

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

REF GXMTB/RIF-ULTRA-10

REF GXMTB/RIF-ULTRA-50

Uputstvo za upotrebu

IVD CE

Obaveštenja o zaštitnim znakovima, patentima i autorskom pravu

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2017–2023 Cepheid.

Cepheid[®], Cepheid logotip, GeneXpert[®] i Xpert[®] su zaštitni znakovi kompanije Cepheid, registrovani u SAD-u i drugim zemljama.

Svi ostali zaštitni znakovi su vlasništvo njihovih vlasnika.

KUPOVINA OVOG PROIZVODA PRENOSI KUPCU NEPRENOSIVO PRAVO DA GA KORISTI U SKLADU SA OVIM UPUTSTVOM ZA UPOTREBU. NIKAKVA DRUGA PRAVA SE NE PRENOSE IZRIČITO, IMPLIKACIJOM ILI ZABRANOM. ŠTAVIŠE, NIKAKVA PRAVA NA DALJU PRODAJU SE NE DOBIJAJU KUPOVINOM OVOG PROIZVODA.

© 2017–2023 Cepheid.

Za opis promena pogledajte Odeljak 21, Istoriju revizija.

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu

1 Vlasničko ime

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

2 Opšte prihvaćeni ili uobičajeni naziv

Xpert MTB/RIF Ultra

3 Predviđena upotreba

Xpert MTB/RIF Ultra test, koji se izvodi na GeneXpert[®] Instrument Systems je polukvantitativna, ugnežđena lančana reakcija polimeraze u realnom vremenu (PCR), *in vitro* dijagnostički test za detekciju *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) kompleksa DNK u neobrađenim uzorcima sputuma ili koncentrovanim sedimentima, pripremljenim iz indukovanog ili iskašljanog sputuma. U uzorcima u kojima je detektovan kompleks *Mycobacterium tuberculosis*, Xpert MTB/RIF Ultra test takođe može detektovati rezistenciju na rifampicin povezanu sa mutacijama na *rpoB* genu.

Xpert MTB/RIF Ultra test je namenjen za upotrebu na uzorcima pacijenata za koje postoji klinička sumnja na tuberkulozu (TB) i koji nisu primali antituberkuloznu terapiju ili su primali manje od 3 dana terapije u poslednjih 6 meseci. Test je namenjen kao pomoćno sredstvo u dijagnostici plućne tuberkuloze kad se koristi zajedno sa kliničkim i drugim laboratorijskim nalazima.

4 Sažetak i objašnjenje

Na globalnom nivou, oko 1,7 milijardi ljudi je inficirano sa MTB.¹ U 2018. godini, 10,0 miliona ljudi je razvilo aktivnu bolest, a 1,45 miliona ljudi je izgubilo živote usled ove bolesti.² Put prenošenja plućne TB je preko vazduha, što ovu bolest čini visoko prenosivom. S obzirom na prirodu plućne TB, brza i precizna dijagnoza je važan element lečenja i kontrole TB.

Lečenje uključuje produženu primenu više lekova i obično je vrlo efikasno. Međutim, sojevi *M. tuberculosis* mogu postati rezistentni na jedan ili više lekova, što značajno otežava izlečenje. Četiri uobičajena leka prve linije koji se koriste kao antituberkulozna terapija su izonijazid (INH), rifampicin (RIF), etambutol (EMB) i pirazinamid (PZA). Kako je dokumentovano od strane Svetske zdravstvene organizacije (World Health Organization), rezistencija na rifampicin se sama po sebi retko sreće i obično ukazuje na rezistenciju na brojne anti-TB lekove.³ Najčešće se viđa kod sojeva rezistentnih na više lekova (definisano kao rezistencija i na rifampicin i na izonijazid), a prijavljena učestalost je veća od 95% u takvim izolatima.^{4,5,6} Rezistencija na rifampicin ili na druge lekove prve linije obično ukazuje na potrebu za kompletnim testiranjem osetljivosti, uključujući testiranje na agense druge linije.

Molekularna detekcija mutacija TB i *rpoB* gena povezanih sa rezistencijom na rifampicin značajno smanjuje vreme do postavljanja dijagnoze kako tuberkuloze osetljive na lekove, tako i tuberkuloze rezistentne na više lekova. Pomoću Xpert MTB/RIF Ultra testa, ovo se može postići u uzorcima neobrađenog sputuma i pripremljenim sedimentima za manje od 80 minuta. Brza detekcija MTB i rezistencije na rifampicin omogućava lekaru da u toku samo jedne posete donese ključne odluke o daljem tretmanu pacijenta.

5 Princip postupka

GeneXpert Instrument Systems integriše i automatizuje obradu uzoraka, amplifikaciju nukleinske kiseline i detekciju ciljnih sekvenci u jednostavnim ili složenim uzorcima pomoću PCR analize u realnom vremenu i detekcije pika topljenja. Sistem se sastoji od instrumenta, ličnog računara, bar-kod skenera i unapred instaliranog softvera za izvođenje testova na uzorcima pacijenata i pregled rezultata. Sistem zahteva upotrebu GeneXpert patrona za jednokratnu upotrebu koje sadrže PCR reagens i koje su domaćini PCR procesa. Kako su patrone samostalne, unakrsna kontaminacija između uzoraka je svedena na minimum. Za potpun opis sistema, pogledajte *GeneXpert Dx System Operator Manual*, *GeneXpert Edge System User's Guide* ili *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Xpert MTB/RIF Ultra test uključuje reagens za detekciju MTB i RIF rezistencije i kontrolu obrade uzorka (SPC), radi kontrole odgovarajuće obrade ciljanih bakterija i nadgledanja prisustva inhibitora u PCR reakciji, kao i posledičnu detekciju pika topljenja. Kontrola provere probe (PCC) potvrđuje rehidraciju reagensa, punjenje PCR epruvete u patroni, integritet probe i stabilnost boje.

Prajmeri u Xpert MTB/RIF Ultra testu amplifikuju deo *rpoB* gena koji sadrži region „jezgra” na 81. paru baze i delove više kopija *IS1081* i *IS6110* elemenata insercije ciljanih sekvenci. Analiza topljenja pomoću četiri *rpoB* probe može diferencirati konzerviranu sekvencu divljeg tipa i mutacije u regionu jezgra koje su povezane sa RIF rezistencijom. Dva elementa insercije proba poboljšavaju detekciju *Mycobacterium tuberculosis* kompleksa zbog više kopija elemenata insercije ciljanih sekvenci u većini TB sojeva.

6 Reagensi i instrumenti

6.1 Priloženi materijali

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

Xpert MTB/RIF Ultra Patrone sa integrisanim reakcionim epruvetama	10 po kompletu	50 po kompletu
<ul style="list-style-type: none"> Zrno 1 i zrno 2 (osušeno zamrzavanjem) Zrno 3 (osušeno zamrzavanjem) Reagens 1 Reagens 2 	2 od svakog po patroni 1 od svake po patroni 4 ml po patroni 4 ml po patroni	2 od svakog po patroni 1 od svake po patroni 4 ml po patroni 4 ml po patroni
Bočice sa reagensom za uzorke	10	50
<ul style="list-style-type: none"> Reagens za uzorke 	8 ml po bočici	8 ml po bočici
Jednokratne pipete za prenos	12 po kompletu	60 po kompletu
CD	1 po kompletu	1 po kompletu
<ul style="list-style-type: none"> Datoteke za definiciju analize (ADF) Uputstva za uvoz ADF-a u softver Uputstvo za upotrebu (uputstvo u pakovanju) 		

Напомена Uzorak reagensa (SR) može biti bezbojan do žut i do boje jantara. Boja se može pojačati s vremenom, ali boja nema uticaja na performanse.

Напомена Listovi sa bezbednosnim podacima (SDS) su dostupni na www.cepheid.com ili www.cepheidinternational.com na kartici **PODRŠKA (SUPPORT)**.

Напомена Goveđi serumski albumin (BSA) u zrnima ovog proizvoda napravljen je i proizveden isključivo od goveđe plazme poreklom iz Sjedinjenih Država. Životinjama nije davan nijedan protein preživara ili drugi proteini životinjskog porekla; životinje su prošle ante- i post-mortem testiranje. Tokom obrade nije bilo mešanja materijala sa drugim životinjskim materijalima.

Напомена Prenosne pipete imaju jednu oznaku koja predstavlja minimalnu količinu tretiranog uzorka neophodnu za prenošenje u uložak. Koristite samo u ovu svrhu. Sve ostale pipete mora obezbediti laboratorija.

6.2 Skladištenje i rukovanje

- Čuvajte patrone Xpert MTB/RIF Ultra testa na 2–28°C.
- Nemojte otvarati poklopac patrone dok niste spremni za testiranje.
- Nemojte koristiti reagensne i patrone kojima je istekao rok trajanja.

7 Materijali koji su potrebni, ali nisu obezbeđeni

- GeneXpert Dx System, GeneXpert Infinity System ili GeneXpert Edge System (kataloški broj se razlikuje u zavisnosti od konfiguracije): GeneXpert instrument, računar sa vlasničkim GeneXpert softverom verzije 4.7b ili novijom (GeneXpert Dx System), Xpertise™ verzijom 6.4b ili novijom (GeneXpert Infinity System), GeneXpert Edge softverom verzije 1.0 (GeneXpert Edge System), skener bar-kodova i uputstvo za operatera.
- Štampač: Ako je štampač neophodan, obratite se predstavniku prodaje kompanije Cepheid da dogovorite kupovinu preporučenog štampača.
- Sterilni kontejneri za prikupljanje sa poklopcem sa navojima i otporni na curenje
- Jednokratne rukavice
- Nalepnice i/ili neizbrisivi marker za obeležavanje
- Sterilne pipete za obradu uzoraka




8 Upozorenja, mere predostrožnosti i opasnosti od hemikalija

8.1 Upozorenja i mere predostrožnosti

- Tretirajte sve biološke uzorke, uključujući i korišćene patrone, kao da mogu da prenesu infektivne agense. Kako često nije moguće znati šta bi moglo biti infektivno, prema svim biološkim uzorcima se treba odnositi u skladu sa standardnim merama predostrožnosti. Smernice za rukovanje uzorcima dostupne su u američkim Centrima za kontrolu i prevenciju bolesti⁷ i Institutu za kliničke i laboratorijske standarde.⁸
- Nosite zaštitne rukavice za jednokratnu upotrebu, laboratorijske mantile i zaštitu za oči prilikom rukovanja uzorcima i reagensima. Operite ruke temeljno nakon rukovanja uzorcima i test reagensima.
- Pridržavajte se sigurnosnih procedura vaše ustanove za rad sa hemikalijama i rukovanje biološkim uzorcima.
- Nemojte zamenjivati reagensne za Xpert MTB/RIF Ultra test sa drugim reagensima.
- Ne otvarajte poklopac patrone Xpert MTB/RIF Ultra testa, osim kada dodajete tretirani uzorak.
- Nemojte koristiti patronu koja je pala nakon što ste je izvadili iz kompleta.
- Nemojte koristiti patronu koja vam je ispala ili koja je protrešena, ili čiji je sadržaj proliven nakon dodavanja tretiranog uzorka. Protresanje ili ispuštanje patrone nakon otvaranja poklopca može dati netačne ili nedefinisane rezultate.
- Nemojte postavljati nalepnicu za ID uzorka na poklopac patrone ili na nalepnicu sa bar-kodom.
- Ne koristite patronu ako se čini da je mokra ili ako se čini da je zaptivka poklopca polomljena.
- Nemojte koristiti patronu čija je reakciona epruveta oštećena.
- Kada obrađujete više uzoraka istovremeno, otvorite samo jednu patronu; dodajte uzorak tretiran reagensom za uzorke i zatvorite poklopac patrone pre obrade sledećeg uzorka. Menjajte rukavice između uzoraka.
- Svaka patrona Xpert MTB/RIF Ultra testa se koristi za obradu jednog testa. Nemojte ponovo koristiti obrađene patrone.
- Treba slediti Dobru laboratorijsku praksu i promeniti rukavice nakon svakog rukovanja uzorkom pacijenta kako bi se izbegla kontaminacija uzoraka ili reagenasa. Redovno čistite radne površine/područja 10% izbeljivačem i nakon toga ponovo obrišite površinu 70% etanolom ili izopropil alkoholom pre i nakon obrade uzoraka.
- Biološke uzorke, sredstva za prenos i iskorišćene patrone treba smatrati sposobnim za prenos infektivnih agenasa i zahtevaju standardne mere predostrožnosti. Pridržavajte se procedura za pravilno odlaganje iskorišćenih patrona i neiskorišćenih reagenasa u vašoj ustanovi. Ovi materijali mogu imati karakteristike hemijski opasnog otpada i zahtevaju posebne nacionalne ili regionalne procedure za odlaganje. Ako nacionalni ili regionalni propisi ne daju jasne smernice o pravilnom odlaganju, biološke uzorke i iskorišćene patrone treba odlagati prema smernicama WHO (SZO, Svetska zdravstvena organizacija) za rukovanje i odlaganje medicinskog otpada.

8.2 Opasnosti od hemikalija^{9,10}

Reagens za uzorke

- Sadrži izopropil alkohol
- Sadrži natrijum-hidroksid
- Signalna reč: OPASNOST
- Piktogrami opasnosti prema Globalno harmonizovanom sistemu za klasifikaciju i obeležavanje UN (UN GHS):  


Obaveštenja o opasnosti prema Globalno harmonizovanom sistemu za klasifikaciju i obeležavanje UN (UN GHS)

- Zapaljiva tečnost i para
- Izaziva teške opekotine kože i oštećenje oka.
- Izaziva ozbiljno oštećenje oka.
- Sumnja se da izaziva genetske defekte.
- Postoji sumnja da oštećuje fertilitet ili nerođeno dete.
- Može da izazove oštećenja organa kroz prolongirano ili višekratno izlaganje.

Obaveštenja o merama predostrožnosti

Prevenција

- Pre upotrebe potražite posebno uputstvo.
- Nemojte rukovati proizvodom pre nego što pročitate i razumete sve bezbednosne mere predostrožnosti.
- Držite dalje od toplote, varnica, otvorenog plamena i/ili vrelih površina. Zabranjeno pušenje.
- Držite ambalažu čvrsto zatvorenom.
- Nemojte udisati izmaglicu, paru i/ili sprej.
- Temeljno oprati nakon rukovanja.
- Nosite zaštitne rukavice/zaštitnu odeću/zaštitu za oči/zaštitu za lice.
- Po potrebi koristite ličnu zaštitnu opremu.

Reagovanje

- U slučaju požara: Koristiti odgovarajuće sredstvo za gašenje požara.
- AKO SE UDAHNE: Izvesti žrtvu na svež vazduh i staviti je da miruje u položaju koji je ugodan za disanje.
- Pozovite odmah CENTAR ZA KONTROLU TROVANJA ili se obratite doktoru/lekaru.
- U DODIRU SA KOŽOM (ili kosom): Odmah skinuti svu kontaminiranu odeću. Isprati kožu vodom / istuširati se.
- Operite kontaminiranu odeću pre ponovne upotrebe.
- Za specifično lečenje pogledajte dodatak sa informacijama o merama prve pomoći.
- AKO DOSPE U OČI: Pažljivo ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktna sočiva, ukoliko postoje i ukoliko je to moguće učiniti. Nastaviti sa ispiranjem.
- AKO SE PROGUTA: Isperite usta. NEMOJTE izazivati povraćanje.
- AKO ste izloženi ili vas brine da ste izloženi: Potražiti medicinski savet/mišljenje.
- Potražite savet/pomoć lekara ako se ne osećate dobro.

Skладиštenje/odlaganje

- Odlagati sadržaj i/ili kontejner u skladu sa lokalnim, regionalnim, nacionalnim i/ili internacionalnim propisima.

9 Prikupljanje, transport i skladištenje uzorka

Prikupljanje uzorka

Pratite protokol vaše ustanove za prikupljanje uzorka.

Prikupite sputum ili aerosoli sputuma sledeći standardne procedure vaše ustanove. Testirajte neobrađeni sputum ili koncentrovani/dekontaminirani sediment sputuma. Pogledajte tabelu u nastavku da biste odredili odgovarajuću zapreminu uzorka.

Tabela 1. Potrebna zapremina uzorka

Vrsta uzoraka	Minimalna zapremina za jedan test	Maksimalna zapremina uzorka	Odnos uzorka i reagensa za uzorke (SR)
Sediment sputuma	0,5 ml	2,5 ml	1,3 ^a
Neobrađeni sputum	1 ml	4,0 ml	1:2

^a Treba koristiti odnos 1:2 za uzorak i SR sa zapreminom uzorka od 0,7 ml ili većom za jedan test.

Skladištenje i transport

Sediment sputuma: Čuvajte ponovno suspenzovani sediment na temperaturi od 2 – 8°C do sedam dana.

Neobrađeni sputum: Transportujte i skladištite sputum na 2 – 8 °C pre obrade kad god je moguće. Ukoliko je potrebno, neobrađeni uzorci sputuma se mogu skladištiti na maksimalno 35 °C do tri dana, a zatim na 2 – 8 °C dodatnih sedam dana.

10 Postupak analize

10.1 Postupak za dekontaminirane, koncentrovane sedimente sputuma

Напомена Odbijte uzorke sa očiglednim prisustvom delića hrane ili drugim čvrstim česticama.

Potrebna zapremina: Sedimenti sputuma pripremljeni u skladu sa metodom Kent i Kubica¹¹, koji su ponovo suspenzovani u 67 mmol fosfatnom/H₂O puferu), mogu biti testirani pomoću Xpert MTB/RIF Ultra testa. Nakon ponovne suspenzije, sačuvajte najmanje 0,5 ml ponovno suspenzovanog sedimenta za Xpert MTB/RIF Ultra test. Za sve zapremine manje od 0,7 ml, obavite korake 1–6. Ovi koraci zahtevaju 3 dela reagensa za uzorke (SR) za 1 deo sedimenta kako bi se dobila odgovarajuća zapremina (~2 ml) za optimalne performanse analize.

Ako je zapremina uzorka jednaka ili veća od 0,7 ml, odgovarajuća zapremina za test može se dobiti dodavanjem 2 dela SR 1 delu sedimenta. U ovom primeru od 1,4 ml SR, treba dodati 0,7 ml sedimenta. Ova zapremine se skaliraju u odnosu 2 dela SR prema 1 delu sedimenta.

- Ostavite patronu da dostigne sobnu temperaturu. Obeležite svaku patronu Xpert MTB/RIF Ultra testa ID-om uzorka. Pogledajte Slika 1.

Напомена Napišite na strani patrone ili zalepite ID oznaku. Nemojte postavljati oznaku na poklopac patrone ili preko postojećeg 2D bar-koda na patroni.

- Promešajte sediment u vorteks mešalici, ili koristite pipetu kako biste aspirirali i izbacili materijal dovoljno puta i time obezbedili da su svi mikroorganizmi u suspenziji.
- Prenesite 0,5 ml ukupnog, ponovno suspenzovanog peleta u konusnu epruvetu sa poklopcem sa navojima za Xpert MTB/RIF Ultra test, pomoću pipete za prenos.

Напомена Čuvajte ponovno suspenzovane sedimente na temperaturi od 2 do 8°C, ukoliko se ne obrađuju odmah. Nemojte pokretati Xpert MTB/RIF Ultra test na ponovno suspenzovanom sedimentu koji je bio u frižideru > 7 dana.

- Prenesite 1,5 ml Xpert MTB/RIF Ultra reagensa za uzorke (SR) u 0,5 ml ponovno suspenzovanog sedimenta pomoću pipete za prenos. Čvrsto zategnite poklopac.
- Snažno protresite 10 do 20 puta ili promešajte u vorteks mešalici u trajanju od najmanje 10 sekundi.

Напомена Jedan pokret napred–nazad je jedno protresanje.

- Inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, a zatim snažno protresite uzorak 10 do 20 puta, ili promešajte u vorteks mešalici u trajanju od najmanje 10 sekundi.
- Inkubirajte uzorak na sobnoj temperaturi dodatnih 5 minuta.

10.2 Postupak za neobrađeni sputum

Potrebna zapremina: potrebno je ≥ 1 ml neobrađenog sputuma.

1. Ostavite patronu da dostigne sobnu temperaturu. Obeležite svaku patronu Xpert MTB/RIF Ultra testa ID-om uzorka. Pogledajte Slika 1.

Напомена Napišite na strani patrone ili zalepite ID oznaku. Nemojte postavljati oznaku na poklopac patrone ili preko postojećeg 2D bar-koda na patroni.



Slika 1. Pisanje na patroni pomoću permanentnog markera

2. Nakon prijema uzorka u kontejneru za prikupljanje sputuma koji je otporan na curenje, pažljivo otvorite poklopac kontejnera za prikupljanje sputuma i pregledajte sadržaj, kako biste se uverili da nema čestica hrane i drugih čvrstih čestica.

Напомена Odbijte uzorke sa očiglednim prisustvom delića hrane ili drugim čvrstim česticama.



Slika 2. Otvaranje kontejnera za uzorke

3. Sipajte približno dvostruku zapreminu SR u sputum (razblaženje 2:1, SR:sputum).

Напомена Bacite preostali SR i bočicu u kontejner za hemijski otpad.



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



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

4. Zamenite i osigurajte poklopac. Snažno protresite 10 do 20 puta ili promešajte u vorteks mešalici u trajanju od najmanje 10 sekundi.

Напомена Jedan pokret napred–nazad je jedno protresanje.

5. Inkubirajte uzorak na sobnoj temperaturi 10 minuta.
6. Snažno protresite uzorak 10 do 20 puta ili promešajte u vorteks mešalici u trajanju od najmanje 10 sekundi. Inkubirajte uzorak na sobnoj temperaturi dodatnih 5 minuta.

Напомена Obezbedite da uzorak u potpunosti bude u tečnom stanju. Ako uzorak nije u tečnom stanju, ponovite ovaj korak.

10.3 Priprema patrone

Напомена

Započnite test u roku od 4 sata od dodavanja uzorka u patronu kada koristite GeneXpert Dx System ili GeneXpert Edge System. Kad je uzorak dodat u patronu, patrona treba da ostane na sobnoj temperaturi pre započinjanja testa unutar četiri sata. Ako koristite GeneXpert Infinity System, obavezno započnite test i postavite patronu na transporter u roku od 30 minuta od dodavanja uzorka tretiranog reagensom za uzorke u patronu. Preostali rok upotrebe prati Xpertise softver, tako da se testovi započinju pre isteka roka od 4 sata na instrumentu.

1. Otvorite poklopac patrone i otvorite kontejner za uzorke.
2. Pomoću priložene pipete za prenos, aspirirajte tečni uzorak do malo iznad linije na pipeti. Pogledajte Slika 5. Nemojte dalje obrađivati uzorak ako nema dovoljno zapremine.



Slika 5. Aspiriranje do linije na pipeti

3. Prenesite uzorak u komoru za uzorke Xpert MTB/RIF Ultra patrone. Polako dozirajte uzorak kako biste rizik od formiranja aerosoli sveli na minimum. Pogledajte Slika 6.



Slika 6. Doziranje dekontaminiranog tečnog uzorka u komoru za uzorke patrone

- Čvrsto zatvorite poklopac patrone. Preostali tečni uzorak se može čuvati do 4 sata na temperaturi od 2 do 8°C u slučaju da je potrebno ponovno testiranje.

11 Pokretanje testa

- Za , pogledajte Odeljak 11.1.
- Za , pogledajte Odeljak 11.2.
- Za , pogledajte Odeljak 11.3.

11.1 GeneXpert Dx System

11.1.1 Započinjanje testa

Pre nego što započnete test, uverite se da:

- Важно**
- Na sistemu radi ispravna verzija GeneXpert Dx softvera prikazana u odeljku Materijali koji su potrebni, ali nisu obezbeđeni.
 - Uverite se da je u softver uvezena odgovarajuća datoteka definicije testa.

Ovaj odeljak navodi osnovne korake za započinjanje testa. Za detaljna uputstva, pogledajte *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Напомена Koraci koje pratite mogu se razlikovati ako je administrator sistema promenio podrazumevani tok rada sistema.

- Uključite GeneXpert Dx System, zatim uključite računar i prijavite se. GeneXpert softver će se automatski pokrenuti. Ako do toga ne dođe, dvaput kliknite na ikonu prečice za GeneXpert Dx softver na Windows® radnoj površini.
- Prijavite se pomoću vašeg korisničkog imena i lozinke.
- U prozoru **GeneXpert Dx System**, kliknite na **Kreiraj test (Create Test)**. Prikazuje se prozor **Kreiraj test (Create Test)**. Otvara se okvir za dijalog **Skeniraj bar-kod za ID pacijenta (Scan Patient ID barcode)**.

4. Skenirajte ili ukucajte ID pacijenta (Patient ID). Ako unosite ID pacijenta (Patient ID), pobrinite se da ID pacijenta (Patient ID) bude tačno upisan. ID pacijenta je povezan sa rezultatima testa i prikazuje se u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** i u svim izveštajima. Otvara se okvir za dijalog **Skeniraj bar-kod za ID uzorka (Scan Sample ID barcode)**.
5. Skenirajte ili unesite ID uzorka (Sample ID). Ako unosite ID uzorka (Sample ID), pobrinite se da ID uzorka (Sample ID) bude tačno unet. ID uzorka je povezan sa rezultatima testa i prikazuje se u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** i u svim izveštajima. Otvara se okvir za dijalog **Skeniraj bar-kod patrone (Scan Cartridge barcode)**.
6. Skenirajte bar-kod na patroni. Korišćenjem informacija sa bar-koda, softver automatski popunjava sledeća polja: Izbor testa (Select Assay), ID serije reagensa (Reagent Lot ID), serijski broj patrone (Cartridge SN) i datum isteka roka (Expiration Date).

Напомена

Ako se bar-kod na patroni ne skenira, ponovite test sa novom patronom. Ako ste skenirali bar-kod patrone u softveru i datoteka za definiciju testa nije dostupna, pojavice se ekran koji pokazuje da datoteka za definiciju testa nije učitana u sistem. Ako se pojavi ovaj ekran, obratite se tehničkoj podršci kompanije Cepheid.

7. Kliknite na **Pokreni test (Start Test)**. U okviru za dijalog koji se pojavljuje, ukucajte lozinku, ako je potrebno.
8. Otvorite vrata modula instrumenta na kojima trepće zeleno svetlo i ubacite patronu.
9. Zatvorite vrata. Test započinje i zeleno svetlo prestaje da trepće.
Kada je test završen, svetlo se gasi.
10. Sačekajte dok sistem ne otpusti bravu vrata pre nego što otvorite vrata modula, a zatim izvadite patronu.
11. Bacite korišćene patrone u odgovarajuće kontejnere za otpad uzoraka u skladu sa standardnom praksom vaše ustanove.

11.1.2 Prikazivanje i štampanje rezultata

Ovaj odeljak navodi osnovne korake za prikazivanje i štampanje rezultata. Za detaljnija uputstva o prikazivanju i štampanju rezultata, pogledajte *GeneXpert Dx sistemski priručnik za operatera*.

1. Kliknite na ikonu **Prikaz rezultata (View Results)** da pregledate rezultate.
2. Po završetku testa, kliknite na dugme **Izveštaj (Report)** u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** da biste pogledali i/ili generisali PDF datoteku izveštaja.

11.2 GeneXpert Edge System

(Možda neće biti dostupno u svim zemljama)

11.2.1 Pokretanje novog testa

Dodatni test se može započeti nakon što je prvi u toku.

1. Dodirnite dugme **POČETNA STRANA (HOME)**.
Ekran **Početna strana (Home)** prikazuje modul koji je u upotrebi u blago sivoj boji sa naznakom da je prikupljanje podataka u toku.
2. Dodirnite dugme **POKRENI NOVI TEST (RUN NEW TEST)** i nastavite sa novim testom prateći korake u Započinjanje testa.
3. Nakon što je drugi test u toku, pritisnite dugme **POČETNA STRANA (HOME)**.
Pojavljuje se status oba testa. Kada se test završi, tekst ikone će se promeniti u **Prikupljanje podataka završeno (Data collection complete)** i na ikoni će se pojaviti znak kvačice.
4. Dodirnite ikonu **Prikupljanje podataka završeno (Data collection complete)** da bi se prikazao ekran **Uklonite patronu (Remove Cartridge)**. Sledite uputstva na ekranu da biste uklonili patronu.

11.2.2 Prikazivanje i štampanje rezultata

Ovaj odeljak navodi osnovne korake za prikazivanje i štampanje rezultata. Za detaljnija uputstva o tome kako pregledati i odštampati rezultate, pogledajte *GeneXpert Edge System User's Guide*.

Напомена

Ako izveštavate o rezultatima koji koriste LIS, potvrdite da se LIS rezultati podudaraju sa sistemskim rezultatima za polje ID pacijenta; ako su rezultati neusaglašeni, izveštite samo o sistemskim rezultatima.

1. Dodirnite dugme **PREGLEDAJTE PRETHODNE TESTOVE (VIEW PREVIOUS TESTS)**, na ekranu **Početna strana (Home)**.
2. Na ekranu **Izaberi test (Select Test)**, izaberite test dodirivanjem naziva testa ili pomoću strelica za odabir testa.

11.3 GeneXpert Infinity System

11.3.1 Započinjanje testa

Pre nego što započnete test, uverite se da:

- Важно**
- Na sistemu radi ispravna verzija Xpertise softvera prikazana u odeljku Materijali koji su potrebni, ali nisu obezbeđeni.
 - Uverite se da je u softver uvezena odgovarajuća datoteka definicije testa.

Ovaj odeljak navodi osnovne korake za započinjanje testa. Za detaljna uputstva, pogledajte *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Напомена Koraci koje pratite mogu se razlikovati ako je administrator sistema promenio podrazumevani tok rada sistema.

1. Uključite instrument. Xpertise softver će se pokrenuti automatski. Ako do toga ne dođe, dvaput kliknite na ikonu prečice za Xpertise softver na Windows® radnoj površini.
2. Prijavite se na računar, zatim se prijavite na GeneXpert Xpertise softver pomoću vašeg korisničkog imena i lozinke.
3. U radnom prostoru **Početna strana za Xpertise softver (Xpertise Software Home)** kliknite na **Nalozi (Orders)** i u radnom prostoru **Nalozi (Orders)** kliknite na **Nalog za test (Order Test)**. Pojavljuje se radni prostor **Nalog za test - ID pacijenta (Order Test - Patient ID)**.
4. Skenirajte ili ukucajte ID pacijenta (Patient ID). Ako unosite ID pacijenta (Patient ID), pobrinite se da ID pacijenta (Patient ID) bude tačno upisan. ID pacijenta je povezan sa rezultatima testa i prikazuje se u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** i u svim izveštajima.
5. Unesite sve dodatne informacije potrebne za vašu ustanovu, a zatim kliknite na dugme **NASTAVI (CONTINUE)**. Pojavljuje se radni prostor **Nalog za test - ID uzorka (Order Test - Sample ID)**.
6. Skenirajte ili unesite ID uzorka (Sample ID). Ako unosite ID uzorka (Sample ID), pobrinite se da ID uzorka (Sample ID) bude tačno unet. ID uzorka je povezan sa rezultatima testa i prikazuje se u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** i u svim izveštajima.
7. Kliknite na dugme **NASTAVI (CONTINUE)**. Pojavljuje se radni prostor **Nalog za test - Test (Order Test - Assay)**.
8. Skenirajte bar-kod na patroni. Korišćenjem informacija sa bar-koda, softver automatski popunjava sledeća polja: Izbor testa (Select Assay), ID serije reagensa (Reagent Lot ID), serijski broj patrone (Cartridge SN) i datum isteka roka (Expiration Date).

Напомена Ako se bar-kod na patroni ne skenira, ponovite test sa novom patronom. Ako ste skenirali bar-kod patrone u softveru i datoteka za definiciju testa nije dostupna, pojavice se ekran koji pokazuje da datoteka za definiciju testa nije učitana u sistem. Ako se pojavi ovaj ekran, obratite se tehničkoj podršci kompanije Cepheid.

Nakon skeniranja patrone pojavljuje se radni prostor **Nalog za test - Informacije o testu (Order Test - Test Information)**.

9. Potvrdite da su informacije tačne a zatim kliknite na **Proslediti (Submit)**. U okviru za dijalog koji se pojavljuje, ukucajte lozinku, ako je potrebno.
10. Postavite patronu na pokretnu traku. Patrona će se automatski ubaciti, test će se pokrenuti, a iskorišćena patrona će biti postavljena u kontejner za otpad.

11.3.2 Prikazivanje i štampanje rezultata

Ovaj odeljak navodi osnovne korake za prikazivanje i štampanje rezultata. Za detaljnija uputstva o tome kako pregledati i odštampati rezultate, pogledajte *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. U radnom prostoru **Početna strana za Xpertise softver (Xpertise Software Home)**, kliknite na ikonu **REZULTATI (RESULTS)**. Prikazuje se meni Rezultati.

- U meniju Rezultati, izaberite dugme **PRIKAZ REZULTATA (VIEW RESULTS)**. Prikazuje se radni prostor **Prikaz rezultata (View Results)** koji prikazuje rezultate testa.
- Kliknite na dugme **IZVEŠTAJ (REPORT)** da biste pogledali i/ili generisali PDF datoteku izveštaja.

12 Kontrola kvaliteta

Svaki test uključuje kontrolu obrade uzorka (SPC) i kontrolu provere probe (PCC).

Kontrola obrade uzoraka (SPC)

Osigurava da je uzorak pravilno obrađen. SPC sadrži neinfektivne spore u obliku kolača sa suvim sporama koji je uključen u svaku patronu, kako bi se potvrdila odgovarajuća obrada MTB. SPC potvrđuje da se liza MTB dogodila ako su mikroorganizmi prisutni i potvrđuje da je obrada uzorka odgovarajuća. Pored toga, ova kontrola detektuje inhibiciju PCR analize u realnom vremenu povezanu sa uzorkom.

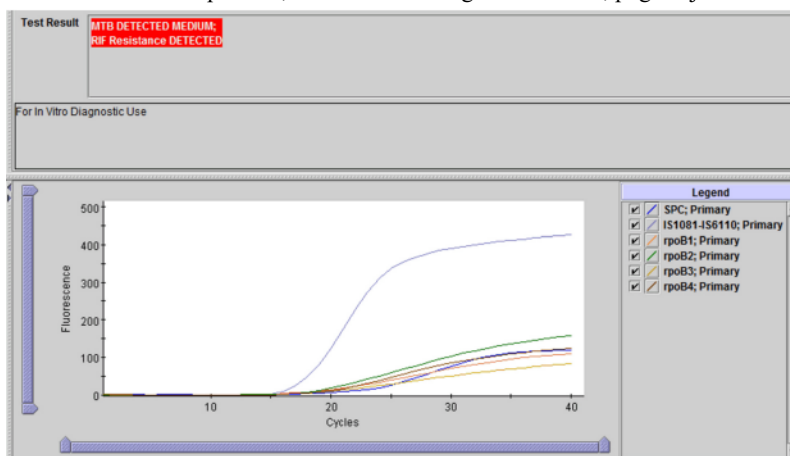
SPC treba da bude pozitivna u negativnom uzorku, a može biti negativna ili pozitivna u pozitivnom uzorku. SPC je uspešna ako su ispunjeni kriterijumi prihvatljivosti. Test će biti Nevažeci (Invalid) ako SPC nije detektovana u negativnom testu.

Kontrola provere probe (PCC)

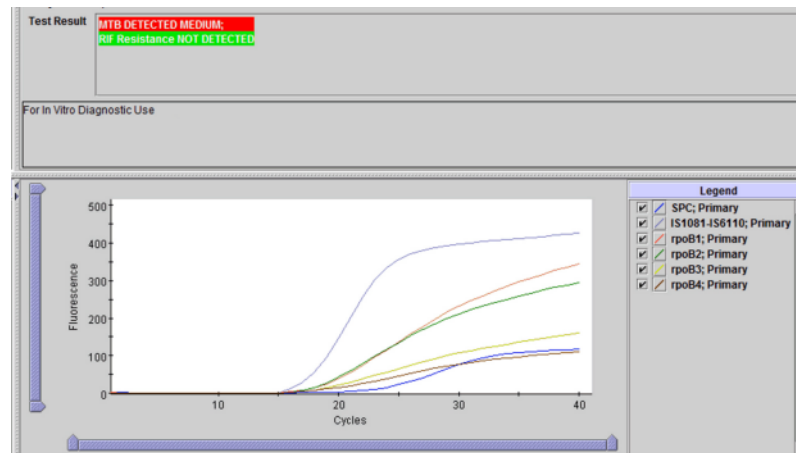
Pre početka PCR reakcije, Xpert MTB/RIF Ultra test meri fluorescentni signal sa proba kako bi nadgledao rehidraciju zrna, punjenje reakcione epruvete, integritet probe i stabilnost boje. PCC je uspešna ako ispunjava dodeljene kriterijume prihvatljivosti.

13 Tumačenje rezultata

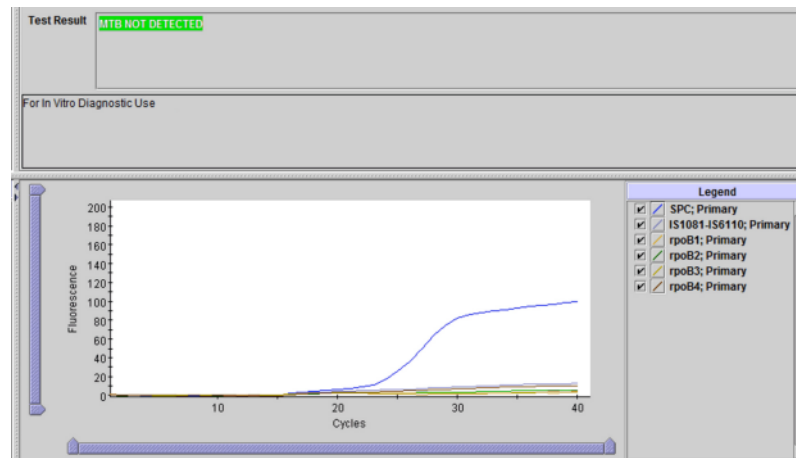
GeneXpert sistem instrumenata generiše rezultate iz izmerenih fluorescentnih signala i ugrađenih algoritama za izračunavanje. Rezultati se mogu videti u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)**. Pogledajte Slika 7, Slika 8, Slika 9, Slika 10, Slika 11 i Slika 12 za konkretne primere, a za listu svih mogućih rezultata, pogledajte Tabela 3.



Slika 7. MTB UMERENO DETEKTOVAN; RIF rezistencija DETEKTOVANA (GeneXpert Dx detaljni korisnički prikaz)



Slika 8. MTB UMERENO DETEKTOVAN; RIF rezistencija NIJE DETEKTOVANA (GeneXpert Dx detaljni korisnički prikaz)



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

Patient/Sample ID 6319-2PUHPILOT020	Cartridge S/N 681696130
Assay Xpert MTB-RIF Ultra	
Result MTB DETECTED LOW; RIF Resistance DETECTED	Start Time 11/06/19 13:11:15
	User Name <None>
	Test Disclaimer For In Vitro Diagnostic Use Only.

Slika 10. MTB NISKO DETEKTOVAN; RIF rezistencija DETEKTOVANA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance DETECTED) (GeneXpert Edge)

Patient/Sample ID 2PUHPILOT06	Cartridge S/N 681696113
Assay Xpert MTB-RIF Ultra	
Result MTB DETECTED LOW; RIF Resistance NOT DETECTED	Start Time 07/06/19 10:02:55
	User Name <None>
	Test Disclaimer For In Vitro Diagnostic Use Only.

Slika 11. MTB NISKO DETEKTOVAN; RIF rezistencija NIJE DETEKTOVANA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance NOT DETECTED) (GeneXpert Edge)

Patient/Sample ID 2PUHPILOT05	Cartridge S/N 681696136
Assay Xpert MTB-RIF Ultra	
Result MTB NOT DETECTED	Start Time 24/05/19 10:39:43
	User Name <None>
	Test Disclaimer For In Vitro Diagnostic Use Only.

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

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

Rezultat	Tumačenje
MTB VISOKO DETEKTOVAN; RIF rezistencija DEKTEKTOVANA (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance DETECTED)	<p>MTB cilj je prisutan u uzorku:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mutacija u ciljanoj sekvenci <i>rpoB</i> gena je detektovana. • SPC: NP (nije primenjivo) (NA (not applicable)). SPC signal nije potreban jer MTB amplifikacija može biti kompetitivna sa ovom kontrolom. • Provera probe: USPEŠNO (PASS). Svi rezultati provere probe su uspešni.
MTB UMERENO DEKTEKTOVAN; RIF rezistencija DEKTEKTOVANA (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance DETECTED)	
MTB NISKO DEKTEKTOVAN; RIF rezistencija DEKTEKTOVANA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance DETECTED)	
MTB VRLO NISKO DEKTEKTOVAN; RIF rezistencija DEKTEKTOVANA (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance DETECTED)	
MTB VISOKO DEKTEKTOVAN; RIF rezistencija NIJE DEKTEKTOVANA (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance NOT DETECTED)	<p>MTB cilj je prisutan u uzorku:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nijedna mutacija u ciljanoj sekvenci <i>rpoB</i> gena nije detektovana. • SPC: NP (nije primenjivo) (NA (not applicable)). SPC signal nije potreban jer MTB amplifikacija može biti kompetitivna sa ovom kontrolom. • Provera probe: USPEŠNO (PASS). Svi rezultati provere probe su uspešni.
MTB UMERENO DEKTEKTOVAN; RIF rezistencija NIJE DEKTEKTOVANA (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance NOT DETECTED)	
MTB NISKO DEKTEKTOVAN; RIF rezistencija NIJE DEKTEKTOVANA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance NOT DETECTED)	
MTB VRLO NISKO DEKTEKTOVAN; RIF rezistencija NIJE DEKTEKTOVANA (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance NOT DETECTED)	

Rezultat	Tumačenje
MTB VISOKO DETEKTOVAN; RIF rezistencija NEODREĐENA (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance INDETERMINATE)	MTB cilj je prisutan u uzorku: <ul style="list-style-type: none"> • RIF rezistencija nije mogla biti određena zbog nevažćih pikova topljenja. • SPC: NP (nije primenjivo) (NA (not applicable)). SPC signal nije potreban jer MTB amplifikacija može biti kompetitivna sa ovom kontrolom. • Provera probe: USPEŠNO (PASS). Svi rezultati provere probe su uspešni.
MTB UMERENO DETEKTOVAN; RIF rezistencija NEODREĐENA (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance INDETERMINATE)	
MTB NISKO DETEKTOVAN; RIF rezistencija NEODREĐENA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance INDETERMINATE)	
MTB VRLO NISKO DETEKTOVAN; RIF rezistencija NEODREĐENA (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance INDETERMINATE)	
MTB trag DETEKTOVAN; RIF rezistencija NEODREĐENA (MTB Trace DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)	MTB cilj je prisutan u uzorku: <ul style="list-style-type: none"> • RIF rezistencija ne može biti određena zbog nedovoljne detekcije signala. • SPC: NP (nije primenjivo) (NA (not applicable)). SPC signal nije potreban jer MTB amplifikacija može biti kompetitivna sa ovom kontrolom. • Provera probe: USPEŠNO (PASS). Svi rezultati provere probe su uspešni.
MTB NIJE DETEKTOVAN (MTB NOT DETECTED)	MTB cilj nije detektovan u uzorku: <ul style="list-style-type: none"> • SPC: USPEŠNO (PASS). SPC je ispunila kriterijume prihvatljivosti. • Provera probe: USPEŠNO (PASS). Svi rezultati provere probe su uspešni.
NEVAŽĆI (INVALID)	Prisustvo ili odsustvo MTB ne može biti određeno. SPC ne ispunjava kriterijume prihvatljivosti, uzorak nije pravilno obrađen, ili je PCR inhibirana. Ponovite test. Pogledajte odeljak Postupak za ponavljanje testa u ovom dokumentu. <ul style="list-style-type: none"> • MTB NEVAŽĆE (INVALID): Prisustvo ili odsustvo MTB DNK ne može biti određeno. • SPC: NEUSPEŠNO (FAIL). MTB ciljani rezultat je negativan, a SPC Ct nije u važećem opsegu. • Provera probe: USPEŠNO (PASS). Svi rezultati provere probe su uspešni.

Rezultat	Tumačenje
GREŠKA (ERROR)	<p>Prisustvo ili odsustvo MTB ne može biti određeno. Ponovite test. Pogledajte odeljak Postupak za ponavljanje testa u ovom dokumentu.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MTB: NEMA REZULTATA (NO RESULT) • SPC: NEMA REZULTATA (NO RESULT) • Provera probe: NEUSPEŠNO (FAIL). Svi ili jedan od rezultata provere probe je neuspešan.
	<p>Напомена Ako je provera probe uspešna, greška je nastala usled kvara komponente sistema.</p>
NEMA REZULTATA (NO RESULT)	<p>Prisustvo ili odsustvo MTB ne može biti određeno. Ponovite test. Pogledajte odeljak Postupak za ponavljanje testa u ovom dokumentu. NEMA REZULTATA (NO RESULT) znači da nije prikupljeno dovoljno podataka. Na primer, operater je zaustavio test dok je on bio u toku.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MTB: NEMA REZULTATA (NO RESULT) • SPC: NEMA REZULTATA (NO RESULT) • Provera probe: NP (nije primenjivo) (NA (not applicable))

Tabela 3. Xpert MTB/RIF Ultra: Svi mogući rezultati

TB rezultati (TB Results)	RIF rezultati (RIF Results)
MTB VISOKO DETEKTOVAN (MTB DETECTED HIGH)	RIF rezistencija DETEKTOVANA (RIF Resistance DETECTED)
MTB VISOKO DETEKTOVAN (MTB DETECTED HIGH)	RIF rezistencija NIJE DETEKTOVANA (RIF Resistance NOT DETECTED)
MTB VISOKO DETEKTOVAN (MTB DETECTED HIGH)	RIF rezistencija NEODREĐENA (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB UMERENO DETEKTOVAN (MTB DETECTED MEDIUM)	RIF rezistencija DETEKTOVANA (RIF Resistance DETECTED)
MTB UMERENO DETEKTOVAN (MTB DETECTED MEDIUM)	RIF rezistencija NIJE DETEKTOVANA (RIF Resistance NOT DETECTED)
MTB UMERENO DETEKTOVAN (MTB DETECTED MEDIUM)	RIF rezistencija NEODREĐENA (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB NISKO DETEKTOVAN (MTB DETECTED LOW)	RIF rezistencija DETEKTOVANA (RIF Resistance DETECTED)
MTB NISKO DETEKTOVAN (MTB DETECTED LOW)	RIF rezistencija NIJE DETEKTOVANA (RIF Resistance NOT DETECTED)
MTB NISKO DETEKTOVAN (MTB DETECTED LOW)	RIF rezistencija NEODREĐENA (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB VRLO NISKO DETEKTOVAN (MTB DETECTED VERY LOW)	RIF rezistencija DETEKTOVANA (RIF Resistance DETECTED)
MTB VRLO NISKO DETEKTOVAN (MTB DETECTED VERY LOW)	RIF rezistencija NIJE DETEKTOVANA (RIF Resistance NOT DETECTED)
MTB VRLO NISKO DETEKTOVAN (MTB DETECTED VERY LOW)	RIF rezistencija NEODREĐENA (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB trag (MTB Trace) ^a DETEKTOVANO	RIF rezistencija NEODREĐENA (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB NIJE DETEKTOVAN (MTB NOT DETECTED)	

TB rezultati (TB Results)	RIF rezultati (RIF Results)
NEVAŽEĆI (INVALID)	
GREŠKA (ERROR)	
NEMA REZULTATA (NO RESULT)	

^a Rezultat u tragu znači da su detektovani niski nivoi MTB, ali nije detektovan rezultat RIF rezistencije. Ovo se dešava zbog povećane osetljivosti detekcije TB pomoću više kopija ciljeva IS6110 i IS1081 što je u suprotnosti sa detekcijom RIF rezistencije pomoću jedne kopije *rpoB* gena. Zbog toga rezultat RIF rezistencije ili osetljivosti ne može biti određen u tragu uzorka. Trag uzorka je uvek **RIF rezistencija NEODREĐENA (RIF Resistance INDETERMINATE)**.

13.1 Razlozi za ponavljanje analize

Ponovite test pomoću nove patrone ako se javi neki od sledećih rezultata testa.

- **NEVAŽEĆI (INVALID)** rezultat ukazuje na neuspeh SPC. Uzorak nije pravilno obrađen ili je PCR inhibiran.
- Rezultat **GREŠKA (ERROR)** ukazuje na to da je PCC neuspešna i da je analiza obustavljena, moguće usled nepravilnog punjenja reakcione epruvete, ili je detektovan problem sa integritetom reagensa probe, ili jer su prekoračena maksimalna ograničenja za pritisak, ili je GeneXpert modul neuspešan.
- **NEMA REZULTATA (NO RESULT)** znači da nije prikupljeno dovoljno podataka. Na primer, operater je zaustavio test dok je on bio u toku.

13.2 Postupak ponovnog testiranja

Ako imate preostali sveži sputum ili rekonstituisani sediment, uvek koristite novi SR za dekontaminaciju i prevođenje sputuma ili sedimenta u tačno stanje pre pokretanja analize. Pogledajte Odeljak 10 ili Postupak za neobrađeni sputum.

Ako imate dovoljno preostalog SR-tretiranog uzorka koji je još uvek u vremenskom ograničenju od 4 sata od početnog dodavanja SR u uzorak, možete koristiti preostali uzorak za pripremu i obradu nove patrone. Prilikom ponovnog testiranja, uvek koristite novu patronu i odmah započnite test. Pogledajte Odeljak 10.3.

14 Ograničenja

Zbog toga što detekcija MTB zavisi od broja mikroorganizama prisutnih u uzorku, pouzdani rezultati zavise od pravilnog prikupljanja uzorka, rukovanja i čuvanja. Pogrešni rezultati testa se mogu dogoditi usled nepravilnog prikupljanja, rukovanja i skladištenja uzorka, tehničke greške, zamene uzorka ili nedovoljne koncentracije početnog materijala. Da bi se izbegli pogrešni rezultati, neophodno je pažljivo poštovanje uputstava u uputstvu za upotrebu.

Oni pojedinci sa rezultatima **MTB trag DETEKTOVAN (MTB Trace DETECTED)** mogu zahtevati dalje kliničke informacije i razmatranje njihovog kliničkog konteksta u smislu odluka o lečenju TB u nekim okruženjima.

Pozitivan rezultat testa ne ukazuje nužno na prisustvo vijabilnih mikroorganizama. Međutim, pretpostavlja se prisustvo MTB i rezistencije na rifampicin.

Mutacije ili polimorfizmi u regionima vezivanja prajmera ili probe mogu uticati na detekciju novih ili nepoznatih MDR-MTB ili sojeva rezistentnih na rifampicin, što može dovesti do lažno rifampicin osetljivog rezultata.

Učinkovitost Xpert MTB/RIF Ultra testa nije procenjena kod pacijenata mlađih od osamnaest godina.

Xpert MTB/RIF Ultra test ne pruža potvrdu osetljivosti na rifampicin, jer mogu postojati mehanizmi rezistencije na rifampicin, osim onih koje ovo medicinsko sredstvo detektuje, što može biti povezano sa nedostatkom kliničkog odgovora na lečenje.

Uzorci koji imaju i DNK MTB-kompleksa i mutacije *rpoB* gena povezane sa rezistencijom na rifampicin koje detektuje Xpert MTB/RIF Ultra test, treba razmotriti za dodatno testiranje na osetljivost na lekove.

Učinkovitost Xpert MTB/RIF Ultra testa zavisi od spretnosti operatera i poštovanja postupaka analize. Greške u postupku analize mogu dati lažno pozitivne ili lažno negativne rezultate. Svi operateri na uređaju moraju imati odgovarajuću obuku na uređaju.

15 Kliničke performanse

15.1 Koncept kliničke studije

Karakteristike performanse Xpert MTB/RIF Ultra testa procenjene su za detekciju MTB-kompleksa DNK i detekciju RIF-rezistencije povezane sa mutacijama u uzorcima sputuma u odnosu na rezultate iz kulture (čvrsti i/ili tečni medijum), odnosno testiranje osetljivosti na lek (DST). Ova multicentrična studija koristila je prospektivne i arhivirane direktne (sirove) uzorke sputuma ili sedimente sputuma, prikupljene od ispitanika starosti 18 ili više godina. Ispitanici su uključivali one sa sumnjom na plućnu TB bez lečenja TB ili sa manje od 3 dana lečenja unutar 6 meseci od početka studije (sumnja na TB), kao i prethodno lečene TB ispitanike za koje se sumnjalo da su rezistentni na više TB lekova (MDR TB ispitanici). Studija je sprovedena širom sveta (Belorusija, Brazil, Kina, Gruzija, Nemačka, Indija, Italija, Kenija, Peru, Južna Afrika, Uganda, Vijetnam i Sjedinjene Države). Osetljivost i specifičnost Xpert MTB/RIF Ultra testa za MTB detekciju su procenjene pomoću podataka samo od ispitanika sa sumnjom na TB; dok su podaci od ispitanika sa sumnjom na MDR TB bili kombinovani kako bi se procenila učinkovitost RIF rezistencije.

Uzorci su dobijeni od studijskih ispitanika, 61% muškog pola (n=1111), 35% ženskog pola (n=648); 4% (n=76) je bilo nepoznatog pola. Poticali su iz različitih geografskih regiona: 12% (n=217) je bilo iz SAD-a (Kalifornija, Njujork i Florida) i 88% (n=1618) je bilo iz zemalja van SAD-a (Belorusija, Brazil, Kina, Gruzija, Nemačka, Indija, Italija, Južna Afrika, Kenija, Peru, Vijetnam i Uganda). Od 1835 uzoraka, 1228 uzoraka je bilo prospektivno prikupljeno, a 607 je bilo iz banki zamrznutih arhiviranih uzoraka.

15.2 Xpert MTB/RIF Ultra Učinkovitost testa naspram MTB kulture

Za upotrebu u kliničkoj studiji, od svakog studijskog ispitanika prikupljeno je do tri uzorka sputuma. Za prospektivne uzorke, prvi uzorak sputuma je testiran pomoću Xpert MTB/RIF Ultra testa, a druga dva uzorka su korišćena za TB kulturu. Za arhivirane uzorke, rezultati kulture bili su dostupni iz metode standardne nege, a Xpert MTB/RIF Ultra test je izveden pomoću prvog uzorka sa dovoljno zapremine. Ako je rezultat analize bio neodređen, (**GREŠKA (ERROR), NEVAŽEĆI (INVALID) ili NEMA REZULTATA (NO RESULT)**), uzorak je bio ponovo testiran ako je bilo dovoljno zapremine. Sveukupno, 1,0% testiranih uzoraka odgovarajućih ispitanika (19/1854; 95% CI: 0,7, 1,6) bili su neodređeni. Status razmaza acidnog brzog bacila (AFB) za ispitanika određen je bojenjem razmaza fluorescentnim auraminom-O (AO) ili Ziehl-Neelsen (ZN) bojenjem za uzorak sa odgovarajućim rezultatom Xpert MTB/RIF Ultra testa. Status MTB kulture za sve ispitanike definisan je na osnovu rezultata MTB kulture svih uzoraka prikupljenih unutar perioda od sedam dana za tog ispitanika.

Učinkovitost Xpert MTB/RIF Ultra testa za detekciju MTB u odnosu na MTB kulturu, stratifikovano po AFB statusu razmaza, prikazana je u tabeli u nastavku. Osetljivost u pozitivnim i negativnim uzorcima razmaza bila je 99,5% (426/428), 95% CI: 98,3, 99,9, odnosno 73,3% (200/273), 95% CI: 67,7, 78,2. Sveukupna specifičnost Xpert MTB/RIF Ultra testa bez obzira na AFB razmaz, bila je 95,5% (1222/1280), 95% CI: 94,2, 96,5. Pogledajte tabele u nastavku.

Tabela 4. Xpert MTB/RIF Ultra Učinkovitost testa naspram MTB kulture

		Razmaz/Kultura				
		Pozitivno			Negativno	Ukupno
		AFB razmaz +	AFB razmaz -	Sveukupna kultura +	Sveukupna kultura -	
Xpert MTB/ RIF Ultra	MTB DETEKTOVAN (MTB DETECTED)	426	200	630 ^a	58	688
	MTB NIJE DETEKTOVAN (MTB NOT DETECTED)	2	73	75	1222	1297
	Ukupno	428	273	705	1280	1985

	Razmaz/Kultura				Ukupno
	Pozitivno			Negativno	
	AFB razmaz +	AFB razmaz -	Sveukupna kultura +	Sveukupna kultura -	
Učinkovitost u pozitivnom razmazu: Osetljivost: 99,5% (426/428), 95% CI: 98,3, 99,9 Učinkovitost u negativnom razmazu: Osetljivost: 73,3% (200/273), 95% CI: 67,7, 78,2 Sveukupna učinkovitost: Osetljivost: 89,4% (630/705), 95% CI: 86,9, 91,4 Specifičnost: 95,5% (1222/1280), 95% CI: 94,2, 96,5					

^a Rezultati razmaza nisu bili dostupni za 4 pozitivna uzorka kulture.

Učinkovitost Xpert MTB/RIF Ultra testa za detekciju MTB u odnosu na MTB kulturu, stratifikovano po centrima van SAD-a naspram centara u SAD-u, prikazana je u tabeli u nastavku. Među 1985 uzoraka, bilo je 1768 uzoraka iz centara van SAD-a i 217 iz centara u SAD-u.

Tabela 5. Xpert MTB/RIF Ultra test naspram MTB kulture po centrima van SAD-a naspram centara u SAD-u

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

^a Rezultati razmaza nisu bili dostupni za 4 pozitivna uzorka kulture.

15.3 Učinkovitost Xpert MTB/RIF Ultra testa naspram kulture po tipu razmaza

Učinkovitost Xpert MTB/RIF Ultra testa za detekciju MTB, određena je u odnosu na MTB kulturu u uzorcima sa AFB razmazom dobijenim po AO i ZN. Rezultati su prikazani u tabeli u nastavku. Među 1985 uzoraka, bilo je 1810 uzoraka sa AO razmazima i 175 sa ZN razmazima.

Tabela 6. Učinkovitost Xpert MTB/RIF Ultra testa naspram MTB kulture prema auramin O (AO) i Ziehl-Neelsen (ZN) metodama bojenja

	Auramin O metoda		Ziehl-Neelsen metoda	
	N	Procenat (95% CI)	N	Procenat (95% CI)
Osetljivost poz. razmaza	386/388	99,5% (98,1, 99,9)	40/40	100% (91,2, 100)
Osetljivost neg. razmaza	153/219	69,9% (63,5, 75,6)	47/54	87,0% (75,6, 93,6)
Sveukupna osetljivost	543/611 ^a	88,9% (86,1, 91,1)	87/94	92,6% (85,4, 96,3)
Sveukupna specifičnost	1145/1199	95,5% (94,2, 96,5)	77/81	95,1% (88,0, 98,1)

^a Rezultati razmaza nisu bili dostupni za 4 pozitivna uzorka kulture.

15.4 Učinkovitost Xpert MTB/RIF Ultra testa naspram kulture po tipu uzorka

Učinkovitost Xpert MTB/RIF Ultra testa za detekciju MTB bila je određena u odnosu na MTB kulturu u neobrađenom sputumu i koncentrovanim uzorcima sedimenta sputuma. Rezultati su prikazani u tabeli u nastavku. Među 1985 uzoraka, bilo je 1543 uzorka neobrađenog sputuma i 442 koncentrovana uzorka sedimenta sputuma.

Tabela 7. Xpert MTB/RIF Ultra test naspram MTB kulture po tipu uzorka

	Direktni sputum		Sedimenti sputuma	
	N	% (95% CI)	N	% (95% CI)
Osetljivost poz. razmaza	323/324	99,7% (98,3, 99,9)	103/104	99,0% (94,8, 99,8)
Osetljivost neg. razmaza	168/229	73,4% (67,3, 78,7)	32/44	72,7% (58,2, 83,7)
Sveukupna osetljivost	495/557 ^a	88,9% (86,0, 91,2)	135/148	91,2% (85,6, 94,8)
Sveukupna specifičnost	937/986	95,0% (93,5, 96,2)	285/294	96,9% (94,3, 98,4)

^a Rezultati razmaza nisu bili dostupni za 4 pozitivna uzorka kulture.

15.5 Učinkovitost Xpert MTB/RIF Ultra testa naspram testiranja osetljivosti lekova na RIF

MTB izolati pozitivne kulture testirani su na osetljivost na lek (DST) rifampicin pomoću metode proporcije agara sa Middlebrook ili Lowenstein-Jensen medijumom, Thermo Scientific Sensititre™ Mycobacterium tuberculosis MIC preparatom ili BD BACTEC™ MGIT™ 960 SIRE analizom. Učinkovitost Xpert MTB/RIF Ultra testa za detekciju mutacija povezanih sa RIF rezistencijom, određena je u odnosu na DST rezultate izolata MTB kulture.

Rezultati za detekciju mutacija povezanih sa RIF rezistencijom, prijavljeni su pomoću Xpert MTB/RIF Ultra testa samo kad je sekvenca *rpoB* gena MTB-kompleksa bila detektovana od strane uređaja. Učinkovitost RIF osetljivosti/rezistencije, prijavljena je u tabeli u nastavku. Uzorci sa DST koji nisu obrađeni, **MTB NIJE DETEKTOVAN (MTB NOT DETECTED)** i **MTB DETEKTOVAN; RIF rezistencija NEODREĐENA (MTB DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)**, bili su isključeni iz analize. Šezdeset tri (63) od 67 uzoraka sa RIF neodređenim rezultatima bilo je **MTB trag DETEKTOVAN; RIF rezistencija NEODREĐENA (MTB Trace DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)**.

Tabela 8. Učinkovitost Xpert MTB/RIF Ultra testa naspram DST

Test osetljivosti na lekove				
		RIF rezistentno	RIF osetljivo	Ukupno
Xpert MTB/ RIF Ultra	MTB DETEKTOVAN; RIF rezistencija DETEKTOVANA (MTB DETECTED; RIF Resistance DETECTED)	128	12 ^a	140
	MTB DETEKTOVAN; RIF rezistencija NIJE DETEKTOVANA (MTB DETECTED; RIF Resistance NOT DETECTED)	5 ^b	314	319
	Ukupno	133	326	459
		Osetljivost: 96,2% (128/133), 95% CI: 91,5, 98,4 Specifičnost: 96,3% (314/326), 95% CI: 93,7, 97,9		

^a Nepodudarni rezultati sekvencioniranja: 11 od 12 RIF rezistentno, 1 od 12 nije dostupan.

^b Nepodudarni rezultati sekvencioniranja: 4 od 5 RIF osetljivo, 1 od 5 nije dostupan.

15.6 Učinkovitost Xpert MTB/RIF Ultra testa naspram Xpert MTB/RIF analize

Testirano je hiljadu petsto devedeset četiri (1594) uzoraka pomoću Xpert MTB/RIF Ultra testa i Xpert MTB/RIF analize. Ukupan procenat poklapanja između analiza bio je 96,5% [(1538/1594) 95% CI: 95,5, 97,3]. Procenat pozitivnog poklapanja i procenat negativnog poklapanja bio je 99,2% [(491/495) 95% CI: 97,9, 99,7], odnosno 95,3% [(1047/1099) 95% CI: 93,8, 96,4].

15.7 Reproducibilnost

Reproducibilnost Xpert MTB/RIF Ultratesta je procenjena u tri centra pomoću panela uzoraka koji su se sastojali od MTB sojeva osetljivih na rifampicin i rezistentnih sojeva. MTB pozitivni uzorci su pripremljeni u simulisanom matriksu sputuma pri niskim (~1X LoD) i umerenim (2-3X LoD) koncentracijama. Bio je uključen i član negativnog panela koji se sastojao od simulisanog matriksa sputuma. Panel od pet uzoraka testiran je u toku šest različitih dana od strane dva različita operatera, dva puta dnevno u svakom od tri centra (240 testova u svakom od centara = 2 operatera x 6 dana x 2 replikata x 2 kompletna ciklusa po danu). U studiji su korišćene tri serije kompleta reagenasa Xpert MTB/RIF Ultra testova. Procenat poklapanja za svakog člana panela predstavljen je po centru u Tabela 9.

Tabela 9. Sažetak rezultata reproducibilnosti – Poklapanje po studijskom centru/instrumentu

Uzorak	Centar 1 (GeneXpert Dx)	Centar 2 (GeneXpert Dx)	Centar 3 (Infinity-90)	% ukupnog poklapanja po uzorku
Negativno	98% (47/48)	100% (48/48)	100% (48/48)	99,3% (143/144)
MTB nisko pozitivno, RIF rezistentno	96% (46/48)	96% (46/48)	98% (47/48)	96,5% (139/144)
MTB umereno pozitivno, RIF rezistentno	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (144/144)
MTB nisko pozitivno, RIF osetljivo	100% (48/48)	100% (48/48)	98% (47/48)	99,3% (143/144)
MTB umereno pozitivno, RIF osetljivo	100% (47/47)	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (143/143)

Reproducibilnost Xpert MTB/RIF Ultra testa je takođe procenjena u smislu signala fluorescencije izraženog u vrednostima graničnog ciklusa (Ct) za svaki detektovani cilj. Srednja, standardna devijacija (SD) i koeficijent varijacije (CV) između lokacija, između dana, između operatera i između ciklusa za svakog člana panela, prikazani su u Tabeli 10. Ciklus se definiše kao četiri uzorka po članu panela koje testira jedan operater u jednom centru u toku jednog dana.

16 Karakteristike analitičkih performansi

Tabela 10. Sažetak podataka reproducibilnosti

Uzorak	N	Srednja Ct	Varijansa												
			između lokacija		između lotova		između dana		između operatera		Unutar istog ciklusa / analize		Ukupno		
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	
Negativno	SPCCt	144	25,7	0,00	0,0	0,30	1,1	0,00	0,0	0,70	2,8	1,40	5,5	1,60	6,3
MTB nisko pozitivno, RIF rezistentno	ICCt	144	20,0	0,00	0,0	0,20	1,1	0,00	0,0	0,40	2,0	0,90	4,6	1,00	5,1
	rpo1C	141	31,0	0,00	0,0	0,50	1,6	0,00	0,0	0,60	2,0	2,20	7,2	2,40	7,7
	rpo2C	141	29,8	0,20	0,7	0,40	1,4	0,00	0,0	0,80	2,5	2,10	7,1	2,30	7,7
	rpo3C	139	33,8	0,20	0,6	0,60	1,9	0,00	0,0	0,70	2,0	2,00	5,9	2,20	6,5
	rpo4C	141	30,4	0,80	2,5	0,50	1,7	0,00	0,0	0,80	2,5	2,50	8,4	2,80	9,2
MTB umereno pozitivno, RIF rezistentno	ICCt	144	18,4	0,30	1,4	0,00	0,0	0,10	0,5	0,10	0,3	0,70	3,7	0,80	4,1
	rpo1C	143	28,3	0,40	1,5	0,00	0,0	0,50	1,8	0,00	0,0	1,80	6,4	1,90	6,8
	rpo2C	144	27,2	0,50	1,8	0,00	0,0	0,50	1,8	0,00	0,0	1,80	6,7	1,90	7,1
	rpo3C	143	31,1	0,10	0,4	0,00	0,0	0,50	1,6	0,00	0,0	1,70	5,6	1,80	5,8
	rpo4C	144	27,2	0,80	3,1	0,00	0,0	0,70	2,4	0,00	0,0	2,20	8,0	2,40	8,9
MTB nisko pozitivno, RIF osetljivo	ICCt	143	23,7	0,00	0,0	0,20	0,6	0,40	1,6	0,00	0,0	1,70	7,4	1,80	7,6
	rpo1C	130	30,2	0,10	0,3	0,00	0,0	0,90	3,0	0,00	0,0	2,60	8,4	2,70	9,0
	rpo2C	130	29,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,80	2,6	0,00	0,0	2,40	8,1	2,50	8,5
	rpo3C	130	31,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,80	2,6	0,20	0,7	2,30	7,4	2,50	7,8
	rpo4C	120	36,1	0,30	0,9	0,40	1,1	0,00	0,0	0,50	1,4	2,10	5,7	2,20	6,1

Uzorak	N	Srednja Ct	Varijansa												
			Između lokacija		Između lotova		Između dana		Između operatera		Unutar istog ciklusa / analize		Ukupno		
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	
MTB umereno pozitivno, RIF osetljivo	ICct	143	21,8	0,10	0,6	0,00	0,0	0,20	1,1	0,00	0,0	1,20	5,4	1,20	5,5
	rpo1C	142	27,6	0,20	0,7	0,00	0,0	0,30	1,2	0,00	0,0	2,00	7,2	2,00	7,3
	rpo2C	141	26,7	0,00	0,0	0,40	1,4	0,00	0,0	0,10	0,2	1,60	5,9	1,60	6,1
	rpo3C	141	28,9	0,00	0,0	0,30	1,1	0,00	0,0	0,50	1,7	1,70	5,7	1,70	6,0
	rpo4C	140	33,9	0,70	2,0	0,60	1,7	0,00	0,0	0,00	0,0	2,00	5,9	2,20	6,5

16.1 Ometajuće supstance

Izvedena je studija na veštačkom matriksu sputuma kako bi se procenili efekti potencijalno ometajućih supstanci pomoću Xpert MTB/RIF Ultra testa. Procenjene su 32 potencijalno ometajuće supstance. Potencijalno endogene ometajuće supstance mogu uključivati ali nisu ograničene na krv, gnoj (leukociti), ćelije iz respiratornog trakta, mucin, humanu DNK i želudačnu kiselinu. Ostale potencijalno ometajuće supstance mogu uključivati anestetike, antibiotike, antibakterijske i antituberkulozne lekove, antivirusne lekove, bronhodilatatore, bronhodilatatore za inhalaciju, živu intranazalnu vakcinu protiv virusa gripa, germicidna sredstva za ispiranje usta, reagense za obradu uzoraka, lekove protiv *Pneumocystis jiroveci*, homeopatske lekove za olakšanje alergije, nazalne kortikosteroide, nazalne gelove, nazalne sprejeve, oralne anestetike, oralne ekspektoranse, neutralizujuće pufere i duvan. Ove supstance su navedene Tabela 11 sa prikazanim testiranim aktivnim sastojcima i koncentracijama. U ovu studiju su bili uključeni pozitivni i negativni uzorci. Pozitivni uzorci su testirani blizu 3 puta analitičke granice detekcije pomoću BCG ćelija u replikatima od 8. Negativni uzorci koji su se sastojali od supstance koja nema MTB soj testirani su po supstanci u replikatima od 8 kako bi se odredio uticaj na performanse kontrole obrade uzorka (SPC).

Nisu uočeni inhibitorski efekti ni za jednu od 32 potencijalno ometajuće supstance koje su testirane (Tabela 11).

Tabela 11. Ometajuće supstance

Supstanca	Opis/aktivni sastojak	Testirana koncentracija
Krv	Krv (humana)	5% (z/z)
Germicidna sredstva za ispiranje usta	Hlorheksidin-glukonat (0,12%), 20% rastvor	20% (z/z)
Reagensi za obradu uzoraka	Cetilpiridinium hlorid, 1% u 2% NaCl	0,5% (z/z) u 1% NaCl
Reagensi za obradu uzoraka	Cetilpiridinium hlorid, 1% u 2% NALC	0,5% (z/z) u 1% NALC
Reagensi za obradu uzoraka	Cetilpiridinium hlorid, 1% u 2% NALC plus 25 mM citrat	0,5% (z/z) u 1% NALC plus 12,5 mM citrat
Želudačna kiselina	Rastvor u vodi pH 3 do 4, neutralisan natrijum-bikarbonatom	100% (z/z)
Humana DNK/ćelije	HELA 229	10 ⁶ ćelija/ml
Antimikotik; antibiotik	Nistatin oralna suspenzija, 20%	20% (z/z)
Leukociti (humani)	WBC/gnoj matriks (30% puferska obloga; 30% plazma; 40% PBS)	100% (z/z)
Anestetici (endotrahealna intubacija)	Lidokain HCl 4%	30% (z/z)
Rastvori za nebulizaciju	NaCl 5% (m/z)	5% (m/z)
Mucin	Mucin 5% (m/z)	5% (m/z)

Supstanca	Opis/aktivni sastojak	Testirana koncentracija
Antibakterijski lekovi, sistemski	Levofloksacin 25 mg/ml	5 mg/ml (m/z)
Nazalni kortikosteroidi	Flutikazon 500 mcg/sprej	5 µg/ml (m/z)
Bronhodilatatori za inhalaciju	Albuterol sulfat 2,5 mg/3 ml	75 µl/ml (m/z)
Oralni anestetici	Orajel (20% benzokain)	5% (m/z)
Antivirusni lekovi	Aciklovir, IV 50 mg/ml	50 µg/ml (m/z)
Antibiotik, nazalna mast	Neosporin (400U bacitracin, 3,5 mg neomicin, 5000U polimiksin B)	5% (m/z)
Duvan	Nicogel (40% ekstrakt duvana)	0,5% (m/z)
Antituberkulozni lekovi	Streptomycin 1 mg/ml	25 µg/ml (m/z)
Antituberkulozni lekovi	Etambutol 1 mg/ml	50 µg/ml (m/z)
Antituberkulozni lekovi	Izonijazid 1 mg/ml	50 µg/ml (m/z)
Oralni ekspektoransi	Gvaifenezin (400 mg/tableta)	5 mg/ml (m/z)
Antituberkulozni lekovi	Pirazinamid 10 mg/ml	10 µg/ml (m/z)
Nazalni gel (homeopatski)	Zicam gel	50% (m/z)
Nazalni sprej	Fenilefrin 0,5%	1% (m/z)
Antituberkulozni lekovi	Rifampicin 1 mg/ml	25 µg/ml (m/z)
Lekovi za olakšanje alergije (homeopatski)	Ulje čajevca (<5% Cineole, >35% terpinen-4-ol)	0,5% (m/z)
Živa intranazalna vakcina protiv virusa gripa	Živa vakcina protiv virusa gripa FluMist	5% (m/z)
Lekovi protiv <i>Pneumocystis jiroveci</i>	Pentamidin	300 ng/ml (m/z)
Bronhodilatator	Epinefrin (formulacija za injekciju)	1 mg/ml (m/z)
Antituberkulozni lekovi	Amoksicilin	25 µg/ml (m/z)

16.2 Analitička osetljivost (granica detekcije)

Izvedene su studije kako bi se odredila analitička osetljivost ili granica detekcije (LoD) Xpert MTB/RIF Ultra testa pomoću *Mycobacterium tuberculosis* soja H37Rv i *Mycobacterium bovis* BCG (bacil Calmette-Guerin) razblaženih u humanom sputumu i sedimentu humanog sputuma. MTB pozitivan rezultat je zasnovan na detekciji IS1081/IS6110 ciljeva.

Takođe su izvedene studije kako bi se odredila analitička osetljivost ili granica detekcije Xpert MTB/RIF Ultra testa za detekciju RIF rezistencije pomoću dobro okarakterisanog kliničkog *Mycobacterium tuberculosis* soja rezistentnog na rifampicin (TDR125), koji nosi D516V mutaciju na 81. paru baza u regionu jezgra rpoB gena, razblaženog u humanom sputumu i sedimentu humanog sputuma.

LoD je najniža koncentracija prijavljena u CFU/ml, koja se može razlikovati prema reproducibilnosti iz negativnih uzoraka sa poverenjem od 95%. Replikati od najmanje 20 za dva soja procenjeni su pri pet do osam koncentracija u toku 3 dana, a LoD je određena pomoću probit analize. Utvrđene LoD su sumirane u tabeli u nastavku.

Tabela 12. Podaci probit analize i utvrđena LoD u CFU/ml

Mycobacteria species	Vrsta uzoraka	Utvrđena LoD
<i>M. bovis</i> (BCG)	Sputum	30
	Sediment sputuma	21
<i>M. tuberculosis</i> (H37Rv)	Sputum	12
	Sediment sputuma	25

Tabela 13. Podaci probit analize i utvrđena LoD RIF rezistencije u CFU/ml

Mycobacteria species	Vrsta uzoraka	Utvrđena LoD
<i>M. tuberculosis</i> (TDR125)	Sputum	1093
	Sediment sputuma	4000

16.3 Analitička specifičnost (ekskluzivnost)

Kulture 30 sojeva netuberkuloznih mikobakterija (NTM) su testirane unutar Xpert MTB/RIF Ultra testa. Tri replikata svakog izolata su spajkovana puferom i testirana pri koncentraciji od $\geq 10^7$ CFU/ml. Pogledajte Tabela 14.

Tabela 14. NTM sojevi testirani na specifičnost

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

U okviru uslova studije, svi NTM izolati su prijavljeni kao **MTB NIJE DETEKTOVAN (MTB NOT DETECTED)**. Pozitivne i negativne kontrole su obuhvaćene studijom. Specifičnost je bila 100%.

Dodatno, da bi se utvrdilo da li bi visoke koncentracije NTM ometale detekciju niskih nivoa (3X LoD), TB, šest reprezentativnih sojeva od sojeva navedenih u Tabela 14 je pomešano sa TB sojem H37Rv i sa *M. bovis* u sputumu do konačne koncentracije od 10^6 CFU/ml NTM i 36 CFU/ml *M. tuberculosis* H37Rv i 90 CFU/ml *M. bovis*.

NTM sojevi koji su testirani na sposobnost da ometaju TB (H37Rv) detekciju, uključivali su:

- *M. abscessus*, ATCC 19977
- *M. avium* kliničke izolate Nacionalne jevrejske bolnice

- *M. celatum*, kliničke izolate Nacionalne jevrejske bolnice
- *M. kansasii*, ATCC 12478
- *M. gordonae*, ATCC 14470
- *M. intracellulare*, kliničke izolate Nacionalne jevrejske bolnice

Testirani NTM sojevi nisu ometali detekciju 36 CFU/ml *M. tuberculosis* (H37Rv) niti 90 CFU/ml *M. bovis*; tako da su signali bili isti kao kada je H37Rv testiran sam.

16.4 Vrste/sojevi testirani na specifičnost

Sledeći mikroorganizmi, uključujući gram-negativne bakterije, gram-pozitivne bakterije, gljivične organizme, viruse i kvasce, bili su testirani na lažnu pozitivnost u Xpert MTB/RIF Ultra testu. Replikati svakog izolata su spajkovani puferom i testirani pri koncentraciji od $\geq 10^7$ CFU/ml (bakterije i sojevi gljivica) ili $\geq 10^6$ kopije/ml (genomska DNK za bakterije i gljivice) i $\geq 10^5$ TCID₅₀ /ml (sojevi virusa).

Tabela 15. Vrste i sojevi

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

U uslovima studije, svi testirani mikroorganizmi su prijavljeni kao **MTB NIJE DETEKTOVAN (MTB NOT DETECTED)**. Pozitivne i negativne kontrole su obuhvaćene studijom. Specifičnost je bila 100%.

16.5 Analitička inkluzivnost

Testirano je trideset sedam sojeva MTB-kompleksa koji su se sastojali od 16 sojeva osetljivih na rifampicin sa *rpoB* regionom jezgra divljeg tipa i 21 soj rezistentan na rifampicin, pomoću Xpert MTB/RIF Ultra testa. Testirani su uzorci DNK iz ukupno 37 MTB sojeva na GeneXpert pomoću Xpert MTB/RIF Ultra protokola, modifikovanog za DNK testiranje. Komponente konačne reakcije i uslovi PCR ciklusa bili su nepromenjeni iz protokola osmišljenog za testiranje uzoraka pacijenata. Dvanaest sojeva bilo je iz kolekcije WHO/TDR, a 6 iz kolekcije laboratorije Univerziteta Rutgers. Kolektivno, ovi sojevi predstavljaju izolate iz 8 zemalja i sadržali su 21 RIF rezistentan izolat, koji su posedovali jednostruke, dvostruke i trostruke *rpoB* mutacije u regionu jezgra. Uzorci su testirani dodavanjem 100 µl uzorka DNK u komoru patrone sa lizatom. Negativne reakcije su koristile pufer kao uzorak. Analiza je tačno identifikovala svih 16 sojeva divljeg tipa i tačno je identifikovala rezistenciju na rifampicin kod 18 od 21 sojeva koji su rezistentni na rifampicin sa mutacijama u *rpoB* regionu jezgra. Dobijeni su neodređeni rezultati za rifampicin kod 3 mutirana soja. *M. caprae* i *M. pinnipedii* nisu procenjeni prilikom ove studije.

16.6 Analitička inaktivacija mikobakterija u uzorcima sputuma

Dezinfekciona sposobnost Xpert MTB/RIF Ultra reagensa za uzorke određena je pomoću metode standardizovane kvantitativne tuberkulocidne kulture.¹² Uzorcima sputuma je dodata visoka koncentracija vijabilne *M. bovis*, potom su pomešani sa reagensom za uzorke u odnosu 2:1 i inkubirani 15 minuta. Nakon inkubacije, smeša reagensa za uzorke i sputuma je neutralizovana razblaživanjem i filtracijom, a zatim kultivisana. Vijabilnost mikroorganizama *M. bovis* iz tretiranog sputuma smanjena je za najmanje 6 loga u odnosu na netretiranu kontrolu.

Svaka laboratorija mora da odredi efikasnost dezinfekcionih svojstava reagensa za uzorke pomoću sopstvenih standardizovanih metoda i mora se pridržavati preporučenih propisa o biološkoj bezbednosti.

17 Reference

1. Izveštaj SZO 2018. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274453/9789241565646-eng.pdf?ua=1>.
2. Globalni izveštaj SZO o tuberkulozi 2019. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329368/9789241565714-eng.pdf>.
3. Anti-tuberculosis resistance in the world: fourth global report. WHO/HTM/TB/2008.394.
4. Morris SL, Bai GH, Suffys P, Portillo-Gomez L, Fairchok M, Rouse D. Molecular mechanisms of multidrug resistance in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis*. 1995. 171:954-60.
5. Rattan A, Kalia A, Ahmad N. 1998. Multidrug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis*: Molecular Perspectives, *Emerging Infectious Diseases*, Vol.4 No.2, <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no2/rattan.htm>.
6. Francis J. Curry National Tuberculosis Center and California Department of Public Health, 2008: *Drug-Resistant Tuberculosis, A Survival Guide for Clinicians*, Second Edition.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 1993. Richmond JY and McKinney RW (eds). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (pogledati poslednje izdanje).
9. UREDBA (EZ) br. 1272/2008 EVROPSKOG PARLAMENTA I SAVETA od 16. decembra 2008. o klasifikacionom označavanju i pakovanju supstanci i smeša koje menja i ukida Listu izjava o predostrožnosti, Direktive 67/548/EEZ i 1999/45/EZ (izmena Uredbe (EZ) br. 1907/2006).
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazardous Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpart Z).
11. Kent PT, Kubica GP. 1985. *Public Health Mycobacteriology—A Guide for Level III Laboratory*, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546.
12. Banada, P. et al. Containment of Bioaerosol Infection Risk by the Xpert MTB/RIF Assay and Its Applicability to Point-of-Care Settings. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010. 48:10. 3551-3557.

18 Lokacije sedišta kompanije Cepheid

Sedišta kompanije

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Sedišta u Evropi

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

19 Tehnička pomoć

Pre nego što nam se obratite

Prikupite sledeće informacije pre nego što se obratite službi za tehničku podršku kompanije Cepheid:

- Naziv proizvoda
- Broj serije
- Serijski broj instrumenta
- Poruke o greškama (ako ih ima)
- Verzija softvera i ako je primenjivo, broj servisne oznake računara

Sjedinjene Države




Telefon: + 1 888 838 3222 I-mejl: techsupport@cepheid.com

















Francuska

Telefon: + 33 563 825 319 I-mejl: support@cepheideurope.com

Informacije za kontakt sa svim kancelarijama službe tehničke podrške kompanije Cepheid dostupne su na našem veb-sajtu: www.cepheid.com/en/support/contact-us

20 Tabela simbola

Simbol	Značenje
	Kataloški broj
	<i>In vitro</i> dijagnostičko medicinsko sredstvo
	Ne koristiti ponovo

Simbol	Značenje
	Serijski kod
	Pogledajte uputstvo za upotrebu
	Oprez
	Proizvođač
	Zemlja proizvodnje
	Sadrži dovoljno za <i>n</i> testova
	Kontrola
	Rok upotrebe
	CE oznaka – Evropska usklađenost
	Ograničenje temperature
	Biološki rizici
	Zapaljive tečnosti
	Korozija kože
	Toksičnost za reproduktivne i ostale organe
	Ovlašćeni predstavnik u Švajcarskoj
	Uvoznik



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden



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



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



21 Istorija revizija

Odeljak	Opis promene
Tabela simbola	Dodati simboli za CH REP i uvoznika i definicije u tabeli simbola. Dodate informacije o CH REP i uvozniku sa adresom u Švajcarskoj.
Istorija revizija	Tabela sa istorijom revizija je ažurirana.