDR оценивалась с использованием филогенетически разнородной панели, состоящей из чувствительных и устойчивых к лекарствам штаммов МБТ с целью определения точности результатов анализа на чувствительность к лекарственным препаратам. Панель из 22 (двадцати двух) штаммов комплекса МБТ включала 8 (восемь) чувствительных к лекарственным препаратам штаммов с генами-мишенями дикого типа (Таблица 17) и 14 (четырнадцать) хорошо охарактеризованных лекарственно-устойчивых штаммов (Таблица 18). Все штаммы тестировали в трех экземплярах при концентрациях, равных или близких к 3-кратному значению порога обнаружения промотора-мишени *inhA*. Число копий, проанализированных для лизатов геномной ДНК, было основано на анализе связывания флуоресцентного красителя, специфичного для двухцепочечной ДНК (дцДНК).

Были протестированы штаммы, чувствительные к лекарственным препаратам; к ним относятся пять штаммов МБТ (AR2, GD139, AN1, HR36, H37Rv) и три вида микобактерий комплекса МБТ (*M. bovis*, *M. canetti* и *M. microti*). Штаммы МБТ были отобраны таким образом, чтобы широко представлять диапазон генетического разнообразия и включать по одному представителю от каждой из основных филогенетических линий на основе групп кластеров однонуклеотидных полиморфизмов²⁰.

Четырнадцать штаммов МБТ с лекарственной устойчивостью были протестированы с использованием лизатов геномной ДНК из хорошо охарактеризованных образцов, которые содержат 16 клинически значимых традиционных мутаций *s*, по крайней мере, одной из восьми областей, на которые направлен тест. Эти мутации обычно присутствуют по всему миру в штаммах МБТ с множественной или широкой лекарственной устойчивостью, за исключением мутации в гене *gyrB*.

В Таблица 17 представлены итоговые результаты с чувствительными к лекарственным препаратам штаммами. Эти показатели отображают количество правильных результатов для каждого из отдельных анализируемых веществ в тесте. Для всех компонентов панели был получен результат **«МБТ ОБНАРУЖЕНА (MTB DETECTED); УСТОЙЧИВОСТЬ НЕ ОБНАРУЖЕНА (RESISTANCE NOT DETECTED)»**. Тест Xpert MTB/XDR правильно идентифицировал все повторы штаммов, исследуемых близко к порогу обнаружения, с результатами для дикого типа для всех зондов, кроме *oxyR-ahpC*. Поскольку мишень *oxyR-ahpC* имеет более высокий порог обнаружения, чем другие мишени теста, некоторые протестированные повторы не дали результатов по температуре плавления.

Результаты в Таблица 18 показывают, что тест также правильно идентифицировал ожидаемые мутации устойчивости во всех 14 штаммах, устойчивых к изониазиду, с мутациями в промоторе *inhA*, интергенной области *katG* и *oxyR-ahpC*; устойчивость к инъекционным препаратам второй линии с мутациями *rrs* и промоторной области *eis*; и устойчивость к фторхинолону с мутациями в *gyrA*.

**Таблица 17. Аналитическая реактивность (инклюзивность)
для штаммов, чувствительных к лекарственным препаратам**

Образец	Линия штамма	inhA	katG	fabG1	oxyR-ahpC ^a	gyrA1	gyrA2	gyrA3	gyrB2	rrs	eis
(<i>M. bovis</i> (БЦЖ))	Не назначен	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	НЕ ПРОЙ-ДЕН (FAIL)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
<i>M. bovis</i>	Не назначен	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	НЕ ПРОЙ-ДЕН (FAIL)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
МБТ (AR2)	2	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
МБТ (GD139)	3	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
МБТ (AH1)	4	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
МБТ (HR36)	5	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
МБТ (HR37Rv)	4	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	НЕ ПРОЙ-ДЕН (FAIL)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
<i>M. canetti</i>	Не назначен	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	НЕ ПРОЙ-ДЕН (FAIL)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
<i>M. microti</i>	Не назначен	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)

^a Порог обнаружения для *oxyR-ahpC* выше, чем для *inhA*, используемого для определения положительного результата МБТ. Результат «ПРОЙДЕН (PASS)» указывает, что все протестированные повторы генерировали ожидаемую температуру плавления дикого типа; результат «НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)» указывает, что по меньшей мере один или несколько повторов не сгенерировали значений температуры плавления.

Таблица 18. Аналитическая реактивность (инклюзивность) для штаммов, устойчивых к лекарственным препаратам (количество положительных результатов/общее количество проанализированных образцов)

Идентификатор штамма	Ген	Ожидаемая мутация	МБТ обнаружена (MTB detected)	Обнаружена температура плавления мутантного зонда (количество положительных результатов/ количество проанализированных образцов)	Правильные результаты «УСТОЙЧИВОСТЬ ОБНАРУЖЕНА (RESISTANCE DETECTED)» (# положительный/ протестирован)
Клинический	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]
Клинический	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]
Клинический	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]
Клинический	gyrA	GCG 90 GTG, GAC 94 GGC	3/3	gyrA3-MutB (3/3)	FLQ [3/3]

Идентификатор штамма	Ген	Ожидаемая мутация	МБТ обнаружена (MTB detected)	Обнаружена температура плавления мутантного зонда (количество положительных результатов/ количество проанализированных образцов)	Правильные результаты «УСТОЙЧИВОСТЬ ОБНАРУЖЕНА (RESISTANCE DETECTED)» (# положительный/ протестирован)
	inhA	C -15 T		inhA-Mut (3/3)	INH [3/3]
	ahpC	G-6A		ahpC (2/3) ^b	INH [3/3]
Клинический	katG	AGC 315 ACC	3/3	katG Mut (3/3)	INH [3/3]
Клинический	gyrB2	ACC 539 AAC	3/3	gyrB2 WT ^c	*Устойчивость не обнаружена [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]
Клинический	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 В этом образце, содержащем три разные мутации гена *gyrA*, все три зонда *gyrA* не выявляют температуру плавления (Tm), характерную для мутаций, на постоянной основе. Однако, чтобы определение устойчивости считалось успешным, по крайней мере один зонд должен обнаружить температуру плавления, характерную для мутации. Успешным обнаружением для всех повторов считается ситуация, когда при тестировании хотя бы один зонд *gyrA* постоянно выявляет по крайней мере одну мутантную температуру плавления.
- ^b Этот образец является двойным мутантом *katG/ahpC*. Повтор с пропущенной мутантной температурой плавления *ahpC* был назван INH-R («устойчивый к изониазиду») из-за наличия мутации *katG*, которая была обнаружена данным тестом.
- ^c Эта специфическая мутация не обнаружена тестом. Однако существует ограниченное количество клинических доказательств того, что эта мутация может действительно способствовать устойчивости к фторхинолону (мутация с низкой достоверностью для устойчивости к фторхинолону).

19.4 Изучение субстанций, препятствующих проведению анализа

Функциональные характеристики теста Xpert MTB/XDR изучали в присутствии 35 потенциально влияющих на результат веществ, которые могут присутствовать в мокроте. Классы потенциально влияющих на результат веществ включают эндогенные вещества, которые могут присутствовать в образце, и экзогенные вещества, которые могут быть введены в образец. Изотонические или гипертонические растворы, бронхорасширяющие средства и ингаляционные бронхорасширяющие средства, обычно используемые при сборе индуцированной мокроты, были протестированы и было установлено, что они не влияют на результаты теста. Индукция солевым раствором может привести к недостаточному количеству восстановленных микроорганизмов и может повлиять на обнаружение *M. tuberculosis*.

Исследованные вещества с указанием их активных компонентов и концентраций перечислены в Таблица 19. Отрицательные образцы (n = 8) анализировали для каждой субстанции с целью определения влияния на функциональные характеристики контроля обработки образца (Sample Processing Control, SPC). Положительные образцы (n = 8) *Mycobacterium bovis*, *Bacille Calmette-Guerin (BCG)* с повышенным в 3 раза аналитическим порогом обнаружения на туберкулез анализировали для каждого вещества. Все вещества были протестированы на МБТ-отрицательном фоне смешанных образцов мокроты человека, включенной в это исследование. Все положительные и отрицательные повторы были правильно идентифицированы с помощью теста Xpert MTB/XDR, за исключением геля Zisam (50 % вес/объем; результат «МБТ НЕ ОБНАРУЖЕНА (MTB NOT DETECTED)» в 11,1 % протестированных повторов).

Таблица 19. Субстанции в тесте Xpert MTB/XDR, вероятно препятствующие проведению анализа

Субстанция/класс	Описание/ активный компонент	Концентрация, применявшаяся в анализе
Кровь (человеческая)	Кровь 5 % (по объему)	5 % по объему
Человеческая ДНК/клетки	Клеточная линия HELA 229	10 ⁶ клеток в 1 мл
Лейкоциты (человека)	Лейкоциты/материал гноя (30 % лейкоцитарная пленка; 30 % плазма; 40 % ФСБ) [^]	100 % (по объему)
Противогрибковое средство; антибиотик	Нистатин 500КУ (100 %)	20 % по объему
Бактерицидное средство для полоскания рта	Хлоргексидина глюконат (0,12 %) для полоскания ротовой полости, Фармакопоя США	20 % по объему
Реактивы для обработки образца	Цетилпиридина хлорид, 1 % в 2 % NaCl	0,5% по объему в 1 % NaCl
Реактивы для обработки образца	Цетилпиридина хлорид, 1 % в 2 % NALC	0,5% по объему в 1 % NALC
Реактивы для обработки образца	Цетилпиридина хлорид, 1 % в 2 % NALC и 25 мМ цитрата	0,5 % (по объему) в 1 % NALC с добавлением 12,5 мМ цитрата
Кислота желудочного сока	pH от 3 до 4, раствор в воде, нейтрализованный бикарбонатом натрия	100 % (по объему)
Анестетики (эндотрахеальная интубация)	Лидокаин HCl 4 %	4 % (по объему)
Растворы для распыления	NaCl 5% вес/объем	5 % масса/объем
Муцин	Муцин 5% вес/объем	5 % масса/объем
Антибактериальные средства, системные	Левофлоксацин 25 мг/мл	5 мг/мл
Интраназальные кортикостероиды	Флутиказон 500 мкг/спрей	5 мкг/мл;
Ингаляционные бронхорасширяющие средства	Альбутерола сульфат (2 мг/5 мл)	100 мкг/мл
Анестетики для полости рта	Орагель (20 % бензокаина)	5 % масса/объем
Противовирусные препараты	Ацикловир	50 мкг/мл
Антибиотиковая интраназальная мазь	Неоспорин (400 ед. бацитрацина, 3,5 мг неомицина, 5000 ед. полимиксина В)	5 % масса/объем
Табак	Никогель (40 % экстракт табака)	0,5 %
Противотуберкулезные препараты	Стрептомицин 1 мг/мл	25 мкг/мл
Противотуберкулезные препараты	Этамбутол 1 мг/мл	50 мкг/мл
Противотуберкулезные препараты	Изониазид 50 мг/5мл	50 мкг/мл

Субстанция/класс	Описание/ активный компонент	Концентрация, применявшаяся в анализе
Отхаркивающие средства для перорального применения	Гуайфенезин (400 мг/таблетка)	5 мг/мл
Противотуберкулезные препараты	Пиразинамид (500 мг/таблетка)	100 мкг/мл
Интраназальный гель (гомеопатический)	Гель Цикам	50 % вес/объем
		20 % (вес/объем)
Интраназальный спрей	Фенилэфрин, 1 %	0,5 % (по объему)
Противотуберкулезные препараты	Рифампицин (300 мг/таблетка)	25 мкг/мл
Средство для облегчения аллергии (гомеопатическое)	100 % чистое масло чайного дерева (<5% Cineole, >35 % терпинин-4-ол)	0,5 % (по объему)
Растворы для распыления	Пентамидин изетионат	300 нг/мл
Противотуберкулезные препараты	Амоксициллин	25 мкг/мл
Бронхорасширяющее средство	Адреналин	1 мг/мл
Противотуберкулезные препараты	Амикацин	70 мкг/мл
Противотуберкулезные препараты	Капреомицин	50 мкг/мл
Противотуберкулезные препараты	Канамицин	50 мкг/мл
Противотуберкулезные препараты	Этионамид	50 мкг/мл
Flu Mist Qual Nasal	Вакцина против вируса гриппа живая назальная	5%

19.5 Исследование контаминации продуктами предыдущей реакции

Было проведено исследование, чтобы продемонстрировать, что переходящая перекрестная контаминация не происходит при использовании одноразовых автономных картриджей Хpert МТВ/ХDR. Исследование заключалось в обработке отрицательного образца сразу после обработки *Mycobacterium bovis-Bacille Calmette-Guerin* (BCG) в высокой концентрации $1 \times 10^{+6}$ КОЕ/мл в образце мокроты человека в том же модуле Gene Хpert. Схема тестирования повторялась не менее 20 раз на двух модулях GeneХpert, всего было выполнено 41 цикл анализа (20 положительных и 21 отрицательных на 1 модуль).

Все 20 положительных образцов продемонстрировали правильные результаты: **МБТ ОБНАРУЖЕНА (MTB DETECTED)**; **устойчивость к INH НЕ ОБНАРУЖЕНА (INH Resistance NOT DETECTED)**; **устойчивость к FLQ НЕ ОБНАРУЖЕНА (FLQ Resistance NOT DETECTED)**; **устойчивость к АМК НЕ ОБНАРУЖЕНА (AMK Resistance NOT DETECTED)**; **устойчивость к KAN НЕ ОБНАРУЖЕНА (KAN Resistance NOT DETECTED)**; **устойчивость к CAP НЕ ОБНАРУЖЕНА (CAP Resistance NOT DETECTED)**; **устойчивость к ETH НЕ ОБНАРУЖЕНА (ETH Resistance NOT DETECTED)**. Во всех 21 отрицательных образцах получен правильный результат «**МБТ НЕ ОБНАРУЖЕНА (MTB NOT DETECTED)**». В условиях этого исследования не было никаких доказательств какой-либо переходящей контаминации при тестировании с высокоположительным образцом БЦЖ в концентрации $1,0 \times 10^{+6}$ КОЕ/мл.

19.6 Исследование конкурентной интерференции

Конкурентная интерференция теста, вызванная наличием высоких концентраций нетуберкулезных микобактерий (НТМ), в обнаружение низких уровней МБТ в тесте Xpert MTB/XDR оценивалась путем тестирования репрезентативного образца комплекса МБТ, БЦЖ при концентрации, равной ~ 3-кратному порогу обнаружения (411 КОЕ/мл) в присутствии различных штаммов НТМ при концентрации 1×10^6 КОЕ/мл на фоне буфера отрицательного контроля. Положительный результат МБТ основан на определении действительной высоты пика плавления промотора *inhA* и температуры пика плавления. Определение устойчивости основано на действительной высоте пика плавления мутантного типа и пика температуры плавления мутантного типа для отдельных анализируемых веществ (*inhA*, *katG*, *gyrA1*, *gyrA2*, *gyrA3*, *gyrB2* и *eis*). Анализируемые вещества *oxyR-ahpC* и *fabG1* были исключены из-за более низкой чувствительности, а *rrs* был исключен из-за известного взаимодействия с микрофлорой. Все образцы, содержащие БЦЖ, должны иметь следующие результаты: **«МБТ ОБНАРУЖЕНА (MTB DETECTED); устойчивость к INH НЕ ОБНАРУЖЕНА (INH Resistance NOT DETECTED); устойчивость к FLQ НЕ ОБНАРУЖЕНА (FLQ Resistance NOT DETECTED); устойчивость к АМК НЕ ОБНАРУЖЕНА (AMK Resistance NOT DETECTED); устойчивость к KAN НЕ ОБНАРУЖЕНА (KAN Resistance NOT DETECTED); устойчивость к CAP НЕ ОБНАРУЖЕНА (CAP Resistance NOT DETECTED); устойчивость к ETH НЕ ОБНАРУЖЕНА (ETH Resistance NOT DETECTED)»**.

Были протестированы четыре повтора конкурентной смеси НТМ/БЦЖ для каждого условия теста вместе с положительным контролем; при этом порог обнаружения БЦЖ был только трехкратным. Ни один из протестированных штаммов НТМ не помешал выявлению 411 КОЕ/мл БЦЖ и дал правильный результат, как указано выше. При этом в условиях данного исследования конкурентные ингибирующие эффекты наблюдались в присутствии только одного из двух протестированных штаммов *M. marinum* (ATCC 0927). Взаимодействие с зондами *gyrA2* наблюдалось только при концентрациях контрольного заражения $>10^4$ КОЕ/мл, что приводило к появлению результата «Устойчивость к фторхинолону НЕ ОПРЕДЕЛЕНА (FLQ resistance INDETERMINATE)» при этих высоких концентрациях контрольного заражения. Дополнительную информацию см. в Раздел 17. Ограничения.

Таблица 20. Конкурентная интерференция со стороны НТМ при выявлении МБТ и определении чувствительности к лекарственным препаратам

Условия тестирования/ идентификатор штамма НТМ	НТМ КОЕ/мл	МБТ обнаружена (MTB detected)	INH	FLQ	АМК	KAN	CAP	ETH
<i>MTB + M. avium</i> /(NJH)	10E+06	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
<i>MTB + M. gastri</i> / (ATCC 15754)	10E+06	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
<i>MTB + M. gordonae</i> /(NJH)	10E+06	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
<i>MTB + M. gordonae</i> / (ATCC 14470)	10E+06	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
<i>MTB + M. gordonae</i> / (ATCC 35760)	10E+06	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
<i>MTB + M. marinum</i> /(NJH)	10E+06	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
<i>MTB + M. marinum</i> / (ATCC 0927)	10E+06	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	НЕ ПРОЙ-ДЕН (FAIL)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)

Условия тестирования/идентификатор штамма НТМ	НТМ КОЕ/мл	МБТ обнаружена (MTB detected)	INH	FLQ	AMK	KAN	CAP	ETH
	10E+05	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	НЕ ПРОЙ-ДЕН (FAIL)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
	10E+04	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
	10E+03	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
<i>MTB + M.xenopi/</i> (ATCC 700084)	10E+06	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
<i>MTB + M.avium/</i> (ATCC 15769)	10E+06	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
<i>MTB + M.intracellulare/</i> (ATCC 35771)	10E+06	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
<i>MTB + M.abscessus/</i> (ATCC 19977)	10E+06	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)
<i>MTB + M.kansasii/</i> (ATCC 12478)	10E+06	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)	ПРОЙ-ДЕН (PASS)

«ПРОЙДЕН (PASS)» означает, что все протестированные повторы дали ожидаемый результат «УСТОЙЧИВОСТЬ НЕ ОБНАРУЖЕНА (RESISTANCE NOT DETECTED)» для соответствующих лекарственных препаратов;

результат «НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)» указывает, что по крайней мере один или несколько повторов дали результат «УСТОЙЧИВОСТЬ НЕОПРЕДЕЛЕННАЯ (RESISTANCE INDETERMINATE)» для конкретного лекарственного средства.

19.7 Эквивалентность образцов свежей и замороженной мокроты

Эквивалентность образцов свежей и замороженной мокроты с помощью теста Хpert MTB/XDR оценивали путем анализа клеток *M. bovis* – Bacillus Calmette-Guérin (BCG) на фоне смешанной необработанной МБТ-отрицательной мокроты при двух концентрациях, представляющих трехкратный порог обнаружения (400 КОЕ/мл) и 1000-кратный порог обнаружения ($1,3 \times 10^5$ КОЕ/мл). Повторные образцы в каждой концентрации замораживали и хранили при -80 °С, и по крайней мере 8 повторов размораживали и тестировали после хранения через 1 неделю, 2 недели, 1 месяц, 3 месяца, 6 месяцев и 9 месяцев. Результаты сравнивали с образцами необработанной мокроты с одинаковыми концентрациями, проанализированными в нулевой момент времени перед замораживанием.

На характеристики теста это не повлияло, и правильные результаты были получены для всех повторов, проанализированных при 3-кратном пороге обнаружения после хранения при температуре -80 °С через 2 недели, 3 месяца и 6 месяцев. Единственный повтор на 1-й неделе дал результат **«Неопределенная устойчивость к INH (INH-Resistance Indeterminate)»** из-за исключения зонда *katG*, и единственный повтор через 1 месяц привел к исключению *ahpC*, но для всех повторов через 3 и 6 месяцев наблюдались правильные результаты. Правильные результаты были получены через 9 месяцев при 3-кратном пороге обнаружения в 8 из 9 повторов (89 %). Никакого влияния на результаты теста не наблюдалось при хранении образцов мокроты с 1000-кратным порогом обнаружения при температуре -80 °С в каждый момент времени выполнения анализа в течение 9 месяцев. Результаты этого исследования подтверждают, что срок хранения необработанной мокроты в замороженном виде при -80 °С составляет до 6 месяцев.

19.8 Инактивация микобактерий в образцах мокроты

Дезинфицирующая способность реагента для образцов Хpert МТВ определялась с использованием стандартизированного метода выращивания туберкулоцидальной культуры.²¹ В образцы мокроты была внесена высокая концентрация жизнеспособных микроорганизмов *M. bovis*, смешанных с реагентом для образцов в соотношении 2:1 и проинкубированных в течение 15 минут. После инкубации смесь реагента для образцов и мокроты была нейтрализована путем разведения и фильтрации, и затем исследовалась культуральным методом. Жизнеспособность *M. bovis* из подготовленной таким образом мокроты была ниже не менее чем на 6 lg по сравнению с неподготовленным контрольным образцом.

Каждая лаборатория должна самостоятельно определять дезинфекционную эффективность реагента для образцов с применением собственных стандартизированных методов и следовать всем нормативным требованиям по биологической безопасности.

20 Прецизионность и воспроизводимость

Прецизионность и воспроизводимость Хpert МТВ/XDR теста были установлены в многоцентровом (три исследовательских центра) слепом исследовании с использованием многофакторной гнездовой выборки. Исследование проводилось на панели с пятью образцами, где каждый образец был подготовлен путем добавления дикого штамма МБТ (WT) и мутантного штамма МБТ (MUT) в искусственную среду мокроты. Дикие (WT) и мутантные (MUT) штаммы были получены из плазмид (инкапсулированных в инактивированных, химически зафиксированных *E. coli*), содержащих либо дикую последовательность МБТ с ШЛУ, либо мутантную последовательность для целевых генов.

Образцы панели были подготовлены с порогом обнаружения ~1 и ~3 при температуре плавления (T_m) целевого промотора *inhA* в тесте Хpert МТВ/XDR, который дает результат «МБТ ОБНАРУЖЕНА/МБТ НЕ ОБНАРУЖЕНА (MTB DETECTED/NOT DETECTED)» в зависимости от наличия или отсутствия температуры плавления, специфичной для дикого или мутантного промотора *inhA*. Тестирование проводилось в течение шести дней с использованием трех партий Хpert МТВ/XDR картриджей. В каждом из исследовательских центров два оператора (Оп.1 и Оп.2) каждый день выполняли по два теста, каждый с двумя повторами/циклами. Повтор выполнялся с одним картриджем. Данные о проценте совпадения для каждого образца панели представлены в Таблица 21.

Таблица 21. Процент совпадения теста Хpert МТВ/XDR для обнаружения МБТ и *inhA*

Образец	Центр 1			Центр 2			Центр 3			Общее совпадение на образец
	Оп 1	Оп 2	Промежуточный-итог	Оп 1	Оп 2	Промежуточный-итог	Оп 1	Оп 2	Промежуточный-итог	
MTB MUT 1xLoD	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)
MTB MUT 3xLoD	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)
MTB WT 1xLoD	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)
MTB WT 3xLoD	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)
ОТРИЦ	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)

Результаты Хpert МТВ/XDR теста на образцах немутантных и мутантных штаммов МБТ при низком (~1) и среднем (~3) пороге обнаружения для каждого целевого гена с обнаруженной МБТ представлены в Таблица 22.

Таблица 22. Процент совпадения для теста Хpert МТВ/ХDR на образцах мутатных и немутантных МБТ

Лекарственный препарат	Процент соответствия			
	МУТ МБТ 1x LoD (95% ДИ) [n совпавших/ всего n]	МУТ МБТ 3x LoD (95% ДИ) [n совпавших/ всего n]	НЕМУТ МБТ 1x LoD (95% ДИ) [n совпавших/ всего n]	НЕМУТ МБТ 3x LoD (95% ДИ) [n совпавших/ всего n]
INH	100,00 % (97,3–100) [139 из 139]	100,00 % (97,4–100,0) [143 из 143]	89,1 % (82,6–93,4) [115 из 129]	99,3 % (96,2–99,9) [143 из 144]
FLQ	87,80 % (81,3–92,2) [122 из 139]	100,00 % (97,4–100,0) [143 из 143]	81,4 % (73,8–87,2) [105 из 129]	95,8 % (91,2–98,1) [138 из 144]
ETH	100,00 % (97,3–100) [139 из 139]	100,00 % (97,4–100,0) [143 из 143]	99,2 % (95,7–99,9) [128 из 129]	100,0 % (97,4–100,0) [144 из 144]
AMK	100,00 % (97,3–100) [139 из 139]	100,00 % (97,4–100,0) [143 из 143]	91,5 % (85,4–95,2) [118 из 129]	98,6 % (95,1–99,6) [142 из 144]
CAP	99,30 % (96,3–99,0) [138 из 139]	100,00 % (97,4–100,0) [143 из 143]	98,4 % (94,5–99,6) [127 из 129]	99,3 % (96,2–99,9) [143 из 144]
KAN	100,00 % (97,3–100) [139 из 139]	100,00 % (97,4–100,0) [143 из 143]	91,5 % (85,4–95,2) [118 из 129]	98,6 % (95,1–99,6) [142 из 144]

21 Литература

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. Институт клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute) [панея — Национальный комитет по клиническим и лабораторным стандартам (National Committee for Clinical Laboratory Standards)]. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Документ M29 (см. последнюю редакцию).

8. Институт клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute) [ранее — Национальный комитет по клиническим и лабораторным стандартам (National Committee for Clinical Laboratory Standards)]. Laboratory Detection and Identification of Mycobacteria; Документ М48А (см. последнюю редакцию).
9. РЕГЛАМЕНТ (ЕС) № 1272/2008 ЕВРОПЕЙСКОГО ПАРЛАМЕНТА И СОВЕТА от 16 декабря 2008 г. о классификации, маркировке и упаковке веществ и смесей, изменяющий и отменяющий Директивы 67/548/ЕЭС и 1999/45/ЕС, и изменяющий Регламент (ЕС) № 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. Микобактериология общественного здравоохранения - Руководство для лаборатории уровня III, Центры контроля заболеваний, Атланта, публикация № 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. Электронная публикация, 8 ноября 2012 г. 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 Расположение штаб-квартиры корпорации Cephoid

Головной офис

Cephoid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Телефон: + 1 408 541 4191
Факс: + 1 408 541 4192
www.cephoid.com

Европейский офис

Cephoid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Телефон: + 33 563 825 300
Факс: + 33 563 825 301
www.cephoidinternational.com

23 Техническая поддержка

Прежде чем обращаться к нам

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cephoid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

США




















Телефон: + 1 888 838 3222
Электронный адрес: techsupport@cephoid.com

Франция

Телефон: + 33 563 825 319
Электронный адрес: support@cephoideurope.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Cephoid доступна на нашем веб-сайте: www.cephoid.com/en/support/contact-us

24 Таблица условных обозначений

Символ	Значение
	Номер по каталогу
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Маркировка CE – Европейское соответствие
	Не использовать повторно
	Код партии
	См. инструкцию по применению
	Производитель
	Содержит достаточное количество для <i>n</i> тестов
	Контроль
	Срок годности
	Температурные ограничения
	Биологические риски
	Предупреждение
	Легковоспламеняющиеся жидкости
	Разъедающее воздействие на кожу
	Токсичность для репродуктивных и других органов
	Страна производства
	Уполномоченный представитель в Швейцарии
	Импортер



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 История изменений

Раздел	Описание изменения
Таблица условных обозначений	В таблицу условных обозначений добавлены символы «CH REP» (Представитель в Швейцарии) и «Импортер», а также их определения. Добавлен символ «CH REP» (Представитель в Швейцарии) с адресом в Швейцарии.
История редакций документа	Обновлена таблица истории изменений.