

Xpert[®] MTB/XDR

REF GXMTB/XDR-10

Upute za upotrebu

CE **IVD**

Izjave o zaštitnom znaku, patentima i vlasničkim pravima

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[®], logotip Cepheid, GeneXpert[®] i Xpert[®] zaštitni su znakovi društva Cepheid, registriranog u SAD-u i drugim državama.

Svi ostali zaštitni znakovi vlasništvo su svojih odnosnih vlasnika.

KUPNJOM OVOG PROIZVODA KUPCU SE DODJELJUJE NEPRENOSIVO PRAVO NA NJEGOVU UPOTREBU U SKLADU S OVIM UPUTAMA ZA UPOTREBU. NIKAKVA SE DRUGA PRAVA NE DODJELJUJU IZRIČITO, IMPLICITNO ILI PREKLIZIJOM. NADALJE, KUPNJOM OVOG PROIZVODA NE DODJELJUJU SE NIKAKVA PRAVA NA PREPRODAJU.

© 2020. – 2023. Cepheid.

Pogledajte Odjeljak 25 Povijest revizija za opis promjena.

Xpert[®] MTB/XDR

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu

1 Zaštićeni naziv

Xpert[®] MTB/XDR

2 Uobičajeni ili ustaljeni naziv

Xpert MTB/XDR

3 Predviđena svrha

3.1 Namjena

Test Xpert MTB/XDR koji se provodi na sustavima instrumenta GeneXpert, kvalitativni je, ugniježđeni *in vitro* dijagnostički test lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu (PCR) za otkrivanje kompleksa DNK bakterije *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) prošireno rezistentne na lijekove (XDR) u neobrađenim uzorcima iskašljaja, koncentriranim sedimentima pripremljenima iz iskašljaja ili kulturi BD[™] epruvete indikatora rasta mikobakterija (MGIT[™]). U uzorcima u kojima je otkriven MTB, test Xpert MTB/XDR može otkriti i mutacije povezane s otpornošću na izoniazid (INH) u genima *katG* i *fabG1*, intergennoj regiji *oxyR-ahpC* i promotoru gena *inhA*; otpornost na etionamid (ETH) povezanu samo s mutacijama promotora gena *inhA*; mutacije povezane s otpornošću na fluorokinolon (FLQ) u regijama za utvrđivanje otpornosti na kinolon (QRDR) u genima *gyrA* i *gyrB* i mutacije povezane s lijekovima za ubrizgavanje druge linije (SLID) u genu *rrs* i regiji promotora gena *eis*.

Test Xpert MTB/XDR namijenjen je za upotrebu kao refleksni test za uzorak (neobrađeni iskašljaj, koncentrirani sedimenti iskašljaja ili kultura MGIT) za koji se utvrdi da je pozitivan na MTB. Ovaj je test namijenjen kao pomoć u dijagnozi tuberkuloze (TB) XDR kad se upotrebljava zajedno s kliničkim i ostalim laboratorijskim nalazima.

3.2 Predviđeni korisnik/okruženje

Test Xpert MTB/XDR trebaju provesti obučeni korisnici u laboratorijskom okruženju.

4 Sažetak i objašnjenje

Tuberkuloza (TB), bolest uzrokovana bakterijom *Mycobacterium tuberculosis*, i dalje je jedna od najsmrtonosnijih bolesti u svijetu. Procjenjuje se da je 2018. bilo 10 milijuna novih slučajeva TB-a te oko pola milijuna novih slučajeva TB-a otpornog na rifampicin, od čega je 78 % imalo multirezistentni TB (MDR-TB)¹. MDR-TB, koji se definira kao otpornost na izoniazid i rifampicin (dva od najučinkovitijih lijekova prve linije) i dalje je prijetnja po javno zdravlje, a World Health Organization (WHO) (Svjetska zdravstvena organizacija (SZO))^{2,3} izdala je smjernice za novo liječenje koje zahtijevaju brzo testiranje na osjetljivost na lijekove. Unatoč tome, 2018. godine broj prijavljenih slučajeva bolesti MDR/RR-TB u svijetu i dalje je bio samo 39 % procijenjenih slučajeva, a broj osoba uključenih u liječenje iznosio je 32 %¹. Isto tako, postoji sve veća zabrinutost po pitanju nedijagnosticirane i neliječene tuberkuloze otporne na izoniazid i osjetljive na rifampicin. Bez jednostavnog pristupa testiranju na otpornost na INH, države imaju poteškoća s identifikacijom bolesnika i provedbom preporuka za liječenje bolesti Hr-TB⁴ koje je 2018. godine izdala Svjetska zdravstvena organizacija. Najviše zabrinjavaju slučajevi TB-a izazvani sojevima MDR MTB koji su stekli dodatnu otpornost na fluorokinolone i jedan od

lijekova druge linije za ubrizgavanje, amikacin (AMK), kanamicin (KAN) ili kapreomicin (CAP). Ti visoko otporni sojevi nazivaju se prošireno rezistentnom tuberkulozom (XDR-TB). XDR-TB se vrlo teško liječi i može dovesti do visokih stopa smrtnosti, pogotovo ako dođe do pogreške u dijagnosticanju XDR-TB-a i kašnjenja odgovarajućeg liječenja⁵.

Testiranje kulture i fenotipsko testiranje lijekova za MTB oduzimaju mnogo vremena i zahtijevaju puno utrošenog rada te predstavljaju ozbiljnu biološku opasnost za laboratorijske radnike, što dovodi do sve manjeg broja akreditiranih ustanova u državama u kojima je MTB endemska bolest². Čak i kada je dostupno, za dovršetak testiranja osjetljivosti na temelju kulture mogu biti potrebni tjedni, pa čak i mjeseci. MTB se može testirati i na otpornost na lijekove pomoću brzih, osjetljivih i sigurnijih genotipskih testova koji otkrivaju otpornost identifikacijom mutacija za koje je poznato da daju otpornost na lijekove prve i druge linije u većini kliničkih sojeva². Pristupi genotipskom testiranju koje se može svesti na nekoliko ručnih koraka pogodniji su za skrb u blizini bolesnika, kojom se značajno može proširiti njihova dostupnost medicinski zapostavljenim populacijama u okruženjima s niskom i visokom razinom endemske bolesti⁵.

5 Načelo postupka

Test Xpert MTB/XDR automatizirani je *in vitro* dijagnostički test za otkrivanje kompleksa DNK u XDR MTB-u i mutacija koje se povezuju s otpornošću. Test se provodi na sustavu Cepheid GeneXpert Instrument Systems opremljenom s 10 modula u boji GeneXpert.

GeneXpert Instrument Systems integrira i automatizira obradu uzorka, amplifikaciju nukleinske kiseline te otkrivanje ciljnih sekvenci u uzorcima pomoću ugniježdenih testova lančane reakcije polimerazom (PCR) u stvarnom vremenu i otkrivanja vršnog tališta. Sustav GeneXpert Instrument Systems sastoji se od instrumenta, osobnog računala, čitača crtičnih kodova i unaprijed instaliranog softvera za pokretanje testova na prikupljenim uzorcima i pregled rezultata. Sustav zahtijeva upotrebu jednokratnih uložaka Xpert koji sadržavaju ciljne specifične reagense za lančanu reakciju polimerazom (PCR) i provodi proces PCR i otkrivanje vršnog tališta. Budući da su uložci Xpert autonomni, rizik od križne kontaminacije između uzoraka sveden je na minimum. Za potpuni opis sustava proučite *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Uložak testa Xpert MTB/XDR uključuje reagense za otkrivanje profila XDR MTB kao i kontrolu obrade uzorka (SPC) radi kontrole odgovarajuće obrade ciljnih bakterija i nadzora prisutnosti inhibitora u reakciji PCR. Kontrola provjere sonde (PCC) provjerava rehidraciju reagensa, napunjenost epruvete za PCR u ulošku, cjelovitost sonde i stabilnost boje.

Uložak testa Xpert MTB/XDR ima u sebi sve reagense osim reagensa za uzorak (SR), zbog čega korisnik treba dodati SR uzorku prije postavljanja obrađenog uzorka u uložak. Test je namijenjen za pokretanje kao refleksni test za uzorke pozitivne na MTB.

Softver GeneXpert tumači rezultate na temelju izmjerenih fluorescentnih signala i ugrađenih algoritama za izračun te se ti rezultati prikazuju u prozoru Prikaz rezultata (View Results) u tabličnom i grafičkom formatu. Ujedno prijavljuje ako je test nevažeci, ako je došlo do pogreške ili nije proizveden rezultat. Test Xpert MTB/XDR otkriva XDR MTB s otpornošću na INH, ETH, FLQ-ove i SLID-ove izravno iz neobrađenog iskašljaja ili iz koncentriranog sedimenta iz iskašljaja u manje od 90 minuta.

6 Isporučeni materijal

Komplet Xpert MTB/XDR sadrži dovoljno reagensa za obradu 10 uzoraka bolesnika ili uzoraka kontrole kvalitete. Komplet sadrži sljedeće stavke:

Xpert MTB/XDR Uloške s ugrađenim reakcijskim epruvetama	10 po kompletu
<ul style="list-style-type: none"> • Kuglica 1, kuglica 2, kuglica 3, kuglica 4 i kuglica 5 (osušene zamrzavanjem) • Kuglica za kontrolu obrade uzorka (osušena zamrzavanjem) • Reagens 1 • Reagens 2 	po 1 od svake po ulošku po 1 od svake po ulošku 4,0 ml po ulošku 4,0 ml po ulošku
Jednokratne prijenosne pipete	Jednu vrećica s 12 komada po kompletu
Reagens za uzorak	10 x 8 ml po bočici
CD	1 po kompletu
<ul style="list-style-type: none"> • Datoteke definicije analize (ADF) • Upute za uvoz ADF-a u softver GeneXpert • Upute za upotrebu (Uputa) 	

Bilješka	Reagens za uzorak (SR) može biti bezbojan ili žuto-smeđe boje. Boja se može pojačati s vremenom, no ona ne utječe na učinkovitost.
Bilješka	Sigurnosno-tehnički listovi (SDS) dostupni su na www.cepheid.com ili www.cepheidinternational.com pod karticom PODRŠKA (SUPPORT) .
Bilješka	Goveđi serumski albumin (BSA) u kuglicama u ovom proizvodu proizveden je isključivo od goveđe plazme koja potječe iz Sjedinjenih Država. Životinje nisu hranjene proteinima preživača ili nekih drugih životinja; životinje su podvrgnute testiranju prije i nakon smrti. Tijekom obrade nije bilo miješanja materijala s drugim životinjskim materijalima.
Bilješka	Prijenosne pipete imaju jednu oznaku koja predstavlja minimalni volumen obrađenog uzorka potreban za prijenos u uložak. Koristite ih samo u tu svrhu. Sve ostale pipete mora osigurati laboratorij.

7 Čuvanje i rukovanje

- Čuvajte sadržaj kompleta Xpert MTB/XDR na 2 – 28 °C do isteka roka valjanosti navedenog na etiketi.
- Ne otvarajte poklopac uložka dok niste spremni provesti testiranje.
- Pokrenite test u roku od 2,5 sata od dodavanja SR-a uzorku ili u roku od 4 sata ako se čuva na 2 – 8 °C
- Nemojte upotrebljavati reagensne ili uloške kojima je istekao rok valjanosti.
- Nemojte upotrebljavati uložak na kojemu je došlo do curenja.

8 Potrebni materijali koji nisu isporučeni

- GeneXpert Dx System: instrument GeneXpert opremljen s 10 modula u boji GeneXpert, računalo, čitač crtičnih kodova i korisnički priručnik
 - Za GeneXpert Dx System: Verzija softvera 6.2 ili novija
 - Pisač: Ako je potreban pisač, obratite se prodajnom predstavniku društva Cepheid da biste dogovorili kupnju preporučenog pisača.
- Sterilni spremnik za uzorak s navojnim čepom
- Jednokratne rukavice
- Etikete i/ili neizbrisiv flomaster za označavanje
- Sterilne pipete za obradu uzorka

9 Upozorenja i mjere opreza

9.1 Općenito

- Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu
- Sa svim biološkim uzorcima, uključujući iskorištene uloške, postupajte kao da mogu prenijeti uzročnike zaraznih bolesti. Budući da često nije moguće znati koji bi biološki uzorci mogli biti zarazni, sa svim biološkim uzorcima treba postupati primjenjujući standardne mjere opreza.
- Smjernice za rukovanje uzorcima dostupne su u Centrima za kontrolu i prevenciju bolesti³ i Institutu za kliničke i laboratorijske standarde u SAD-u.^{6,7,8}
- Slijedite sigurnosne procedure svoje ustanove za rad s kemikalijama i rukovanje biološkim uzorcima.
- Prilikom rukovanja uzorcima i reagensima nosite jednokratne zaštitne rukavice, laboratorijske kute i zaštitu za oči. Nakon rukovanja uzorcima i reagensima testa dobro operite ruke.
- Biološki uzorci, prijenosni pribor i iskorišteni ulošci trebaju se smatrati sposobnima za prijenos uzročnika zaraznih bolesti te su potrebne standardne mjere opreza. Za pravilno odlaganje iskorištenih uložaka i neiskorištenih reagensa slijedite postupke za upravljanje otpadom svoje ustanove. Ti materijali mogu pokazivati značajke opasnog kemijskog otpada, za što su potrebni posebni nacionalni ili regionalni postupci za odlaganje. Ako nacionalni ili regionalni propisi ne pružaju jasne upute o pravilnom odlaganju, biološki uzorci i iskorišteni ulošci trebaju se odložiti prema smjernicama za rukovanje i odlaganje medicinskog otpada Svjetske zdravstvene organizacije (World Health Organization, WHO⁹).

- Reagens za uzorak sadrži natrijev hidroksid (pH > 12,5) i izopropanol. Štetno ako se proguta (H302), uzrokuje teške opekline na koži i oštećenje oka (H314). Zapaljiva tekućina i para (H226).
- Karakteristike učinkovitosti ovog testa utvrđene su samo s vrstama uzoraka navedenima u odjeljku Namjena. Nije procijenjena učinkovitost ovog testa s drugim vrstama uzoraka ili uzorcima.
- Slijedite sigurnosne procedure svoje ustanove za rad s kemikalijama i rukovanje biološkim uzorcima.

9.2 Uzorak

- Prikupljanje uzoraka i postupci rukovanja zahtijevaju posebnu obuku i smjernice.
- Održavajte ispravne uvjete skladištenja tijekom prijevoza uzorka radi osiguranja cjelovitosti uzorka (pogledajte Odjeljak 12. Postupak). Nije procijenjena stabilnost uzorka u nekim drugim uvjetima transporta osim onih preporučenih.
- Isključite uzorke s vidljivim česticama hrane ili drugim krutim česticama.
- Ispravno prikupljanje uzorka, skladištenje i transport od ključne su važnosti za ispravne rezultate.
- Materijal kulture iz bočice s kulturom pozitivnom na MGIT može se upotrijebiti ili nerazrijeđen ili stotruko razrijeđen sredstvom PBS ili medijem Middlebrook 7H9. Test se može provesti i s toplinski inaktiviranim kulturama. Za toplinsku inaktivaciju preporučuje se da se kultura prvo stotruko razrijedi PBS-om ili medijem Middlebrook 7H9, a zatim da se zagrije na 100 °C u trajanju od 20 minuta.

9.3 Test/reagens

- Nemojte zamjenjivati reagens testu Xpert MTB/XDR drugim reagensima.
- Nemojte otvarati poklopac uložka testa Xpert MTB/XDR osim za dodavanje uzorka.
- Nemojte upotrebljavati uložak koji vam je ispao nakon vađenja iz kompleta ili koji ste protresli nakon otvaranja poklopca uložka. Ako protresete uložak nakon otvaranja poklopca uložka ili vam ispadne, možete dobiti lažne ili neodređene rezultate.
- Nemojte stavljati ID naljepnicu uzorka na poklopac uložka ili na naljepnicu s crtičnim kodom.
- Nemojte upotrebljavati uložak s oštećenom reakcijskom epruvetom.
- Svaki uložak testa Xpert MTB/XDR za jednokratnu upotrebu koristi se za obradu jednog testa. Nemojte višekratno upotrebljavati upotrijebljene uloške.
- Jednokratna pipeta upotrebljava se za prijenos jednog uzorka. Nemojte višekratno upotrebljavati jednokratne pipete.
- Nemojte upotrebljavati uložak ako djeluje mokro ili ako vam se čini da je brtva na poklopcu potrgana.
- Preporučuje se dobra laboratorijska praksa, uključujući promjenu rukavica između rukovanja uzorcima bolesnika, radi izbjegavanja kontaminacije uzoraka ili reagensa.
- U slučaju proljevanja uzoraka ili kontrola nosite rukavice i počistite prolivenu tekućinu upijajućim papirnatim ručnicima. Zatim dobro očistite kontaminirano područje svježe pripremljenom otopinom kućnog izbjeljivača s klorom u omjeru 1:10. Konačna koncentracija aktivnog klora treba biti 0,5 %, bez obzira na koncentraciju kućnog izbjeljivača s klorom u vašoj zemlji. Vrijeme kontakta treba iznositi najmanje dvije minute. Provjerite da je radna površina suha prije upotrebe 70 %-tnog denaturiranog etanola za uklanjanje ostataka izbjeljivača. Pustite da se radne površine potpuno osuše prije nastavka rada. Možete slijediti i standardne postupke svoje ustanove za slučajeve kontaminacije ili proljevanja. Slijedite preporuke proizvođača opreme za njezinu dekontaminaciju.
- Test Xpert MTB/XDR potvrđen je pomoću softvera Cepheid GeneXpert Dx verzije 6.2 ili novije.

10 Kemijske opasnosti^{9,10}

Reagens za uzorak:

- Sadrži izopropilni alkohol
- Sadrži natrijev hidroksid
- Oznaka opasnosti: OPASNOST
- Piktogrami opasnosti prema Globalno usklađenom sustavu razvrstavanja i označivanja kemikalija Ujedinjenih naroda

(UN GHS: )

- **Oznake upozorenja prema Globalno usklađenom sustavu razvrstavanja i označivanja kemikalija Ujedinjenih naroda (UN GHS)**
 - Zapaljiva tekućina i para.
 - Uzrokuje teške opekline na koži i oštećenje oka.

- Uzrokuje teško oštećenje oka.
- Sumnja se da uzrokuje genetska oštećenja.
- Sumnja se da oštećuje plodnost kod majke ili nerođenog djeteta.
- Može uzrokovati oštećenje organa produženom ili ponovljenom izloženosti.
- **Oznake obavijesti prema Globalno usklađenom sustavu razvrstavanja i označivanja kemikalija Ujedinjenih naroda (UN GHS)**
- **Prevenција**
 - Nabavite posebne upute prije upotrebe.
 - Nemojte upotrebljavati dok ne pročitate i shvatite sve sigurnosne mjere opreza.
 - Držati podalje od topline, iskrenja, otvorenog plamena i/ili vrućih površina. – zabranjeno pušenje.
 - Držite spremnik čvrsto zatvorenim.
 - Nemojte udisati maglice, pare i/ili raspršivač.
 - Nakon rukovanja proizvodom temeljito oprati ruke.
 - Nosite zaštitne rukavice/zaštitnu odjeću/zaštitu za oči/zaštitu za lice.
 - Ako je potrebno, koristite se osobnom zaštitnom opremom.
- **Reakcija**
 - U slučaju požara: Upotrijebite odgovarajuće sredstvo za gašenje.
 - U SLUČAJU UDISANJA: premjestiti osobu na svjež zrak i postaviti ju u položaj koji olakšava disanje.
 - Odmah nazovite CENTAR ZA KONTROLU TROVANJA ili liječnika.
 - U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM (ili kosom): odmah skinite svu kontaminiranu odjeću. Isperite kožu vodom/ tuširanjem.
 - operite kontaminiranu odjeću prije ponovne upotrebe.
 - Specifično liječenje potražite u dodatnim informacijama o prvoj pomoći.
 - U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: pažljivo ispirite vodom nekoliko minuta. Skinite kontaktne leće, ako ih nosite i ako se lako skidaju. Nastaviti ispiranje.
 - U SLUČAJU GUTANJA: Isperite usta. NEMOJTE izazivati povraćanje.
 - U SLUČAJU izloženosti ili razloga za zabrinutost: potražite savjet/liječničku pomoć.
 - ako se ne osjećate dobro, potražite savjet/liječničku pomoć.
- **Skladištenje/odlaganje**
 - Odložite sadržaj i/ili spremnik u otpad u skladu s lokalnim, regionalnim, nacionalnim i/ili međunarodnim propisima.

11 Prikupljanje, transport i čuvanje uzoraka

Uzorci se mogu prikupiti pridržavajući se uobičajenih postupaka u ustanovi korisnika.

Ispravno prikupljanje, čuvanje i transport uzoraka od ključne su važnosti za učinkovitost ovog testa. Stabilnost uzorka u nekim drugim uvjetima prijevoza i čuvanja osim onih navedenih u nastavku nije procijenjena testom Xpert MTB/XDR.

11.1 Prijevoz sedimenta iskašljaja

Prijevoz uzoraka sedimenta potrebno je obaviti na temperaturi od 2 do 8 °C.

11.2 Prijevoz neobrađenog iskašljaja

Neobrađene uzorke iskašljaja potrebno je prevoziti na temperaturi od 2 do 35 °C.

11.3 Čuvanje uzorka

Neobrađeni uzorci iskašljaja mogu se čuvati do 7 dana na temperaturi od 2 do 35 °C (uključujući vrijeme slanja)

Dekontaminirani/koncentrirani i resuspendirani sediment iskašljaja mogu se čuvati do 7 dana na temperaturi od 2 do 8 °C do provedbe testiranja na sustavu GeneXpert.

Pri testiranju neobrađenog iskašljaja ili dekontaminiranog/koncentriranog sedimenta iskašljaja proučite Tablica 1 u nastavku da biste odredili odgovarajući volumen uzorka.

Tablica 1. Potreban volumen uzorka

Vrsta uzorka	Minimalni volumen za jedan test	Maksimalni volumen uzorka	Omjer uzorka i reagensa za uzorak (SR)
Sediment iskašljaja	0,5 ml	2,5 ml	1:3 ^a
Neobrađeni iskašljaj	1,0 ml	4,0 ml	1:2

^a Omjer uzorka i SR-a od 1:2 treba upotrebljavati s volumenom uzorka od 0,7 ml ili većim za jedan test.

11.4 Preostali uzorci obrađeni SR-om

Test Xpert MTB/XDR može se upotrijebiti za testiranje preostalog uzorka obrađenog SR-om iz testova Xpert MTB/RIF ili Xpert MTB/RIF Ultra. No u tim slučajevima volumen preostalog uzorka obrađenog SR-om mora biti ≥ 2 ml, a mješavina se mora čuvati na temperaturi 2 – 8 °C ne dulje od 4 sata ili na temperaturi do 35 °C ne dulje od 2,5 sata.

11.5 Izolati kulture iz epruvete indikatora rasta mikobakterija BD

Valjani rezultati dobiveni su tijekom kliničkog ispitivanja testom Xpert MTB/XDR korištenjem kultura pozitivnih na MTB iz epruvete indikatora rasta mikobakterija BD (MGIT). Za testiranje izolata MTB iz bočica s kulturom pozitivnom na MGIT upotrijebite najmanje 1,0 ml materijala kulture.

Bilješka

Kulturama mikobakterija iz kliničkih uzoraka treba rukovati u skladu s odgovarajućim kontrolama za sprječavanje širenja bakterija koje propisuju pravila o biološkoj sigurnosti.

Prije početka testa potrebno je upotrijebiti omjer uzorka i SR-a od 1:2, nakon čega slijedi 15-minutna inkubacija uz miješanje u vrtložnoj miješalici u trajanju od 10 sekundi svakih 5 minuta kako bi se spriječilo taloženje ili kontinuirana trešnja. Pokrenite test u sustavu GeneXpert u roku od 30 minuta nakon dodavanja 2 ml SR-a materijalu kulture.

12 Postupak

12.1 Postupak za neobrađeni iskašljaj

Važno Pokrenite test u roku od 2,5 sata od dodavanja SR-a uzorku ili u roku od 4 sata ako se čuva na 2–8 °C.

Bilješka

Isključite uzorke s vidljivim česticama hrane ili drugim krutim česticama.

Zahtevi volumena: potrebno je ≥ 1 ml neobrađenog iskašljaja.

1. Pažljivo otvorite poklopac na spremniku za prikupljanje iskašljaja otpornom na curenje. Pogledajte Slika 1.



Slika 1. Otvaranje spremnika za prikupljanje iskašljaja

- Izlijte otprilike dvostruki volumen reagensa za uzorak (SR) u iskašljaj (razrjeđivanje 2:1, SR:iskašljaj). Pogledajte Slika 2 i Slika 3.



Slika 2. Primjer razrjeđivanja u omjeru 2:1 (8 ml SR-a:4 ml iskašljaja)



Slika 3. Primjer razrjeđivanja u omjeru 2:1 (2 ml SR-a:1 ml iskašljaja)

Bilješka

Odložite iskorištene reagense za uzorak i bočicu u odgovarajući spremnik za otpad u skladu sa standardnim praksama svoje ustanove.

- Pričvrstite poklopac na spremnik za uzorak.
 - Snažno protresite 10 do 20 puta ili promiješajte u vrtložnoj miješalici najmanje 10 sekundi.
-

Bilješka

Jedno protresanje predstavlja jedan pokret gore-dolje.

- Inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, a zatim snažno protresite uzorak 10 do 20 puta ili ga promiješajte u vrtložnoj miješalici najmanje 10 sekundi.
- Inkubirajte uzorak na sobnoj temperaturi dodatnih pet minuta.

12.2 Postupak za dekontaminirane, koncentrirane taloge iskašljaja

Važno Pokrenite test u roku od 2,5 sata od dodavanja SR-a uzorku ili u roku od 4 sata ako se čuva na 2–8 °C.

Bilješka Isključite uzorke s vidljivim česticama hrane ili drugim krutim česticama.

Zahtjevi volumena: metoda autora Kent i Kubica¹¹ (Postupak probave-dekontaminacije pomoću metode NALC-NaOH i resuspendiranja u 67 mM fosfata/H₂O puferu) može se testirati pomoću testa Xpert MTB/XDR. Nakon resuspendiranja sačuvajte najmanje 0,5 ml resuspendiranog sedimenta za test Xpert MTB/XDR. Za sve volumene manje od 0,7 ml provedite korake 1 do 5 za pripremu uzoraka. Ti koraci zahtijevaju tri dijela reagensa za uzorak (SR) i 1 dio sedimenta kako bi se izradio odgovarajući volumen za optimalnu učinkovitost testa. Ako je volumen uzorka jednak ili veći od 0,7 ml, odgovarajući volumen testa može se proizvesti dodavanjem dvaju dijelova SR-a jednom dijelu sedimenta. U tom primjeru 1,4 ml SR-a dodat će se u 0,7 ml sedimenta. Ti se volumeni provode u omjeru od 2 dijela SR-a na 1 dio taloga.

1. Prenesite 0,5 ml ukupne resuspendirane kuglice u konusnu epruvetu s navojnim čepom označenu ID oznakom uzorka i/ili bolesnika pomoću prijenosne pipete.

Bilješka Čuvajte resuspendirane sedimente na 2 – 8 °C ako se neće odmah obrađivati. Nemojte ih čuvati dulje od 7 dana.

2. Dodajte 1,5 ml reagensa za uzorak (SR) u 0,5 ml resuspendiranog sedimenta.
3. Snažno protresite 10 do 20 puta ili promiješajte u vrtložnoj miješalici najmanje 10 sekundi.

Bilješka Jedno protresanje predstavlja jedan pokret gore-dolje.

4. Inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi, a zatim snažno protresite uzorak 10 do 20 puta ili ga promiješajte u vrtložnoj miješalici najmanje 10 sekundi.
5. Inkubirajte uzorak na sobnoj temperaturi dodatnih pet minuta.

12.3 Priprema uložka

Važno Provjerite da je modul spreman primiti uložak. Pokrenite test što je prije moguće te u roku od 2,5 sata nakon dodavanja uzorka obrađenog reagensom za uzorak u uložak ili u roku od 4 sata ako se uzorak čuva na 2 – 8 °C.

Nabavite sljedeće stavke: uložak Xpert Xpress, prijenosna pipeta (isporučena) i uzorak za test koji je prikupljen i označen na odgovarajući način.

1. Izvadite uložak iz pakiranja.
2. Provjerite ima li na ulošku oštećenja. Ako je oštećen, nemojte ga koristiti.
3. Pustite da uložak dosegne sobnu temperaturu. Označite svaki uložak Xpert MTB/XDR ID oznakom uzorka. Pogledajte Sliku 4.



Slika 4. Pišite po bočnoj strani uložka.

Bilješka Napišite je na bočnu stranu uložka ili nalijepite etiketu s ID oznakom. Nemojte stavljati etiketu na poklopac uložka ili preko postojećeg 2D crtičnog koda na ulošku.

4. Otvorite poklopac uloška, a zatim otvorite spremnik za uzorak.
5. Pomoću isporučene prijenosne pipete aspirirajte ukapljeni uzorak do crte na pipeti. Nemojte dodatno obrađivati uzorak ako nema dovoljno volumena. Pogledajte Slika 5.



Slika 5. Aspiracija do crte na pipeti

6. Polako dozirajte uzorak kako biste umanjili rizik od stvaranja aerosola. Pogledajte Slika 6.



Slika 6. Uložak Xpert MTB/XDR

7. Zatvorite poklopac uloška.

12.4 Pokretanje testa

Važno Prije pokretanja testa pobrinite se da je datoteka definicije analize Xpert MTB/XDR uvezena u softver. Ovaj odsječak navodi osnovne korake provođenja testa. Za detaljne upute proučite *Korisnički priručnik za sustav GeneXpert Dx*.

Bilješka Koraci koje je potrebno slijediti mogu se razlikovati ako je administrator sustava promijenio zadani tijek rada sustava.

1. Uključite instrument GeneXpert:
 - Ako upotrebljavate instrument GeneXpert Dx, prvo uključite instrument, a zatim uključite računalo. Softver GeneXpert Dx pokrenut će se automatski ili će biti potrebno dvaput kliknuti na ikonu prečaca za softver GeneXpert Dx na radnoj površini sustava Windows®.
2. Prijavite se u softver sustava instrumenta GeneXpert svojim korisničkim imenom i lozinkom.

3. U prozoru sustava GeneXpert Dx kliknite na **Izradi test (Create Test)**. Pojavljuje se prozor **Izradi test (Create Test)**.
4. Očitajte ID bolesnika ili uzorka ili ga upišite. Ako upisujete ID uzorka (Sample ID), pripazite da ga točno upišete. ID uzorka (Sample ID) prikazuje se na lijevoj strani prozora **Prikaz rezultata (View Results)** i povezan je s rezultatima testa.
5. Očitajte crtični kod na ulošku Xpert MTB/XDR. Pomoću informacija na crtičnom kodu softver će automatski ispuniti okvire za sljedeća polja: **ID serije reagensa (Reagent Lot ID)**, **Serijski broj uloška (Cartridge SN)** i **Rok valjanosti (Expiration Date)**. Pogledajte Slika 7.

Bilješka Ako nije moguće skenirati crtični kod uloška Xpert MTB/XDR, ponovite test s novim uloškom.

Slika 7. Prozor Izradi test (Create Test) GX Dx

6. Kliknite na **Pokreni test (Start Test)**. U dijaloškom okviru koji se pojavi upišite svoju lozinku.
7. Za instrument GeneXpert Dx:
 - a) Otvorite vrata modula instrumenta dok trepti zeleno svjetlo i postavite uložak.
 - b) Zatvorite vrata. Test se pokreće, a zeleno svjetlo prestaje treperiti. Kad test završi, svjetlo se gasi.
 - c) Prije nego što otvorite vrata modula i izvadite uložak, pričekajte da sustav otključa vrata.
8. Odložite iskorištene uloške u odgovarajuće spremnike za otpad od uzoraka u skladu sa standardnim praksama svoje ustanove.

13 Prikaz i ispis rezultata

Ovaj odsječak navodi osnovne korake za prikaz i ispis rezultata. Detaljnije upute o prikazu i ispisu rezultata potražite u *Korisničkom priručniku za sustav GeneXpert Dx*.

1. Za prikaz rezultata kliknite ikonu **Prikaz rezultata (View Results)**.
2. Nakon završetka testa kliknite gumb **Izvešće (Report)** u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** za prikaz i/ili izradu PDF datoteke s izvješćem.

14 Ugrađene kontrole kvalitete

Svaki test uključuje kontrolu obrade uzorka (SPC) i kontrolu provjere sonde (PCC).

- **Kontrola obrade uzorka (SPC)** – SPC potvrđuje odgovarajuću obradu uzorka. Uz to, ovom se kontrolom otkriva inhibicija PCR testa u stvarnom vremenu povezana s uzorkom, osigurava se da uvjeti reakcije PCR (temperatura i vrijeme) budu prikladni za reakciju amplifikacije te da reagensi za PCR budu funkcionalni. SPC bi trebala biti

pozitivna u negativnom uzorku, a može biti negativna ili pozitivna u pozitivnom uzorku. SPC zadovoljava ako ispunjava dodijeljene kriterije za prihvatanje.

- **Kontrola provjere sonde (PCC)** – Prije početka reakcije PCR-a sustav GeneXpert mjeri fluorescentni signal iz sonde s ciljem praćenja rehidracije kuglica, punjenja reakcijske epruvete, cjelovitosti sonde i stabilnosti boje. PCC zadovoljava ako ispunjava dodijeljene kriterije za prihvatanje.
- **Kontrola Prikladnosti volumena uzorka (SVA)** – prije obrade uzorka sustav GeneXpert mjeri je li u komori za uzorak prisutan odgovarajući volumen uzorka. Ako provjera SVA ne uspije, to ukazuje da u komoru za uzorak nije dodan odgovarajući volumen uzorka potreban za testiranje.

Vanjske kontrole—vanjske kontrole mogu se upotrebljavati u skladu s lokalnim, državnim i saveznim organizacijama za akreditaciju, prema potrebi.

15 Tumačenje rezultata

GeneXpert Instrument Systems stvara rezultate kombinacijom vrijednosti izmjerenih fluorescentnih signala i temperature taljenja (T_m). Mutacije i sekvence divljeg tipa otkrivene su sustavom GeneXpert System pomoću vrijednosti T_m . Određivanje osjetljivosti ili otpornosti ovisi o tome gdje se nalaze vrijednosti T_m unutar prozora divljeg tipa, odnosno mutanta za određeni analit. Pozitivni rezultati za test Xpert MTB/XDR mogu biti **MTB OTKRIVEN (MTB DETECTED)**, a svi su ciljevi otpornosti **NIJE OTKRIVEN (NOT DETECTED)** ili **MTB OTKRIVEN (MTB DETECTED)**, a jedan je ili više ciljeva otpornosti **OTKRIVEN (DETECTED)** ili **MTB OTKRIVEN (MTB DETECTED)** i/ili jedan je ili više sljedećih ciljeva otpornosti **NEODREĐEN (INDETERMINATE)**. Pogledajte Tablica 2 za popis mogućih rezultata za svaki cilj.

Tablica 2. Mogući rezultati testa za svaki cilj u testu Xpert MTB/XDR

Razred lijekova	Rezultat
N/P	NEVAŽEĆI/POGREŠKA/NEMA REZULTATA (INVALID/ERROR/NO RESULT)
	MTB OTKRIVEN (MTB DETECTED)
	MTB NIJE OTKRIVEN (MTB NOT DETECTED)
Izoniazid	Niska otpornost na INH OTKRIVENA (Low INH Resistance DETECTED)
	Otpornost na INH OTKRIVENA (INH Resistance DETECTED)
	Otpornost na INH NIJE OTKRIVENA (INH Resistance NOT DETECTED)
	Otpornost na INH NEODREĐENA (INH Resistance INDETERMINATE)
Fluorokinolon (FLQ)	Niska otpornost na FLQ OTKRIVENA (Low FLQ Resistance DETECTED)
	Otpornost na FLQ OTKRIVENA (FLQ Resistance DETECTED)
	Otpornost na FLQ NIJE OTKRIVENA (FLQ Resistance NOT DETECTED)
	Otpornost na FLQ NEODREĐENA (FLQ Resistance INDETERMINATE)
Amikacin	Otpornost na AMK OTKRIVENA (AMK Resistance DETECTED)
	Otpornost na AMK NIJE OTKRIVENA (AMK Resistance NOT DETECTED)
	Otpornost na AMK NEODREĐENA (AMK Resistance INDETERMINATE)
Kanamicin	Otpornost na KAN OTKRIVENA (KAN Resistance DETECTED)
	Otpornost na KAN NIJE OTKRIVENA (KAN Resistance NOT DETECTED)
	Otpornost na KAN NEODREĐENA (KAN Resistance INDETERMINATE)
Kapreomicin	Otpornost na CAP OTKRIVENA (CAP Resistance DETECTED)
	Otpornost na CAP NIJE OTKRIVENA (CAP Resistance NOT DETECTED)
	Otpornost na CAP NEODREĐENA (CAP Resistance INDETERMINATE)

Razred lijekova	Rezultat
Etionamid ^a	Otpornost na ETH OTKRIVENA (ETH Resistance DETECTED)
	Otpornost na ETH NIJE OTKRIVENA (ETH Resistance NOT DETECTED)

^a Dizajn testa neće dati rezultat „neodređenog etionamida“.

Tablica 3 sažeto navodi gene na koje je usmjeren test Xpert MTB/XDR i regija kodona te nukleotide obuhvaćene za svaki od ispitanih gena radi identifikacije ili donošenja zaključka o otpornosti na lijekove.

Tablica 3. Ispitane regije koje određuju otpornost na lijekove

Lijek	Ciljni gen	Regije kodona	Nukleotid
Izoniazid	Promotor gena <i>inhA</i>	NP (NA)	– 1 do – 32 intergenski
	<i>katG</i>	311-319	939-957
	<i>fabG1</i>	199-210	597-630
	<i>oxyR- ahpC</i> intergenska regija	NP (NA)	– 5 do – 50 intergenski (ili – 47 do –92) ^{12,13}
Etionamid	Promotor gena <i>inhA</i>	NP (NA)	– 1 do – 32 intergenski
Fluorokinoloni	<i>gyrA</i>	87-95	261-285
	<i>gyrB</i>	531-544 (ili 492-505) ^{12,14}	1596-1632
Amikacin, kanamicin, kapreomicin	<i>rrs</i>	NP (NA)	1396-1417
	Promotor gena <i>eis</i>	NP (NA)	– 6 do – 42 intergenski

Pogledajte Tablica 4 za primjere mogućih rezultata i odgovarajućeg tumačenja. Slika 8 do Slika 16 primjeri su mogućih rezultata testa Xpert MTB/XDR.

Tablica 4. Primjeri rezultata i tumačenja Xpert MTB/XDR

Rezultat	Tumačenje
MTB OTKRIVEN; Otpornost na INH NIJE OTKRIVENA (INH Resistance NOT DETECTED) Otpornost na FLQ NIJE OTKRIVENA (FLQ Resistance NOT DETECTED) Otpornost na AMK NIJE OTKRIVENA (AMK Resistance NOT DETECTED) Otpornost na KAN NIJE OTKRIVENA (KAN Resistance NOT DETECTED) Otpornost na CAP NIJE OTKRIVENA (CAP Resistance NOT DETECTED) Otpornost na ETH NIJE OTKRIVENA (ETH Resistance NOT DETECTED)	<p>MTB cilj prisutan je u uzorku:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nisu otkrivene mutacije koje dovode do otpornosti na INH, FLQ-ove, AMK, KAN, CAP ili ETH. • SPC: NP (nije primjenjivo) (NA (not applicable)). SPC signal nije potreban jer amplifikacija MTB-a može biti konkurentna toj kontroli. • Provjera sonde: ZADOVOLJAVA (PASS). Svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju.
MTB OTKRIVEN; Otpornost na INH OTKRIVENA (INH Resistance DETECTED) Otpornost na FLQ OTKRIVENA (FLQ Resistance DETECTED) Otpornost na AMK OTKRIVENA (AMK Resistance DETECTED) Otpornost na KAN OTKRIVENA (KAN Resistance DETECTED) Otpornost na CAP OTKRIVENA (CAP Resistance DETECTED) Otpornost na ETH OTKRIVENA (ETH Resistance DETECTED)	<p>MTB cilj prisutan je u uzorku:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mutacije koje pridonose otpornosti na INH otkrivene su u jednom ili više sljedećih gena: <i>katG</i>, <i>fabG1</i>, intergenoj regiji gena <i>oxyR-ahpC</i> i promotoru gena <i>inhA</i> • Mutacije koje pridonose otpornosti na FLQ otkrivene su u jednom ili više sljedećih gena: regije za utvrđivanje otpornosti na kinolon (QRDR) gena <i>gyrA</i> i <i>gyrB</i> • Mutacije koje pridonose otpornosti na AMK otkrivene su u jednom ili više sljedećih gena: promotori gena <i>rrs</i> i <i>eis</i> • Mutacije koje pridonose otpornosti na KAN otkrivene su u jednom ili više sljedećih gena: promotori gena <i>rrs</i> i <i>eis</i> • Mutacije koje pridonose otpornosti na CAP otkrivene su u jednom ili više sljedećih gena: promotori gena <i>rrs</i> • Mutacije koje pridonose otpornosti na ETH otkrivene su u jednom ili više sljedećih gena: promotori gena <i>inhA</i> • SPC: NP (nije primjenjivo) (NA (not applicable)). SPC signal nije potreban jer amplifikacija MTB-a može biti konkurentna toj kontroli. • Provjera sonde: ZADOVOLJAVA (PASS). Svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju.
MTB OTKRIVEN; Otpornost na INH OTKRIVENA (INH Resistance DETECTED) Otpornost na FLQ NIJE OTKRIVENA (FLQ Resistance NOT DETECTED) Otpornost na AMK NIJE OTKRIVENA (AMK Resistance NOT DETECTED) Otpornost na KAN NIJE OTKRIVENA (KAN Resistance NOT DETECTED) Otpornost na CAP NIJE OTKRIVENA (CAP Resistance NOT DETECTED) Otpornost na ETH NIJE OTKRIVENA (ETH Resistance NOT DETECTED)	<p>MTB cilj prisutan je u uzorku:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mutacije koje dovode do otpornosti na FLQ-ove, AMK, KAN, CAP i ETH nisu otkrivene. • Mutacije koje pridonose otpornosti na INH otkrivene su u jednom ili više sljedećih gena: intergena regija gena <i>katG</i>, <i>fabG1</i> i <i>oxyR-ahpC</i> • SPC: NP (nije primjenjivo) (NA (not applicable)). SPC signal nije potreban jer amplifikacija MTB-a može biti konkurentna toj kontroli. • Provjera sonde: ZADOVOLJAVA (PASS). Svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju.

Rezultat	Tumačenje
<p>MTB OTKRIVEN; Otpornost na INH OTKRIVENA (INH Resistance DETECTED) Otpornost na FLQ NEODREĐENA (FLQ Resistance INDETERMINATE) Otpornost na AMK NIJE OTKRIVENA (AMK Resistance NOT DETECTED) Otpornost na KAN NIJE OTKRIVENA (KAN Resistance NOT DETECTED) Otpornost na CAP NIJE OTKRIVENA (CAP Resistance NOT DETECTED) Otpornost na ETH NIJE OTKRIVENA (ETH Resistance NOT DETECTED)</p>	<p>MTB cilj prisutan je u uzorku:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mutacije koje dovode do otpornosti na AMK, KAN, CAP i ETH nisu otkrivene. • Mutacije koje pridonose otpornosti na INH otkrivene su u jednom ili više sljedećih gena: intergena regija gena <i>katG</i>, <i>fabG1</i> i <i>oxyR-ahpC</i> • Mutacije koje pridonose otpornosti na FLQ nisu se mogle odrediti zbog otkrivanja samo Tm-a za divlji tip iz jedne ili više sondi i nedostajućih Tm-ova iz jedne ili više sondi usmjerenih na jedan ili više sljedećih gena: <i>gyrA</i> ili <i>gyrB</i>. "ILI" bez Tm-a iz neke od sondi usmjerenih na gene <i>gyrA</i> i <i>gyrB</i>. • SPC: NP (nije primjenjivo) (NA (not applicable)). SPC signal nije potreban jer amplifikacija MTB-a može biti konkurentna toj kontroli. • Provjera sonde: ZADOVOLJAVA (PASS). Svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju.
<p>MTB OTKRIVEN; Niska otpornost na INH OTKRIVENA (Low INH Resistance DETECTED) Otpornost na FLQ NIJE OTKRIVENA (FLQ Resistance NOT DETECTED) Otpornost na AMK NIJE OTKRIVENA (AMK Resistance NOT DETECTED) Otpornost na KAN NIJE OTKRIVENA (KAN Resistance NOT DETECTED) Otpornost na CAP NIJE OTKRIVENA (CAP Resistance NOT DETECTED) Otpornost na ETH OTKRIVENA (ETH Resistance DETECTED)</p>	<p>MTB cilj prisutan je u uzorku:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mutacije koje dovode do otpornosti na FLQ, AMK, KAN i CAP nisu otkrivene. • Mutacije koje pridonose niskoj otpornosti na INH otkrivene su u regiji promotora gena <i>inhA</i> • Mutacije koje pridonose otpornosti na ETH otkrivene su u regiji promotora gena <i>inhA</i> • SPC: NP (nije primjenjivo) (NA (not applicable)). SPC signal nije potreban jer amplifikacija MTB-a može biti konkurentna toj kontroli. • Provjera sonde: ZADOVOLJAVA (PASS). Svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju.
<p>MTB OTKRIVEN; Otpornost na INH NIJE OTKRIVENA (INH Resistance NOT DETECTED) Niska otpornost na FLQ OTKRIVENA (Low FLQ Resistance DETECTED) Otpornost na AMK NIJE OTKRIVENA (AMK Resistance NOT DETECTED) Otpornost na KAN NIJE OTKRIVENA (KAN Resistance NOT DETECTED) Otpornost na CAP NIJE OTKRIVENA (CAP Resistance NOT DETECTED) Otpornost na ETH NIJE OTKRIVENA (ETH Resistance NOT DETECTED)</p>	<p>Cilj MTB prisutan je unutar uzorka; niska razina FLQ-a, otpornost je otkrivena:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mutacije koje dovode do otpornosti na INH, AMK, KAN, CAP i ETH nisu otkrivene. • Mutacije koje pridonose niskoj otpornosti na FLQ otkrivene su u sljedećim genima: <i>gyrA</i> • SPC: NP (nije primjenjivo) (NA (not applicable)). SPC signal nije potreban jer amplifikacija MTB-a može biti konkurentna toj kontroli. • Provjera sonde: ZADOVOLJAVA (PASS). Svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju.

Rezultat	Tumačenje
MTB OTKRIVEN; Otpornost na INH OTKRIVENA (INH Resistance DETECTED) Otpornost na FLQ NIJE OTKRIVENA (FLQ Resistance NOT DETECTED) Otpornost na AMK OTKRIVENA (AMK Resistance DETECTED) Otpornost na KAN OTKRIVENA (KAN Resistance DETECTED) Otpornost na CAP OTKRIVENA (CAP Resistance DETECTED) Otpornost na ETH NIJE OTKRIVENA (ETH Resistance NOT DETECTED)	MTB cilj prisutan je u uzorku: <ul style="list-style-type: none"> • Mutacije koje dovode do otpornosti na FLQ i ETH nisu otkrivene. • Mutacije koje pridonose otpornosti na INH otkrivene su u jednom ili više sljedećih gena: <i>katG</i>, <i>fabG1</i>, <i>oxyR-aphC</i> • Mutacije koje pridonose otpornosti na AMK otkrivene su u jednom ili više sljedećih gena: promotori gena <i>rrs</i>; <i>eis</i> • Mutacije koje pridonose otpornosti na KAN otkrivene su u jednom ili više sljedećih gena: promotori gena <i>rrs</i>; <i>eis</i> • Mutacije koje pridonose otpornosti na CAP otkrivene su u jednom ili više sljedećih gena: promotori gena <i>rrs</i> • SPC: NP (nije primjenjivo) (NA (not applicable)). SPC signal nije potreban jer amplifikacija MTB-a može biti konkurentna toj kontroli. • Provjera sonde: ZADOVOLJAVA (PASS). Svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju.
MTB OTKRIVEN; Otpornost na INH OTKRIVENA (INH Resistance DETECTED) Niska otpornost na FLQ OTKRIVENA (Low FLQ Resistance DETECTED) Otpornost na AMK NIJE OTKRIVENA (AMK Resistance NOT DETECTED) Otpornost na KAN OTKRIVENA (KAN Resistance DETECTED) Otpornost na CAP NIJE OTKRIVENA (CAP Resistance NOT DETECTED) Otpornost na ETH NIJE OTKRIVENA (ETH Resistance NOT DETECTED)	MTB cilj prisutan je u uzorku: <ul style="list-style-type: none"> • Mutacije koje dovode do otpornosti na AMK, CAP i ETH nisu otkrivene. • Mutacije koje pridonose otpornosti na INH otkrivene su u jednom ili više sljedećih gena: <i>katG</i>, <i>fabG1</i> intergenoj regiji gena <i>oxyR-ahpC</i> i promotoru gena <i>inhA</i> • Mutacije koje pridonose niskoj otpornosti na FLQ otkrivene su u sljedećem genu: <i>gyrA</i> • Mutacije koje pridonose otpornosti na KAN otkrivene su u regiji promotora gena <i>eis</i> • SPC: NP (nije primjenjivo) (NA (not applicable)). SPC signal nije potreban jer amplifikacija MTB-a može biti konkurentna toj kontroli. • Provjera sonde: ZADOVOLJAVA (PASS). Svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju.
MTB NIJE OTKRIVEN (MTB NOT DETECTED)	MTB cilj nije otkriven u uzorku: <ul style="list-style-type: none"> • SPC: ZADOVOLJAVA (PASS). SPC je ispunio kriterije za prihvaćanje. • Provjera sonde: ZADOVOLJAVA (PASS). Svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju.
NEVAŽEĆI (INVALID)	Ne može se utvrditi prisutnost niti odsutnost MTB-a. SPC ne ispunjava kriterije za prihvaćanje, uzorak nije ispravno obrađen ili je PCR bio spriječen. Ponovite test. Pogledajte odjeljak Odjeljak 16.2. Postupak ponovnog testiranja ovog dokumenta. <ul style="list-style-type: none"> • MTB: NEVAŽEĆI (INVALID). Ne može se utvrditi prisutnost niti odsutnost DNK za MTB. • SPC: NEUSPJEŠAN (FAIL). Rezultat za MTB cilj je negativan, a prag ciklusa (Ct) za SPC nije unutar valjanog raspona. • Provjera sonde: ZADOVOLJAVA (PASS). Svi rezultati provjere sonde zadovoljavaju.

Rezultat	Tumačenje
POGREŠKA (ERROR)	<p>Ne može se utvrditi prisutnost niti odsutnost MTB-a. Ponovite test. Pogledajte odjeljak Odjeljak 16.2. Postupak ponovnog testiranja ovog dokumenta.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● MTB: NEMA REZULTATA (NO RESULT) ● SPC: NEMA REZULTATA (NO RESULT) ● Provjera sonde: NEUSPJEŠAN (FAIL). Svi ili jedan rezultat provjere sonde nije uspio. <p>Bilješka Ako je provjera sonde zadovoljila, pogrešku je uzrokovao kvar dijela sustava, korisnikova pogreška ili problem s cjelovitošću uloška.</p>
NEMA REZULTATA (NO RESULT)	<p>Ne može se utvrditi prisutnost niti odsutnost MTB-a. Ponovite test. Pogledajte odjeljak Odjeljak 16.2. Postupak ponovnog testiranja ovog dokumenta. Poruka NEMA REZULTATA (NO RESULT) ukazuje na to da je prikupljeno nedovoljno podataka. Na primjer, korisnik je zaustavio test koji je bio u tijeku.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● MTB: NEMA REZULTATA (NO RESULT) ● SPC: NEMA REZULTATA (NO RESULT) ● Provjera sonde: NP (nije primjenjivo) (NA (not applicable))

Bilješka Sljedeće slike daju reprezentativne rezultate, uključujući karticu vršno talište koje se može očekivati testom Xpert MTB/XDR u Detaljnom korisničkom prikazu GeneXpert Dx. Nisu prikazane sve moguće kombinacije rezultata.

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

Slika 8. MTB OTKRIVEN; otpornost na INH, FLQ, AMK, KAN, CAP i ETH NIJE OTKRIVENA (MTB DETECTED; INH, FLQ, AMK, KAN, CAP, and ETH Resistance NOT DETECTED)

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

Slika 9. MTB OTKRIVEN; otpornost na INH, FLQ, AMK, KAN, CAP i ETH OTKRIVENA
(MTB DETECTED; INH, FLQ, AMK, KAN, CAP, and ETH Resistance DETECTED)

Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Assay Name MTB-XDR Version 3						
Test Result	MTB DETECTED; INH Resistance DETECTED; FLQ Resistance NOT DETECTED; AMK Resistance NOT DETECTED; KAN Resistance NOT DETECTED; CAP Resistance NOT DETECTED; ETH Resistance NOT DETECTED					
Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Analyte Name	Melt Peak Temperature	Melt Peak Height				
inhA-melt	76.6	284.9				
katG-melt	74.0	105.2				
fabG1-melt						
ahpC-melt	69.0	35.4				
gyrA1-melt	76.6	65.2				
gyrA2-melt	70.4	64.9				
gyrA3-melt	71.4	92.2				
gyrB2-melt	69.7	84.7				
rrs-melt	75.3	146.8				
eis-melt	68.7	124.2				
inhA-mut melt						
katG-mut melt						
fabG1-mut melt	75.9	178.0				
ahpC-mut melt						
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt						
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt						
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt						
gyrA3-mutC melt						
gyrB2-mut melt						
rrs-mut melt						
eis-mutA melt						
eis-mutB melt						

Slika 10. MTB OTKRIVEN; otpornost na INH OTKRIVENA (MTB DETECTED; INH Resistance DETECTED)

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

Slika 11. MTB OTKRIVEN; otpornost na INH i KAN OTKRIVENA; NEODREĐEN REZULTAT za AMK i CAP (MTB DETECTED; INH and KAN Resistance DETECTED; AMK and CAP INDETERMINATE)

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

Slika 12. OTKRIVENA NISKA RAZINA MTB-a; OTKRIVENA otpornost na INH i niska otpornost na FLQ (MTB DETECTED; INH and Low FLQ Resistance DETECTED)

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

Slika 13. OTKRIVEN MTB; OTKRIVENA otpornost na INH, FLQ, AMK i KAN (MTB DETECTED; INH, FLQ, AMK, and KAN Resistance DETECTED)

Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Assay Name	MTB-XDR	Version	3			
Test Result	MTB NOT DETECTED					

Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Analyte Name	Melt Peak Temperature	Melt Peak Height				
inhA-melt						
katG-melt						
fabG1-melt						
ahpC-melt						
gyrA1-melt						
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						

Slika 14. MTB NIJE OTKRIVEN (MTB NOT DETECTED)

Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Assay Name	MTB-XDR	Version	3			
Test Result	INVALID					

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

Slika 15. NEVAŽEĆI (INVALID)

Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Assay Name MTB-XDR Version 3						
Test Result	ERROR					
Test Result	Analyte Result	Detail	Melt Peaks	Errors	History	Support
Analyte Name	Melt Peak Temperature	Melt Peak Height				
inhA-melt						
katG-melt						
fabG1-melt						
ahpC-melt						
gyrA1-melt						
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						

Slika 16. POGREŠKA (ERROR)

16 Ponovno testiranje

16.1 Razlozi za ponavljanje testa

U slučaju javljanja nekih od rezultata testa navedenih u nastavku ponovite test prema uputama u Odjeljak 16.2. Postupak ponovnog testiranja.

- Rezultat **NEVAŽEĆE (INVALID)** označava da SPC nije uspio. Uzorak nije pravilno obrađen ili je PCR spriječen, ili uzorak nije ispravno prikupljen.
- Rezultat **POGREŠKA (ERROR)** može biti posljedica, no nije ograničen na kvar kontrole provjere sonde ili premašivanje ograničenja maksimalnog tlaka.
- Poruka **NEMA REZULTATA (NO RESULT)** ukazuje na to da je prikupljeno nedovoljno podataka. Na primjer, korisnik je zaustavio test koji je bio u tijeku ili je došlo do nestanka napajanja.
- Rezultat **NEODREĐEN (INDETERMINATE)** označava da se ne može sa sigurnošću zaključiti otpornost na određeni lijek na temelju algoritma testa (pogledajte Odjeljak 17. Ograničenja za daljnja objašnjenja). Ponovno testiranje s drugim uzorkom može ili ne mora dati drugačiji rezultat.

16.2 Postupak ponovnog testiranja

Za ponovno testiranje upotrijebite novi uložak (nemojte ponovno upotrebljavati uložak). Ako imate preostalog iskašljaja (treba biti $\geq 1,0$ ml) ili rekonstituiranog sedimenta (treba biti $\geq 0,5$ ml), obavezno upotrijebite novi SR za dekontaminaciju i ukupljivanje iskašljaja prije pokretanja testa. Slijedite upute za obradu uzorka u skladu s Odjeljak 12.1. Postupak za neobrađeni iskašljaj ili Odjeljak 12.2. Postupak za dekontaminirane, koncentrirane taloge iskašljaja.

Ako je dostupno dovoljno uzorka obrađenog SR-om koji nije čuvan dulje od 2,5 sata na temperaturi do 35 °C ili koji nije čuvan dulje od 4 sata na 2 – 8 °C od prvog dodavanja SR-a uzorku, preostali uzorak obrađen SR-om može se obraditi upotrebom novog uložka. Pri ponovnom testiranju uvijek upotrijebite novi uložak i pokrenite test u roku od 30 minuta nakon dodavanja obrađenog uzorka u uložak. Pogledajte Odjeljak 12.3. Priprema uložka.

17 Ograničenja

- Učinkovitost testa Xpert MTB/XDR potvrđena je pomoću procedura isporučenih u ovoj uputi. Modifikacije testa XDR treba tumačiti zajedno s drugim laboratorijskim i kliničkim podacima dostupnima liječniku.
- Učinkovitost testa Xpert MTB/XDR ovisi o stručnosti korisnika i pridržavanju postupaka testa. Proceduralne pogreške testa mogu izazvati lažno pozitivne ili lažno negativne rezultate. Svi rukovatelji uređajem trebaju proći odgovarajuću obuku o upotrebi uređaja i testa.
- Rezultate testa treba protumačiti obučeni zdravstveni djelatnik zajedno s bolesnikovom anamnezom, kliničkim znakovima i simptomima te rezultatima drugih dijagnostičkih testova.
- Budući da otkrivanje DNK kompleksa MTB ovisi o broju organizama prisutnih u uzorku, pouzdani rezultati testa ovise o ispravnom prikupljanju, rukovanju i pohrani uzorka. Pogrešni rezultati testa mogu se javiti zbog neodgovarajućeg prikupljanja uzorka, nepridržavanja preporučenih postupaka prikupljanja uzorka te postupaka rukovanja ili skladištenja, tehničke pogreške, miješanja uzoraka ili nedovoljne koncentracije početnog materijala. Da bi se izbjegli pogrešni rezultati, potrebno je pažljivo se pridržavati uputa iz ovih uputa u pakiranju.
- Na rezultate testa može utjecati prethodna ili trenutačna terapija antibioticima. Stoga se terapijski uspjeh ili neuspjeh ne može procijeniti pomoću tog testa jer DNK može ostati nakon terapije za tuberkulozu.
- Pozitivan rezultat testa ne mora nužno ukazivati na prisutnost aktivnih organizama. No pretpostavlja prisutnost kompleksa DNK za MTB, uključujući mutacije koje se povezuju s otpornošću na INH, FLQ, AMK, KAN, CAP i ETH.
- Mutacije ili polimorfizmi u regijama vezivanja početnice ili sonde mogu utjecati na otkrivanje novih ili nepoznatih sojeva XDR-MTB, što može dovesti do rezultata osjetljivosti na lijek.
- Test Xpert MTB/XDR ne daje potvrdu osjetljivosti na INH, FLQ, AMK, KAN, CAP i ETH budući da mogu postojati mehanizmi otpornosti osim onih koji su otkriveni testom koji se mogu povezivati s nedostatkom kliničkog odgovora na liječenje.
- Testiranje krvi, cerebralne spinalne tekućine (CSF), želučanog aspirata, stolice, tkiva i urina nije procijenjeno za upotrebu u testu Xpert MTB/XDR.
- Iako uzorci induciranog iskašljaja nisu uključeni u procjenu kliničke učinkovitosti testa Xpert MTB/XDR, testirane su izotonične ili hipertonične otopine, bronhodilatatori i bronhodilatatori za inhalaciju koji se često koriste u prikupljanju induciranog iskašljaja i ne ometaju test. Indukcija fiziološke otopine može dovesti do nedovoljnog broja pronađenih organizama i može utjecati na otkrivanje bakterije *M. tuberculosis*.
- Koncentrirani sedimenti iskašljaja koji se koriste u procjeni učinkovitosti testa Xpert MTB/XDR pripremljeni su pridržavajući se metode NALC-NaOH koju su opisali Kent i Kubica¹¹. Upotreba drugih metoda za pripremu sedimenta može izmijeniti učinkovitost testa.
- Negativan test ne isključuje mogućnost izolacije kompleksa DNK MTB-a iz uzorka iskašljaja. Test Xpert MTB/XDR može se koristiti zajedno s mikobakterijskom kulturom za rješavanje rizika od lažno negativnih rezultata i za pronalazak organizama za daljnju karakterizaciju i testiranje osjetljivosti.
- Očekuje se da će uzorci s rezultatima **MTB OTKRIVEN u tragovima (MTB Trace DETECTED)** pri testiranju testom Xpert MTB/RIF Ultra biti ispod granice otkrivanja testa MTB/XDR i ne preporučuju se za testiranje testom Xpert MTB/XDR.
- Test Xpert MTB/XDR konstruiran je tako da ne razlikuje vrste kompleksa MTB (tj., *MTB*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. caprae*, *M. pinnipedi*, *M. mungi* i *M. orygis*). Nadalje, potrebno je provesti i kulturu kako bi se odredilo je li prisutan soj NTM, uz kompleks MTB.
- Niža osjetljivost prijavljena je u literaturi u pedijatrijskih bolesnika zbog difuzne prirode infekcije MTB-om u plućima te skupine bolesnika i bilo je poteškoća s dobivanjem odgovarajućih uzoraka^{16,17}.
- Miješane infekcije MTB-om i bakterijom *M. marinum* mogu dovesti do rezultata **NEODREĐEN (INDETERMINATE)** za FLQ pri $> 10^4$ CFU/ml bakterije *M. marinum* u prisutnosti ≤ 408 CFU/ml MTB-a.
- U rijetkim slučajevima početnice i sonde *rrs* mogu križno reagirati s mikrobima iz okoliša ili mikroflorom iskašljaja, što može dovesti do rezultata **NEODREĐEN (INDETERMINATE)** za AMK, KAN i CAP.

- Test Xpert MTB/XDR određuje otpornost na ETH povezanu samo s mutacijama u regiji promotora gena *inhA*. Odustnost mutacija u regiji promotora *inhA* ne isključuje otpornost na ETH. Prijavljeno je da su mutacije koje dovode do otpornosti na ETH prisutne u genomskim regijama na koje nije usmjeren test Xpert MTB/XDR.¹⁵
- Poveznica između mutacija u genima *oxyR-ahpC* i *gyrB* s otpornošću na INH, odnosno FLQ, još nije definitivno utvrđena; no objavljena ispitivanja prijavila su da se te mutacije nalaze u sojevima s otpornosti na INH i FLQ.^{18,19}
- Prisutnost brisanja ili rijetkih mutacija u bilo kojima od ciljnih gena može dovesti do rezultata **NEODREĐEN (INDETERMINATE)** za određeni lijek.
- U slučaju uzoraka s miješanom populacijom osjetljivih i otpornih sojeva postoji vjerojatnost da test Xpert MTB/XDR možda neće otkriti mutaciju ako je otporna populacija prisutna na razinama koje se ne mogu otkriti testom.
- U uzorcima s vrlo niskim bakterijskim opterećenjem ili mješavinom osjetljivih i otpornih sojeva test Xpert MTB/XDR možda neće pouzdano razlikovati nisku i visoku otpornost na FLQ.

18 Klinička učinkovitost

Provedena su dva klinička ispitivanja. Klinička učinkovitost testa Xpert MTB/XDR procijenjena je pomoću retrospektivno prikupljenih zamrznutih arhiviranih uzoraka neobrađenog iskašljaja i koncentriranog sedimenta iskašljaja u Kliničkom ispitivanju 1 te pomoću prospektivnih uzoraka iskašljaja i kulture MGIT u Kliničkom ispitivanju 2.

18.1 Uzorci iskašljaja

Slijepo kliničko ispitivanje provedeno je da bi se procijenila učinkovitost testa Xpert MTB/XDR u odnosu na mikrobiološke i molekularne referentne metode, tj. testiranje fenotipske osjetljivosti na lijekove (pDST), odnosno sekvenciranje radi otkrivanja osjetljivosti na lijekove INH, ETH, FLQ-ove i SLID (AMK, KAN i CAP). Nadalje, klinička učinkovitost testa Xpert MTB/XDR uspoređena je s testom Xpert MTB/RIF ili Xpert MTB/RIF Ultra za otkrivanje MTB-a. Dvije lokacije s poznatom visokom prevalencijom za MDR i XDR TB dale su uzorke zamrznutog arhiviranog neobrađenog iskašljaja ili koncentriranog sedimenta iskašljaja za koje je bilo poznato da su pozitivni ili negativni prema kulturi MTB-a

Tablica 5 prikazuje osjetljivost i specifičnost testa Xpert MTB/XDR u odnosu na metodu pDST za otpornost na lijekove. Osjetljivost je bila > 90 % za INH, FLQ i AMK, > 85 % za KAN i CAP te > 64 % za ETH; specifičnost je bila > 98 % za sve lijekove.

Tablica 5. Xpert MTB/XDR u odnosu na pDST za otpornost na lijekove (retrospektivni uzorci)

Lijekov	N	TP	FN	TN	FP	Osjetljivost (%)	95%tni CI	Specifičnost (%)	95 %-tni CI
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 Prijavljivanje otpornosti na ETH temelji se samo na otkrivanju mutacija promotora gena *inhA*, što dovodi do niže osjetljivosti.

Tablica 6 prikazuje osjetljivost i specifičnost testa Xpert MTB/XDR u odnosu na sekvenciranje za otpornost na lijekove. Osjetljivost je bila > 93 % za FLQ i veća od 96 % za INH, AMK, KAN, CAP i ETH; specifičnost je bila 100,0 % za sve lijekove navedene u tablici osim za INH, za koji je iznosila 98,7 %.

Tablica 6. Xpert MTB/XDR u odnosu na sekvenciranje za otpornost na lijekove (retrospektivni uzorci)

Lijekovi	N	TP	FN	TN	FP	Osjetljivost (%)	95%tni CI	Specifičnost (%)	95 %-tni CI
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

Tablica 7 prikazuje da su pozitivno postotno slaganje (PPA) i negativno postotno slaganje (NPA) testa Xpert MTB/XDR u odnosu na test Xpert MTB/RIF za otkrivanje MTB-a iznosili 98,9 %, odnosno 93,8 %.

Tablica 7. Xpert MTB/XDR u odnosu na test Xpert MTB/RIF za otkrivanje MTB-a

		Xpert MTB/RIF Test		
		MTB otkriven	MTB nije otkriven	Ukupan
Xpert MTB/XDR	MTB otkriven	273	2 ^a	275
	MTB nije otkriven	3 ^b	30	33
	Ukupan	276	32	308
		PPA	98,9 % (95 %-tni CI: 96,9 – 99,6)	
		NPA	93,8 % (95 %-tni CI: 79,9 – 98,3)	

^a Ispitanici su bili na dugotrajnoj terapiji za TB u trenutku prikupljanja uzorka.

^b Uzorci su otkriveni ispod granice otkrivanja za test Xpert MTB/XDR.

Tablica 8 prikazuje da su pozitivno postotno slaganje (PPA) i negativno postotno slaganje (NPA) testa Xpert MTB/XDR u odnosu na Xpert MTB/RIF Ultra za otkrivanje MTB-a 99,5 %, odnosno 100,0 %.

Tablica 8. Xpert MTB/XDR u odnosu na Xpert MTB/RIF Ultra za otkrivanje MTB-a

		Xpert MTB/RIF Ultra		
		MTB otkriven	MTB nije otkriven	Ukupan
Xpert MTB/XDR	MTB otkriven	207	0	207
	MTB nije otkriven	1 ^a	14	15
	Ukupan	208	14	222
		PPA	99,5 % (95 %-tni CI: 97,3 – 99,9)	
		NPA	100,0 % (95 %-tni CI: 78,5 – 100,0)	

^a Xpert MTB/RIF Ultra Rezultat je bio **MTB otkriven u tragovima (MTB Trace Detected)**.

Od 531 Xpert MTB/XDR pokretanja testa provedenih vezano uz ovo ispitivanje, 15 je dalo neodređene rezultate (**POGREŠKA (ERROR)**, **NEVAŽEĆI (INVALID)** ili **NEMA REZULTATA (NO RESULT)**) pri prvom pokušaju. Nakon ponovnog testiranja tih 15 uzoraka jedan je rezultat ostao neodređen. Postotak neodređenih rezultata na prvom testu iznosio je 2,8 % (15/531), a postotak neodređenih rezultata na konačnom testu iznosio je 0,2 % (1/531).

Multicentrično kliničko ispitivanje (kliničko ispitivanje 2) provedeno je da bi se procijenila učinkovitost testa Xpert MTB/XDR u odnosu na metodu pDST i sekvenciranje za otkrivanje otpornosti na INH, ETH, FLQ i SLID (AMK, KAN i CAP) u uzorcima iskašljaja. Uključeni su prospektivno prikupljeni uzorci iskašljaja sa četiri lokacije s poznatom visokom prevalencijom MDR TB-a. Uzorci neobrađenog iskašljaja i uzorci izolata kulture MGIT za koje je bilo poznato da su pozitivni prema kulturi MTB analizirani su na otpornost na lijekove.

Tablica 9 prikazuje osjetljivost i specifičnost testa Xpert MTB/XDR u odnosu na pDST za otpornost na sve lijekove u uzorcima iskašljaja. Osjetljivost je iznosila > 90 % za INH, FLQ i KAN, > 85 % AMK, > 70 % za CAP te > 50 % za ETH. Specifičnost je iznosila \geq 92 % za sve lijekove.

Tablica 9. Xpert MTB/XDR u odnosu na metodu pDST za otpornost na lijekove (prospektivni uzorci)

Lijekov	N	TP	FN	TN	FP	Osjetljivost (%)	95 %-tni CI	Specifičnost (%)	95 %-tni CI
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 Nekoliko uzoraka s mutacijama A90V/S91P/D94A u genu gyrA otkriveni su kao osjetljivi metodom pDST i bili su otporni na testu, što je dovelo do niže specifičnosti.

^b Nekoliko uzoraka s mutacijama promotora gena eis i genom rrs divljeg tipa otkriveni su kao osjetljivi metodom pDST i bili su otporni na testu, što je dovelo do niže specifičnosti.

^c Prijavlivanje otpornosti na ETH temelji se samo na otkrivanju mutacija promotora gena inhA, što dovodi do niže osjetljivosti.

Tablica 10 prikazuje osjetljivost i specifičnost testa Xpert MTB/XDR u odnosu na sekvenciranje za otpornost na sve lijekove u uzorcima iskašljaja. Osjetljivost je iznosila > 90 % za INH, FLQ i KAN (zaokruženo s 89,5 %), > 70% AMK, > 65 % za CAP i > 95 % za ETH. Specifičnost je iznosila \geq 98 % za sve lijekove.

Tablica 10. Xpert MTB/XDR u odnosu na sekvenciranje za otpornost na lijekove (prospektivni uzorci)

Lijekov	N	TP	FN	TN	FP	Osjetljivost (%)	95 %-tni CI	Specifičnost (%)	95 %-tni CI
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 Uzorci MGIT-a

Multicentrično kliničko ispitivanje (kliničko ispitivanje 2) provedeno je i da bi se procijenila učinkovitost testa Xpert MTB/XDR u odnosu na metodu pDST i sekvenciranje za otkrivanje otpornosti na INH, ETH, FLQ i SLID (AMK, KAN i CAP) u uzorcima pozitivnim na MTB. Uključeni su prospektivno prikupljeni uzorci iskašljaja sa četiri lokacije s poznatom visokom prevalencijom MDR TB-a. Neobrađeni uzorci iskašljaja i izolati kulture MGIT od svakog ispitanika testirani su testom Xpert MTB/XDR. Nakon izravnog testiranja testom Xpert MTB/XDR dekontaminirani i koncentrirani uzorci iskašljaja inokulirani su u mediju kulture MGIT i inkubirani radi pozitivnog rasta MTB-a. Pozitivni izolati kulture MGIT testirani su pomoću testa Xpert MTB/XDR. Izolati kulture MGIT čuvani su na 2 – 8 °C prije testiranja, a većina uzoraka (96,9 %) testirana je u roku od 2 mjeseca nakon pozitivne kulture MGIT.

Tablica 11 prikazuje osjetljivost i specifičnost testa Xpert MTB/XDR u odnosu na metodu pDST za otpornost na sve lijekove. Osjetljivost je iznosila > 90 % za INH, FLQ i KAN, > 85 % AMK, > 75 % za CAP te 55 % za ETH. Specifičnost je iznosila ≥ 92 % za sve lijekove.

Tablica 11. Xpert MTB/XDR u odnosu na pDST za otpornost na lijekove (pozitivna kultura MGIT)

Lijekovi	N	TP	FN	TN	FP	Osjetljivost (%)	95 %-tni CI	Specifičnost (%)	95 %-tni CI
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 Nekoliko uzoraka s mutacijama promotora gena *eis* i genom *rrs* divljeg tipa otkriveni su kao osjetljivi metodom pDST i bili su otporni na testu, što je dovelo do niže specifičnosti.

Tablica 12 prikazuje osjetljivost i specifičnost testa Xpert MTB/XDR u odnosu na sekvenciranje za otpornost na lijekove. Osjetljivost je iznosila > 96 % za INH, FLQ i ETH, > 85 % za KAN, > 70 % za AMK i > 62 % za CAP. Specifičnost je iznosila ≥ 97 % za sve lijekove.

Tablica 12. Xpert MTB/XDR u odnosu na sekvenciranje za otpornost na lijekove (pozitivna kultura MGIT)

Lijekovi	N	TP	FN	TN	FP	Osjetljivost (%)	95 %-tni CI	Specifičnost (%)	95 %-tni CI
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

Od 1211 pokretanja testova Xpert MTB/XDR koja su provedena u ovom ispitivanju (606 na uzorcima iskašljaja, 605 na uzorcima MGIT-a), 35 je dalo neodređene rezultate na prvom testu. Nakon ponovnog testiranja tih 35 uzoraka dva su ostala neodređena. Postotak neodređenih rezultata na prvom testu iznosio je 2,9 % (35/1211), a postotak neodređenih rezultata na konačnom testu iznosio je 0,2 % (2/1211).

19 Analitička učinkovitost

19.1 Analitička osjetljivost (granica otkrivanja)

Provedena su ispitivanja kako bi se odredila analitička granica otkrivanja (LoD) testa Xpert MTB/XDR pomoću dviju serija reagensa u tri dana testiranja. Rezultat pozitivan na MTB temelji se na otkrivanju cilja jedne kopije gena *inhA*. Za provjeru je odabran viši LoD uočen po soju i po seriji kako je određeno analizom probit. Provjera procijenjenog LoD-a provedena je na jednoj seriji reagensa tijekom najmanje tri dana testiranja. LoD je utvrđen pomoću reprezentativnog člana *MTBC-a*, *BCG-a* (*Bacila Calmette-Guerin*) bakterije *Mycobacterium bovis* nabodenog u neobrađeni iskašljaj negativan na MTB i u koncentrirani sediment iskašljaja negativnog na MTB.

LoD je najniža koncentracija prijavljena u CFU/ml koja se može reproducibilno razlikovati od negativnih uzoraka s ≥ 95 %-tnom pouzdanošću. Procijenjeno je 20 ponavljanja pri pet do osam koncentracija pomoću dvaju različitih serija reagensa tijekom tri dana, a LoD je određen pomoću analize Probit.

Za provjeru je odabran viši LoD uočen za svaku vrstu i seriju uzorka kako je određeno analizom probit. Provjera procijenjenog LoD-a provedena je na jednoj seriji reagensa tijekom najmanje tri dana testiranja, a utvrđivanje se temeljilo na najmanje 19 od 20 pozitivnih ponavljanja. Procjene točke LoD u CFU/ml navedene su u Tablica 13.

Tablica 13. Analitička osjetljivost (granica otkrivanja)

Vrsta uzorka	Procjena točke LoD, CFU/ml
Neobrađeni iskašljaj	136
Sediment	86

19.2 Analitička specifičnost (isključivost)

Analitička specifičnost testa Xpert MTB/XDR procijenjena je testiranjem panela od 57 organizama koji su se sastojali od 21 bakterije, 1 gljivice, 7 virusa i 28 netuberkuloznih mikobakterija (NTM-ova) koji predstavljaju česte respiratorne patogene ili one koji se mogu pronaći u respiratornom traktu i/ili orofaringealnoj flori. Tri ponavljanja svih bakterijskih i gljivičnih sojeva testirana su u koncentracijama od $\geq 1 \times 10^6$ CFU/ml. Svi su virusi testirani pri $\geq 1 \times 10^5$ (infektivna doza kulture tkiva) TCID₅₀/ml. DNK ili RNK testiran je za 2 bakterijska i 1 gljivični soj pri koncentracijama od $\geq 10^6$ kopija/ml, budući da cijeli organizmi nisu bili dostupni ili im se nije moglo pristupiti zbog ograničenja biološke sigurnosti. Tri ponavljanja svakog virusa testirana su pri koncentracijama od $\geq 1 \times 10^5$ TCID₅₀/ml. Analitička specifičnost iznosila je 100 %. Testirani mikroorganizmi navedeni su u Tablica 14, Tablica 15 i Tablica 16. Nijedan od testiranih organizama nije doveo do križne reaktivnosti sa sondom za otkrivanje MTB-a. Prijavljeni su rezultati **MTB NIJE OTKRIVEN (MTB NOT DETECTED)** za sva testirana ponavljanja. Tablica u nastavku navodi testirane organizme za test analitičke specifičnosti. *Aspergillus fumigatus* testiran je analitički i nije pokazao interferenciju ili križnu reaktivnost. Križna reaktivnost sa svim ostalim vrstama gljivica nije vidljiva *in silico* analizom.

Tablica 14. Analitička specifičnost za Xpert MTB/XDR (bakterije/gljivice)

Organizam
<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Chlamydomyces 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> ^a
<i>Neisseria mucosa</i>
<i>Nocardia asteroides</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>

Organizam
<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

^a Genomski DNK

Tablica 15. Analitička specifičnost za Xpert MTB/XDR (virusi)

Organizam
Koronavirus 229E
Humani metapneumovirus (hMPV) 16 tip A1
Virus humane parainfluenze tip 1
Virus humane parainfluenze tip 2
Virus humane parainfluenze tip 3
Respiratorni sincijski virus
Rinovirus 1A

Tablica 16. Analitička specifičnost za Xpert MTB/XDR (NTM)

Organizam
<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 gastrii</i>
<i>Mycobacterium gordonae</i> (3 soja. Pogledajte Tablica 20.)
<i>Mycobacterium genavense</i>
<i>Mycobacterium haemophilum</i>
<i>Mycobacterium malmoeense</i>
<i>Mycobacterium marinum</i>
<i>Mycobacterium phlei</i>
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>
<i>Mycobacterium simiae</i>
<i>Mycobacterium szulgai</i>
<i>Mycobacterium terrae</i>

Organizam
<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 Analitička reaktivnost (uključivost)

Analitička reaktivnost (uključivost) testa Xpert MTB/XDR procijenjena je pomoću filogenetski raznolikog panela koji se sastojao od sojeva MTB-a osjetljivih i otpornih na lijekove radi procjene preciznosti rezultata testa osjetljivosti na lijekove. Panel od dvadeset i dvaju (22) sojeva MTB-kompleksa (MTBC) uključivao je osam (8) sojeva osjetljivih na lijekove s ciljnim genima divljeg tipa (Tablica 17) i četrnaest (14) dobro karakteriziranih sojeva otpornih na lijekove (Tablica 18). Svi sojevi testirani su u tri primjerka u koncentracijama na ili u blizini 3 X LoD-a cilja promotora gena *inhA*. Broj kopija testiranih na genomske DNK lizate temeljio se na testu vezivanja fluorescentne boje specifičnom za dvolančani DNK (dsDNK).

Testirani su sojevi osjetljivi na lijek i uključuju pet sojeva MTB-a (AR2, GD139, AH1, HR36, H37Rv) i tri MTB-kompleksne mikobakterijske vrste (*M. bovis*, *M. canetti* i *M. microti*). Sojevi MTB-a odabrani su kako bi predstavljali većinu raspona genetske raznovrsnosti i uključuju jednog predstavnika iz svake od glavnih filogenetskih linija na temelju skupina SNP-nakupina (SCG-ova)²⁰.

Testirano je 14 MTB sojeva otpornih na lijekove pomoću genomskih DNK lizata iz dobro karakteriziranih uzoraka koji sadržavaju 16 kliničkih značajnih kanonskih mutacija, pri čemu je test bio usmjeren na najmanje jednu iz svake od osam regija. Te su mutacije često prisutne u multirezistentnim ili prošireno rezistentnim sojevima MTB-a u svijetu, uz iznimku mutacije u genu *gyrB*.

Tablica 17 sažeto navodi rezultate sa sojevima osjetljivima na lijek i prikazuje broj točnih rezultata za svaki od pojedinačnih analita u testu. Svi članovi panela dali su rezultat **MTB OTKRIVEN; OTPORNOST NIJE OTKRIVENA (MTB DETECTED; RESISTANCE NOT DETECTED)**. Test Xpert MTB/XDR točno je identificirao sva ponavljanja sojeva testiranih u blizini granice otkrivanja s rezultatima za divlji tip za sve sonde osim *oxyR-ahpC*. Budući da cilj *oxyR-ahpC* ima viši LoD od ostalih ciljeva u testu, neka ponavljanja nisu dala rezultate Tm-a.

Rezultati u Tablica 18 pokazuju da je test ujedno točno identificirao očekivane mutacije otpornosti u svih 14 sojeva otpornih na izoniazid s mutacijama u promotoru *inhA*, intergenskoj regiji *katG* i *oxyR-ahpC*; otpornost SLID-ova s mutacijama *rrs* i regijom promotora gena *eis* te otpornost FLQ-a s mutacijama u genu *gyrA*.

Tablica 17. Analitička reaktivnost (uključivost) za sojeve osjetljive na lijekove

Uzorak	Linija soja	<i>inhA</i>	<i>katG</i>	<i>fabG1</i>	<i>oxyR-ahpC</i> ^a	<i>gyrA1</i>	<i>gyrA2</i>	<i>gyrA3</i>	<i>gyrB2</i>	<i>rrs</i>	<i>eis</i>
(<i>M. bovis</i> BCG)	Nije dodijeljeno	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	NEUSPJEŠAN (FAIL)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
<i>M. bovis</i>	Nije dodijeljeno	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	NEUSPJEŠAN (FAIL)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
MTB (AR2)	2	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
MTB (GD139)	3	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
MTB (AH1)	4	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
MTB (HR36)	5	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
MTB (HR37Rv)	4	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	NEUSPJEŠAN (FAIL)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)

Uzorak	Linija soja	inhA	katG	fabG1	oxyR-ahpC ^a	gyrA1	gyrA2	gyrA3	gyrB2	rrs	eis
M.canetti	Nije dodijeljeno	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	NEUSPJEŠAN (FAIL)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
M.microti	Nije dodijeljeno	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)

^a LoD za oxyR-ahpC viši je od onoga za inhA koji je korišten za određivanje pozitivnosti MTB-a. ZADOVOLJAVA (PASS) označava da su sva testirana ponavljanja dala očekivanu ciljanu mutaciju (Tm) divljeg tipa; NE ZADOVOLJAVA (FAIL) označava da je najmanje jedan ili više ponavljanja dalo vrijednosti bez Tm-a.

Tablica 18. Analitička reaktivnost (uključivost) za sojeve otporne na lijekove (broj pozitivnih rezultata / ukupno testiranih)

Identifikacijska oznaka soja	Gen	Očekivana mutacija	MTB otkriven	Tm sonde mutanta otkriven (broj pozitivnih/testiranih)	Točni rezultati OTPORNOST OTKRIVENA (RESISTANCE DETECTED) (broj pozitivnih/testiranih)
Klinički	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]
Klinički	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]
Klinički	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]

Identifikacijska oznaka soja	Gen	Očekivana mutacija	MTB otkriven	Tm sonde mutanta otkriven (broj pozitivnih/testiranih)	Točni rezultati OTPORNOST OTKRIVENA (RESISTANCE DETECTED) (broj pozitivnih/testiranih)
	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]
Klinički	gyrA	GCG 90 GTG, GAC 94 GGC	3 / 3	gyrA3-MutB (3/3)	FLQ [3/3]
	inhA	C -15 T		inhA-Mut (3/3)	INH [3/3]
	ahpC	G-6A		ahpC (2/3) ^b	INH [3/3]
Klinički	katG	AGC 315 ACC	3 / 3	katG Mut (3/3)	INH [3/3]
Klinički	gyrB2	ACC 539 AAC	3 / 3	gyrB2 WT ^c	*Nije otkrivena otpornost [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]
Klinički	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 Ovaj uzorak koji sadržava tri različite mutacije u genu *gyrA* nije dao mutantne Tm-ove za sonde sva tri gena *gyrA* svaki puta. No kako bi se točno odredila otpornost, najmanje jedna sonda mora dati mutantne Tm-ove. Rezultat je bio točan za sva ponavljanja budući da je najmanje jedna sonda za gen *gyrA* uvijek dala najmanje jedan Tm mutanta pri testiranju.
- ^b Ovaj je uzorak dvostruki mutant gena *katG* / *ahpC*. Ponavljanje s mutantnim Tm-om nedostajućeg gena *ahpC* nazvan je INH-R zbog prisutnosti mutacije *katG*, koja je otkrivena testom.
- ^c Ova specifična mutacija nije otkrivena testom. No postoje ograničeni klinički dokazi da ta mutacija zapravo može pridonijeti otpornosti fluorokinolona (FLQ) (mutacija s niskom pouzdanosti za otpornost na FLQ).

19.4 Ispitivanje ometajućih tvari

Učinkovitost testa Xpert MTB/XDR procijenjena je u prisutnosti 35 potencijalno ometajućih tvari koje mogu biti prisutne u iskašljaju. Razredi potencijalno ometajućih tvari uključuju endogene tvari koje mogu biti prisutne u uzorku i egzogene tvari koje se mogu unijeti u uzorak. Testirane su izotonične ili hipertonične otopine, bronhodilatatori i bronhodilatatori za inhalaciju koji se često koriste u prikupljanju induciranog iskašlja i ne ometaju test. Indukcija fiziološke otopine može dovesti do nedovoljnog broja pronađenih organizama i može utjecati na otkrivanje bakterije *M. tuberculosis*.

Testirane tvari navedene su u Tablica 19 s prikazanim aktivnim sastojcima i testiranim koncentracijama. Negativni uzorci (n = 8) testirani su na svaku tvar kako bi se utvrdio učinak učinkovitosti kontrole obrade uzorka (SPC). Pozitivni uzorci (n = 8) *Mycobacterium bovis*, *bacil Calmette-Guerin (BCG)* nabodeni pri 3x analitičke granice otkrivanja za pozitivan rezultat na TB testirani su na svaku tvar. Sve su tvari testirane u skupnom ljudskom iskašljaju negativnom na MTB. Sva pozitivna i negativna ponavljanja točno su identificirana testom Xpert MTB/XDR, osim gela Zicam (50 % w/v; koji je dao rezultat **MTB NIJE OTKRIVEN (MTB NOT DETECTED)** u 11,1 % testiranih ponavljanja).

Tablica 19. Testirane potencijalno ometajuće tvari u Xpert MTB/XDR

Tvar/razred	Opis / aktivni sastojak	Testirana koncentracija
Krv (ljudska)	Krv 5 % (v/v)	5 % (v/v)
Ljudski DNK/stanice	Stanična linija HELA 229	10 ⁶ stanica/ml
Bijele krvne stanice (ljudske)	Matrica bijelih krvnih stanica/gnoja (30 % leukocitno trombocitni međusloj; 30 % plazma; 40 % PBS)^	100 % (v/v)
Antimikotik; antibiotik	Nistatin 500KU (100 %)	20 % (v/v)
Germicidna tekućina za ispiranje usta	Klorheksidin-glukonat (0,12 %) tekućina za ispiranje usne šupljine, USP	20 % (v/v)
Reagensi za obradu uzorka	Cetilpiridinijev klorid, 1 % u 2 %-tnom NaCl-u	0,5 % (v/v) u 1 %-tnom NaCl-u
Reagensi za obradu uzorka	Cetilpiridinijev klorid, 1 % u 2 %-tnom NALC-u	0,5 % (v/v) u 1 %-tnom NALC-u
Reagensi za obradu uzorka	Cetilpiridinijev klorid, 1 % u 2 %-tnom NALC-u plus 25 mmol citrat	0,5 % (v/v) u 1 %-tnom NALC-u plus 12,5 mM citrat
Želučana kiselina	Otopina u vodi s pH vrijednosti od 3 do 4, neutralizirana natrijevim bikarbonatom	100 % (v/v)
Anestetik (endotrahealna intubacija)	Lidokain HCl 4 %	4 % (v/v)
Otopine za raspršivanje	NaCl 5 % (w/v)	5 % (w/v)
Mucin	Mucin 5 % (w/v)	5 % (w/v)
Antibakterijski, sistemski	Levofloksacin 25 mg/ml	5 mg/ml
Kortikosteroidi za nos	Flutikazon 500 mcg/raspršivač	5 µg/ml;
Inhalacijski bronhodilatatori	Albuterol sulfat (2 mg/5 ml)	100 µg/ml
Oralni anestetici	Orajel (20 %-tni benzokain)	5 % (w/v)
Antivirusni lijekovi	Aciklovir	50 µg/ml
Antibiotik, mast za nos	Neosporin (400 U bacitracin, 3,5 mg neomicin, 5000 jedinica polimiksin B)	5 % (w/v)
Duhan	Nicogel 40 %-tni ekstrakt duhana	0,5 %
Antituberkulozni lijekovi	Streptomycin 1 mg/ml	25 µg/ml
Antituberkulozni lijekovi	Etambutol 1 mg/ml	50 µg/ml
Antituberkulozni lijekovi	Izoniazid 50 mg/5ml	50 µg/ml
Oralni ekspektoransi	Guaifenesin (400 mg/tableta)	5 mg/ml
Antituberkulozni lijekovi	Pirazinamid (500 mg/tableta)	100 µg/ml
Gel za nos (homeopatski)	Gel Zicam	50 % (w/v)
		20 % (w/v)
Raspršivač za nos	Fenilefrin 1 %	0,5 % (v/v)

Tvar/razred	Opis / aktivni sastojak	Testirana koncentracija
Antituberkulozni lijekovi	Rifampicin (300 mg/tableta)	25 µg/ml
Lijek za ublažavanje simptoma alergije (homeopatski)	100 %-tno čisto ulje čajevca (<5% Cineole, >35 % terpinen-4-01)	0,5 % (v/v)
Otopine za raspršivanje	Pentamidin izetionat	300 ng/ml
Antituberkulozni lijekovi	Amoksicilin	25 µg/ml
Bronhodilatator	Epinefrin	1 mg/ml
Antituberkulozni lijekovi	Amikacin	70 ug/ml
Antituberkulozni lijekovi	Kapreomicin	50 ug/ml
Antituberkulozni lijekovi	Kanamicin	50 ug/ml
Antituberkulozni lijekovi	Etionamid	50 ug/ml
Flu Mist Qual Nasal	Živo intranazalno cjepivo protiv virusa gripe	5 %

19.5 Ispitivanje prenosivosti kontaminacije

Provedeno je ispitivanje kako bi se dokazalo da se prenosivost križne kontaminacije ne javlja prilikom upotrebe jednokratnih, autonomnih uložaka Xpert MTB/XDR. Ispitivanje se sastojalo od obrade negativnog uzorka neposredno nakon obrade visoke koncentracije *Mycobacterium bovis-bacila Calmette-Guerin* (BCG) pri $1 \times 10^{+6}$ CFU/ml u ljudskom iskašljaju u istom modulu Gene Xpert. Ta shema testiranja ponovljena je najmanje 20 puta na dva modula GeneXpert za ukupno 41 pokretanje testova, što je dalo 20 pozitivnih i 21 negativan uzorak po modulu.

Svih 20 pozitivnih uzoraka ispravno je prijavljeno kao **MTB OTKRIVEN (MTB DETECTED)**; **otpornost na INH NIJE OTKRIVENA (INH Resistance NOT DETECTED)**; **otpornost na FLQ NIJE OTKRIVENA (FLQ Resistance NOT DETECTED)**; **otpornost na AMK NIJE OTKRIVENA (AMK Resistance NOT DETECTED)**; **otpornost na KAN NIJE OTKRIVENA (KAN Resistance NOT DETECTED)**; **otpornost na CAP nije otkrivena (CAP Resistance NOT DETECTED)**; **otpornost na ETH NIJE OTKRIVENA (ETH Resistance NOT DETECTED)**. Svi od 21 negativnog uzorka ispravno su prijavljeni kao **MTB NIJE OTKRIVEN (MTB NOT DETECTED)**. Pod uvjetima iz tog ispitivanja nije bilo dokaza o prenosivosti križne kontaminacije pri testiranju s vrlo visoko pozitivnim uzorkom *BCG-a* pri koncentraciji od $1,0 \times 10^{+6}$ CFU/ml.

19.6 Ispitivanje konkurentne interferencije

Konkurentna interferencija testa izazvana prisutnošću visokih koncentracija mikobakterija koje ne uzrokuju tuberkulozu (NTM) pri otkrivanju niskih razina MTB-a u testu Xpert MTB/XDR procijenjena je testiranjem reprezentativnog člana MTBC-a. BCG pri $\sim 3 \times \text{LoD-a}$ (411 CFU/ml) u prisutnosti različitih sojeva NTM-a pri koncentraciji od $1 \times 10E+06$ CFU/ml u pozadini negativnog kontrolnog pufera. Pozitivnost na MTB temelji se na otkrivanju valjane vršne visine tališta i vršne temperature tališta promotora gena *inhA*. Otkrivanje otpornosti temelji se na valjanoj obostranoj vršnoj visini tališta i obostranoj vršnoj temperaturi tališta za pojedine analite (*inhA*, *katG*, *gyrA1*, *gyrA2*, *gyrA3*, *gyrB2* i *eis*). Analiti *oxyR-ahpC* i *fabG1* isključeni su zbog niže osjetljivosti, a *rrs* je isključen zbog poznate interferencije s mikroflorom. Svi uzorci koji sadržavaju BCG trebali bi imati rezultate **MTB OTKRIVEN (MTB DETECTED)**; **otpornost na INH NIJE OTKRIVENA (INH Resistance NOT DETECTED)**; **otpornost na FLQ NIJE OTKRIVENA (FLQ Resistance NOT DETECTED)**; **otpornost na AMK NIJE OTKRIVENA (AMK Resistance NOT DETECTED)**; **otpornost na KAN NIJE OTKRIVENA (KAN Resistance NOT DETECTED)**; **otpornost na CAP NIJE OTKRIVENA (CAP Resistance NOT DETECTED)**; **otpornost na ETH NIJE OTKRIVENA (ETH Resistance NOT DETECTED)**.

Testirano je četiri ponavljanja svakog uvjeta konkurentnog miješanog testa za NTM/ BCG zajedno s pozitivnim kontrolnim uvjetom samo s BCG-om pri $\sim 3 \times \text{LoD-a}$. Nijedan od sojeva NTM-a nije ometao otkrivanje 411 CFU/ml BCG-a i dao je točan rezultat kako je ranije spomenuto. No pod uvjetima iz ovog ispitivanja uočeni su konkurentni inhibicijski učinci u prisutnosti samo jednog od dvaju testiranih sojeva bakterije *M.marinum* (ATCC 0927). Interferencija sa sondama

gyrA2 uočena je samo pri izazovnim koncentracijama od >10⁴ CFU/ml, što je dovelo do rezultata NEODREĐEN (INDETERMINATE) za otpornost na FLQ pri tim visokim izazovnim koncentracijama. Proučite Odjeljak 17. Ograničenja za dodatne informacije.

Tablica 20. Konkurentna interferencija NTM-om na otkrivanje MTB-a i otkrivanje osjetljivosti na lijekove

Testni uvjet / ID soja NTM	NTM CFU/ml	MTB otkriven	INH	FLQ	AMK	KAN	CAP	ETH
MTB + <i>M. avium</i> / (NJH)	10E+06	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
MTB + <i>M.gastir</i> / (ATCC 15754)	10E+06	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
MTB + <i>M.gordonae</i> / (NJH)	10E+06	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
MTB + <i>M.gordonae</i> / (ATCC 14470)	10E+06	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
MTB + <i>M.gordonae</i> / (ATCC 35760)	10E+06	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
MTB + <i>M. marinum</i> / (NJH)	10E+06	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
MTB + <i>M. marinum</i> / (ATCC 0927)	10E+06	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	NEUSPJEŠAN (FAIL)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
	10E+05	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	NEUSPJEŠAN (FAIL)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
	10E+04	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
	10E+03	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
MTB + <i>M.xenopi</i> / (ATCC 700084)	10E+06	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
MTB + <i>M.avian</i> / (ATCC 15769)	10E+06	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
MTB + <i>M.intracellulare</i> / (ATCC 35771)	10E+06	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
MTB + <i>M.abscessus</i> / (ATCC 19977)	10E+06	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
MTB + <i>M.kansasii</i> / (ATCC 12478)	10E+06	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)	ZADOVOLJAVA (PASS)
„ZADOVOLJAVA (PASS)” označava da su sva testirana ponavljanja dala očekivani rezultat „OTPORNOST NIJE UOČENA (RESISTANCE NOT DETECTED)” za relevantne lijekove;								
„NEUSPJEŠAN (FAIL)” označava da je najmanje jedno ili više ponavljanja dalo rezultat „OTPORNOST JE NEODREĐENA (RESISTANCE INDETERMINATE)” za određeni lijek.								

19.7 Istovrijednost svježeg i zamrznutog iskašljaja

Istovrijednost svježeg i zamrznutog iskašljaja s testom Xpert MTB/XDR procijenjena je testiranjem stanica *M.bovis* – bacila Calmette- Guerin (BCG) u pozadini skupnog neobrađenog iskašljaja negativnog na MTB pri dvije koncentracije koje su predstavljale 3X LoD-a (400 CFU/ml) i 1000 X LoD-a (1,3 × 10⁵ CFU/ml). Ponovljeni uzorci pri svakoj koncentraciji zamrznuti su i čuvani na – 80 °C te je odmrznuto i testirano najmanje 8 ponavljanja nakon čuvanja 1 tjedan, 2 tjedna, 1 mjesec, 3 mjeseca, 6 mjeseci i 9 mjeseci. Rezultati su uspoređeni s neobrađenim iskašljajem nabodenim s istim koncentracijama testiranim u vremenskoj točki nula prije zamrzavanja.

Nije bilo utjecaja na učinkovitost testa, a točni rezultati dobiveni su za sva ponavljanja testirana pri 3 X LoD-a nakon čuvanja na – 80 °C u trajanju od 2 tjedna, 3 mjeseca i 6 mjeseci. Jedno ponavljanje u vremenskoj točki 1 tjedna dalo je rezultat **Neodređena otpornost na INH (INH-Resistance Indeterminate)** zbog ispada sonde za *katG*, a jedno ponavljanje nakon 1 mjeseca dalo je ispad gena *ahpC*, no točni rezultati dobiveni su za sva ponavljanja nakon 3 i 6 mjeseci. Točni rezultati dobiveni su u vremenskoj točki nakon 9 mjeseci pri 3 X LoD-a u 8 od 9 ponavljanja (89 %). Nije uočen utjecaj na učinkovitost testa kad je iskašljaj s 1000 X LoD-a čuvan na – 80 °C u svim vremenskim točkama testiranim kroz 9 mjeseci. Rezultati iz ovog ispitivanja podupiru čuvanje zamrznutog neobrađenog iskašljaja na – 80 °C do 6 mjeseci.

19.8 Inaktivacija mikobakterija u uzorcima iskašljaja

Mogućnost dezinfekcije reagensa za uzorak Xpert MTB određena je pomoću standardizirane kvantitativne metode tuberkulocidne kulture.²¹ Uzorci iskašljaja nabodeni su visokom koncentracijom aktivne bakterije *M. bovis*, pomiješani s reagensom za uzorak u omjeru 2:1 i inkubirani 15 minuta. Nakon inkubacije mješavina reagensa za uzorak i iskašljaja neutralizirana je razrjeđivanjem i filtracijom, a zatim je uzgojena. Održivost organizama bakterije *M. bovis* iz obrađenog iskašljaja smanjena je za najmanje 6 log u odnosu na neobrađenu kontrolu.

Svaki laboratorij mora odrediti učinkovitost svojstava dezinfekcije reagensa za uzorak koristeći se vlastitim standardiziranim metodama i mora se pridržavati preporučenih propisa o biološkoj sigurnosti.

20 Preciznost i reproducibilnost

Preciznost i reproducibilnost testa Xpert MTB/XDR utvrđena je u multicentričnom (tri lokacije), slijepom ispitivanju primjenom ugniježdenog dizajna s više faktora. Ispitivanje se sastojalo od petočlanog panela uzoraka, a svaki je član panela pripremljen nabaddanjem soja MTB divljeg tipa (WT) te soja MTB mutanta (MUT) u matricu umjetnog iskašljaja. Sojevi WT i MUT izrađeni su od plazmida koji su nosili ili sekvence MTB XDR divljeg tipa ili mutanta za gene na koje je bio usmjeren test, kapsulirane u neživu, kemijski fiksiranu bakteriju *E.coli*.

Članovi panela pripremljeni su pri ~1xLoD-a i ~3xLoD-a pomoću temperatura taljenja (T_m) promotorskog cilja gena *inhA* u testu Xpert MTB/XDR, čime je dobiven rezultat **MTB OTKRIVEN/NIJE OTKRIVEN (MTB DETECTED/NOT DETECTED)** ovisno o prisutnosti ili odsutnosti specifičnog T_m -a promotora divljeg tipa ili mutanta gena *inhA*. Testiranje je provedeno tijekom šest dana s tri serije uložaka Xpert MTB/XDR. Na svakoj lokaciji bila su dva korisnika (OP1 i OP2), a svaki od njih proveo je dva pokretanja testa s dva ponavljanja/pokretanja svakoga dana. Ponavljanje je bio test s jednim uloškom. Postotno slaganje za svaki član panela predstavljeno je u Tablica 21.

Tablica 21. Postotno slaganje Xpert MTB/XDR za otkrivanje MTB-a i gena *inhA*

Uzorak	Lokacija 1			Lokacija 2			Lokacija 3			Ukupno slaganje prema uzorku
	OP 1	OP 2	Podzbroj	OP 1	OP 2	Podzbroj	OP 1	OP 2	Podzbroj	
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)
NEG	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	100 % (24/24)	100 % (48/48)	100 % (24/24)	95,8 % (23/24)	97,9 % (47/48)	99,3 % (143/144)

Učinkovitost testa Xpert MTB/XDR u sojevima MTB WT i MUT pri niskom (~1x) i umjerenom (~3x) LoD-u uzoraka panela za svaki ciljni gen u kojem je otkriven MTB predstavljena je u Tablica 22.

Tablica 22. Postotno slaganje testa Xpert MTB/XDR u vrstama uzoraka MTB MUT i WT

Lijek	Postotno slaganje			
	MTB MUT 1x LoD (95 %-tni CI) [broj slaganja/ ukupan broj]	MTB MUT 3x LoD (95 %-tni CI) [broj slaganja/ ukupan broj]	MTB WT 1x LoD (95 %-tni CI) [broj slaganja/ ukupan broj]	MTB WT 3x LoD (95 %-tni CI) [broj slaganja/ ukupan broj]
INH	100,00 % (97,3 – 100) [139/139]	100,00 % (97,4 – 100,0) [143/143]	89,1 % (82,6 – 93,4) [115/129]	99,3 % (96,2 – 99,9) [143/144]
FLQ	87,80 % (81,3 – 92,2) [122/139]	100,00 % (97,4 – 100,0) [143/143]	81,4 % (73,8 – 87,2) [105/129]	95,8 % (91,2 – 98,1) [138/144]
ETH	100,00 % (97,3 – 100) [139/139]	100,00 % (97,4 – 100,0) [143/143]	99,2 % (95,7 – 99,9) [128/129]	100,0 % (97,4 – 100,0) [144/144]
AMK	100,00 % (97,3 – 100) [139/139]	100,00 % (97,4 – 100,0) [143/143]	91,5 % (85,4 – 95,2) [118/129]	98,6 % (95,1 – 99,6) [142/144]
CAP	99,30 % (96,3 – 99,0) [138/139]	100,00 % (97,4 – 100,0) [143/143]	98,4 % (94,5 – 99,6) [127/129]	99,3 % (96,2 – 99,9) [143/144]
KAN	100,00 % (97,3 – 100) [139/139]	100,00 % (97,4 – 100,0) [143/143]	91,5 % (85,4 – 95,2) [118/129]	98,6 % (95,1 – 99,6) [142/144]

21 Reference

1. WHO. Global Tuberculosis Report 2019 www.who.int/tb/publications/global_report
2. WHO. 2018, Rapid Communication: Key changes to treatment of multidrug- and rifampicin-resistant tuberculosis.
3. WHO, 2019, Rapid Communication: Key changes to the treatment of drug-resistant tuberculosis
4. Sulis G, Pai M (2020) Isoniazid-resistant tuberculosis: A problem we can no longer ignore. PLoS Med 17(1): e1003023
5. Soumitesh Chakravorty, Sandy S. Roh, et al Department of Medicine, New Jersey Medical School, Newark, New Jersey, USA Detection of Isoniazid-, Fluoroquinolone-, Amikacin-, and Kanamycin-Resistant Tuberculosis in an Automated, Multiplexed 10-Color Assay Suitable for Point-of-Care Use J Clin Microbiol Jan 2017 Volume 55 Issue 1.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Chosewood, LC and Wilson, DE (eds) (2009). HHS Publication number (CDC) 21-1112.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Dokument M29 (proučite najnovije izdanje).
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Laboratory Detection and Identification of Mycobacteria; Document M48A (proučite najnovije izdanje).

9. UREDBA (EZ) br. 1272/2008 EUROPSKOG PARLAMENTA I VIJEĆA od 16. prosinca 2008. o razvrstavanju, označivanju i pakiranju tvari i smjesa, o izmjeni i stavljanju izvan snage Popisa oznaka obavijesti, Direktive 67/548/EEZ i Direktive 1999/45/EZ i o izmjeni Uredbe (EZ) br. 1907/2006.
10. Propisi o sigurnosti i zdravlju na radu, Priopćavanje opasnosti, Otrovne i opasne tvari (26. ožujka 2012.) (29 C.F.R., str. 1910, podtočka Z.
11. Kent PT, Kubica GP 1985. Public Health Mycobacteriology—A Guide for Level III Laboratory, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546
12. Camus JC, et al. 2002. Re-annotation of the genome sequence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Microbiology* 148:2967–73.)
13. Zhang et al. 1996. Molecular basis for the exquisite sensitivity of *Mycobacterium tuberculosis* to isoniazid. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(23):13212–13216
14. Maruri et al. 2012. A systematic review of gyrase mutations associated with fluoroquinolone-resistant *Mycobacterium tuberculosis* and a proposed gyrase numbering system. *J Antimicrob Chemother*.
15. Vadwai V, Ajbani K, Jose M, Vineeth VP, Nikam C, Deshmukh M, Shetty A, Soman R, Rodrigues C. Can inhA mutation predict ethionamide resistance? *Int J Tuberc Lung Dis*. 2013 Jan;17(1):129-30. doi: 10.5588/ijtld.12.0511. Epub 2012 Nov 8. PubMed PMID: 23146620
16. Dunn JJ, Starke JR, Revell PA. 2016. Laboratory diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection and disease in children. *J Clin Microbiol* 54:1434–1441. doi:10.1128/JCM.03043
17. Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children, *Am J Respir Crit Care Med* Vol 161 pp 1376–1395, 2000.
18. Seifert M, Catanzaro D, Catanzaro A, Rodwell TC (2015) Genetic Mutations Associated with Isoniazid Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: A Systematic Review. *PLoS ONE* 10(3): e0119628. doi:10.1371/journal.pone.0119628
19. Farhat MR, Jacobson KR, Franke MF, Kaur D, Sloutsky A, Mitnick CD, Murray M. 2016. Gyrase mutations are associated with variable levels of fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 54:727–733. doi:10.1128/JCM.02775-15.
20. Gagneux S, Small PM. Global phylogeography of *Mycobacterium tuberculosis* and implications for tuberculosis product development. *Lancet Infect Dis*. 2007 May;7(5):328-37.
21. Banada, P. et.al. Containment of Bioaerosol Infection Risk by the Xpert MTB/RIF Assay and Its Applicability to Point of Care Settings. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010.48:10. 3551-3557.

22 Lokacije glavnih sjedišta tvrtke Cepheid

Corporate Headquarters

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

European Headquarters

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

23 Tehnička pomoć

Prije nego nam se obratite

Prije nego se obratite Tehničkoj podršci društva Cepheid, prikupite sljedeće podatke:

- Naziv proizvoda
- Broj serije
- Serijski broj instrumenta
- Poruke o greškama (ako postoje)
- Verzija softvera i, ako je primjenjivo, broj servisne oznake računala

Tehnička podrška u Sjedinjenim Državama




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

















Tehnička podrška u Francuskoj

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

Podaci o kontaktu za sve urede tvrtke Cepheid za tehničku podršku dostupni su na našoj internetskoj stranici:
www.cepheid.com/en/support/contact-us.

24 Tablica simbola

Simbol	Značenje
	Kataloški broj
	<i>In vitro</i> dijagnostički medicinski proizvod
	Oznaka CE – sukladnost s europskim propisima

Simbol	Značenje
	Ne upotrebljavati višekratno
	Kod serije
	Proučite upute za upotrebu
	Proizvođač
	Sadrži dovoljno za <i>n</i> testova
	Kontrola
	Rok valjanosti
	Ograničenje temperature
	Biološki rizici
	Oprez
	Zapaljive tekućine
	Nagrizanje kože
	Reproduktivna i razvojna toksičnost
	Država proizvodnje
	Ovlašteni predstavnik u Švicarskoj
	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



25 Povijest revizija

Odjeljak	Opis promjene
Tablica simbola	Dodan predstavnik za Švicarsku i simboli uvoznika te definicije u tablici simbola. Dodan predstavnik za Švicarsku i informacije o uvozniku s adresom u Švicarskoj.
Povijest revizija	Ažurirana tablica s povijesti revizija.