

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

REF GXMTB/RIF-ULTRA-10

REF GXMTB/RIF-ULTRA-50

Инструкции за употреба



Декларации за търговски марки, патенти и авторски права

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, and Xpert® are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2017–2025 Cepheid.

Cepheid®, Cepheid лого, GeneXpert® и Xpert® са търговски марки на Cepheid, регистрирани в САЩ и дръги държави.

Всички други търговски марки са притежание на техните съответни собственици.

ПОКУПКАТА НА ТОЗИ ПРОДУКТ ПРЕДОСТАВЯ НА КУПУВАЧА НЕПРЕХВЪРЛЯЕМОТО ПРАВО ДА ГО ИЗПОЛЗВА В СЪОТВЕТСТВИЕ С ТЕЗИ ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА. НЕ СЕ ПРЕДОСТАВЯТ НИКАКВИ ДРУГИ ПРАВА - ИЗРИЧНИ, ПО ПОДРАЗБИРАНЕ ИЛИ ПО КОСВЕН ПЪТ. ОСВЕН ТОВА С ПОКУПКАТА НА ТОЗИ ПРОДУКТ НЕ СЕ ПРЕОТСТЪПВАТ НИКАКВИ ПРАВА ЗА ПРЕПРОДАЖБА.

© 2017–2025 Cepheid.

Вижте Раздел 21, История на ревизиите за описание на промените.

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

За употреба при *In Vitro* диагностика

1 Фирмено наименование

Xpert[®] MTB/RIF Ultra

2 Често или обичайно наименование

Xpert MTB/RIF Ultra

3 Предвидена употреба

Тестът Xpert MTB/RIF Ultra, извършен на GeneXpert[®] Instrument Systems е полу-количествен, вложен в полимеразна верижна реакция в реално време (PCR) *in vitro* диагностичен тест за откриване на ДНК на комплекс *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) в необработени проби от храчка или концентрирани утайки, приготвени от индуцирана или експекторирана храчка. В проби, в които е открит комплекс *Mycobacterium tuberculosis*, Xpert MTB/RIF Ultra тестът може също да открие свързани с резистентност към рифампин мутации на гена *rpoB*.

Xpert MTB/RIF Ultra тестът е предназначен за използване с проби от пациенти, за които има клинично съмнение за туберкулоза (TB) и които не са получавали противотуберкуозна терапия или по-малко от 3 дни терапия през последните 6 месеца. Този тест е предназначен за помощ при диагностицирането на белодробна туберкулоза, когато се използва заедно с клинични и други лабораторни находки.

4 Обобщение и обяснение

В световен мащаб около 1,7 милиарда души са заразени с MTB.¹ През 2018 г. 10,0 милиона души са развили активно заболяване, а 1,45 милиона души са загубили живота си от болестта.² Пътят на предаване на белодробната туберкулоза е по въздуха, което прави това заболяване силно трансмисивно. Предвид инфекциозния характер на белодробната туберкулоза, бързата и точна диагностика е важен елемент от лечението и контрола на туберкулозата.

Лечението включва продължително приложение на множество лекарства и обикновено е много ефективно. Въпреки това, щамове *M. tuberculosis* могат да станат резистентни към едно или повече от лекарствата, което прави лечението много по-трудно за постигане. Четири общи лекарства от първа линия, използвани в противотуберкулозната терапия, са изониазид (INH), рифампин (известен също като рифампицин, RIF), етамбутол (EMB) и пиразинамид (PZA). Както е документирано от Световната здравна организация, резистентността към RIF рядко се среща сама по себе си и обикновено показва резистентност към редица други противотуберкулозни лекарства.³ Най-често се наблюдава при мултирезистентни (MDR-TB) щамове (дефинирани като резистентни както към RIF, така и към INH) и има отчетена честота над 95% при такива изолати.^{4,5,6} Резистентността към RIF или други лекарства от първа линия обикновено показва необходимостта от пълно изследване за чувствителност, включително тестване срещу агенти от втора линия.

Молекулярното откриване на генни мутации на TB и *rpoB*, свързани с резистентност към RIF, значително намалява времето за диагностициране както на чувствителната към лекарства, така и на MDR туберкулозата. С теста Xpert MTB/RIF Ultra това може да се постигне в необработени проби от храчки и в подготвени утайки за по-малко от 80 минути. Бързото откриване на MTB и RIF резистентност позволява на лекаря да взема критични решения за управление на пациента по отношение на терапията по време на един медицински преглед.

5 Принцип на процедурата

GeneXpert Instrument Systems интегрираната и автоматизираната обработка на пробата, амплификацията на нуклеиновата киселина и откриването на таргетните секвенции в прости или комплексни проби с помощта на PCR и откриване на пик на топене в реално време. Системата се състои от инструмент, персонален компютър, баркод скенер и предварително зареден софтуер за провеждане на тестове на проби на пациенти и разглеждане на резултати. Системата изисква употребата на касети за еднократна употреба GeneXpert, в които се държат реагентите за PCR и се извършват процесите на PCR. Тъй като касетите са автономни, насрещното замърсяване между пробите е сведено до минимум. За пълно описание на системата вижте *GeneXpert Dx System Operator Manual*, *GeneXpert Edge System User's Guide* или *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Xpert MTB/RIF Ultra тестът включва реагенти за откриване на резистентност към MTB и RIF и контрол за обработка на пробата (SPC) за контрол за адекватна обработка на целевите бактерии и за наблюдение на наличието на инхибитор(и) в PCR реакцията и последващото откриване на пика на топене. Контролата за проверка на сондите (PCC) потвърждава рехидратацията на реагента, зареждането на епруветката за PCR в касетата, целостта на сондите и стабилността на багрилото.

Праймерите в Xpert MTB/RIF Ultra теста амплифицират част от гена *rpoB*, съдържащ 81 базови двойки в „ядрената“ област и части от целевите последователности на мулти-копие *IS1081* и *IS6110* инсерционни елементи. Анализът на топене с четири *rpoB* сонди е в състояние да направи разлика между запазената последователност от див тип и мутациите в областта на сърцевината, които са свързани с RIF резистентност. Двете сонди на инсерционния елемент подобряват откриването на *Mycobacterium tuberculosis* комплекса поради целевите последователности на инсерционния елемент с много копия в повечето щамове на туберкулозата.

6 Реагенти и инструменти

6.1 Доставени материали

Тестовият Xpert MTB/RIF Ultra комплект съдържа достатъчно реагенти за обработка на 50 проби. Комплектът съдържа следното:

Xpert MTB/RIF Ultra Касети с включени реакционни епруветки	10 на комплект	50 в един комплект
- Микросфера 1, микросфера 2 (изсушени чрез замразяване) - Микросфера 3 (изсушена чрез замразяване) - Реагент 1 - Реагент 2	По 2 от всяка на касета По 1 от всяка на касета 4 ml на касета 4 ml на касета	По 2 от всяка на касета По 1 от всяка на касета 4 ml на касета 4 ml на касета
Бутилки с реагент за проби	10	50
Реагент за проби	8 ml на бутилка	8 ml на бутилка
Еднократни пипети за прехвърляне	12 на комплект	60 на комплект
CD	1 на комплект	1 на комплект
- Файлове за дефиниране на анализа (ADF) - Инструкции за импортиране на ADF в софтуера - Инструкции за употреба (листовка в опаковката)		

Забележка Реагентът за проби (Sample Reagent, SR) може да е безцветен до жълт до кехлибарен на цвят. Цветът може да стане по-интензивен с времето, но това няма отражение върху действието му.

Забележка www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com ПОДДРЪЖКА (SUPPORT).

Забележка Говеждият серумен албумин (bovine serum albumin, BSA) в микросферите в този продукт е произведен и изработен специално от говежда плазма с източник в Съединените Щати. На животните не е даван протеин от преживни животни или друг животински протеин; животните са изследвани преди и след смъртта им. По време на обработката не е имало смесване на материала с други животински материали.

Забележка

Трансферните пипети имат единична резка, която указва минималния обем на третираната проба, който трябва да се прехвърли в касетата. Да се използват само за тази цел. Всички други пипети трябва да се доставят от лабораторията.

6.2 Съхранение и работа

- Съхранявайте касетите за Xpert MTB/RIF Ultra теста при 2-28 °C.
- Не отваряйте капака на касета, докато не сте готови да извършите тестване.
- Не използвайте реагенти или касети, които са с изтекъл срок на годност.

7 Необходими, но недоставени материали

- GeneXpert Dx System, GeneXpert Infinity System или GeneXpert Edge System (каталожният номер варира в зависимост от конфигурацията): Инструмент GeneXpert, компютър с фирмен софтуер GeneXpert, версия 4.7b или по-висока (GeneXpert Dx System), Xpertise™ 6.4b или по-висока (GeneXpert Infinity System), Софтуер GeneXpert Edge Версия 1.0 (GeneXpert Edge System), баркод сканиращо устройство и наръчник за оператора
- Принтер: Ако е необходим принтер, свържете се с търговски представител на Cepheid, за да организирате закупуване на препоръчителен принтер.
- Непропускливи, стерилни събирателни контейнери с винтова капачка
- Ръкавици за еднократна употреба
- Етикети и/или незаличим етиктиращ маркер
- Стерилни пипети за обработка на проби

8 Предупреждения, предпазни мерки и химически опасности

8.1 Предупреждения и предпазни мерки

- Третирайте всички биологични спесимени, включително използваните касети, като способни да предават инфекциозни агенти. Тъй като често е невъзможно да се знае коя проба би могла да е инфекциозна, всички биологични спесимени трябва да се третират със стандартните предпазни мерки. Насоките за работа с проби са на разположение от Центровете за контрол и превенция на заболяванията в САЩ⁷ и Института за клинични и лабораторни стандарти.⁸
- Носете предпазни ръкавици за еднократна употреба, лабораторни престилки и предпазни средства за очите при работа с проби и реагенти. Измийте старателно ръцете си след работа с пробите и тестовите реагенти.
- Спазвайте процедурите за безопасност във Вашата институция при работа с химикали и работа с биологични проби.
- Не замествайте реагенти за теста Xpert MTB/RIF Ultra с други реагенти.
- Не отваряйте капака на касетата за теста Xpert MTB/RIF Ultra, освен когато добавяте третираната проба.
- Не използвайте касета, която е била изпусната след изваждането ѝ от комплекта.
- Не използвайте касета, която е изпускана или разклащана или е разлято съдържанието на касетата, след като сте добавили третираната проба. Разклащането или изпускането на касетата след отваряне на капака може да доведе до фалшиви или неопределени резултати.
- Не поставяйте етикета с идентификатора на пробата върху капака на касетата или върху етикета с баркода.
- Не използвайте касета, ако изглежда мокра или се вижда, че уплътнението на капака е счупено.
- Не използвайте касета с повредена реакционна епруветка.
- Когато обработвате повече от една проба едновременно, отворете само една касета; добавете проба, третирана с реагент за проба и затворете капака на касетата, преди да обработите следващата проба. Между пробите сменяйте ръкавиците.
- Всяка Xpert MTB/RIF Ultra тестова касета, се използва за обработка на един тест. Не използвайте повторно обработени касети.

- Пипетата за еднократна употреба се използва за прехвърляне на един спесимен. Не използвайте повторно пипетите за еднократна употреба.
- Трябва да се спазват добрите лабораторни практики и ръкавиците трябва да се сменят между работата с всяка проба от пациент, за да се избегне замърсяване на пробите или реагентите. Редовно почиствайте работната повърхност/области с 10% белина, след което избършете отново повърхността със 70% етанол или изопропилов алкохол преди и след обработката с пробите.
- Биологичните спесимени, изделията за прехвърлянето им и използваните касети трябва да се разглеждат като способни да пренасят инфекциозни агенти, изискващи стандартни предпазни мерки. Спазвайте процедурите за отпадъците във Вашата институция за подходящо изхвърляне на използвани касети и неизползвани реагенти с цел опазване на околната среда. Тези материали могат да проявят характеристики на химически опасни отпадъци, които изискват специфични национални или регионални процедури на изхвърляне. Ако националните или регионалните регламенти не дават ясно указание за правилно изхвърляне, биологичните проби и използваните патрони трябва да се изхвърлят съгласно насоките за работа и изхвърляне на медицински отпадъци на Световната здравна организация (СЗО).

8.2 Химически опасности^{9,10}

Реагент за проби

- Съдържа изопропилов алкохол
- Съдържа натриев хидроксид
- Сигнална дума: ОПАСНОСТ
- Пиктограми за риска съгласно Глобалната хармонизирана система (GHS) на ООН: 

Фрази за риск на Глобалната хармонизирана система (GHS) на ООН

- Запалими течност и пари
- Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите.
- Предизвиква сериозно увреждане на очите.
- Предполага се, че причинява генетични дефекти.
- Предполага се, че уврежда плодовитостта или нероденото дете.
- Може да нанесе щети на органи при продължително или повтарящо се излагане.

Предупреждения за безопасност

Превенция

- Преди употреба се снабдете със специални инструкции.
- Не използвайте преди да сте прочели и разбрали всички предпазни мерки за безопасност.
- Да се пазят от топлина, искри, открит пламък и/или нагорещени повърхности. Тютюнопушенето е забранено.
- Съдът да се съхранява плътно затворен.
- Не вдишвайте мъглата, изпаренията и/или спреята.
- Да се измие старателно след употреба.
- Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.
- Използвайте предписаните лични предпазни средства.

Отговор

- При пожар: Използвайте подходящи средства за гасене.
- ПРИ ВДИШВАНЕ: Изведете пострадалия на чист въздух и го поставете в позиция, улесняваща дишането.
- Незабавно се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ или на лекар.
- ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА (или косата): Незабавно свалете цялото замърсено облекло. Облейте кожата с вода/ вземете душ.
- Изперете замърсеното облекло преди повторна употреба.
- Специализирано лечение (вж. допълнителната информация за първа помощ).
- ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: Промивайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Махнете контактните лещи, ако има такива, и ако е лесно да го направите. Продължете да изплаквате.

- ПРИ ПОГЛЪЩАНЕ: Изплакнете устата. НЕ предизвиквайте повръщане.
- ПРИ явна или предполагаема експозиция: Потърсете медицински съвет/помощ.
- При неразположение потърсете медицински съвет/помощ.

Съхранение/изхвърляне

- Изхвърляйте съдържанието и/или контейнера в съответствие с местните, регионалните, националните и/или международните разпоредби.

9 Вземане, транспорт и съхранение на спесимени

Вземане на спесимени

Следвайте протокола на вашата институция за вземане на проби.

Съберете хрочки или хрочки, предизвикани от аерозол, като следвате стандартните процедури на вашата институция. Тествайте необработена хрочка или концентрирана/обеззаразена утайка от хрочка. Вижте таблицата по-долу, за да определите подходящия обем на пробата.

Таблица 1. Необходим обем на спесимена

Тип спесимен	Минимален обем за един тест	Максимален обем на пробата	Съотношение проба към проба реагент (SR)
Утайка от хрочка	0,5 ml	2,5 ml	1,3 ^a
Необработена хрочка	1 ml	4,0 ml	1:2

^a Трябва да се използва съотношение 1:2 проба към SR с обем на пробата от 0,7 ml или повече за един тест.

Съхранение и транспорт

Преди третиране с реагент за проби

Утайка от хрочка: Съхранявайте ресуспендираната утайка при 2 – 8 °C до 7 дни.

Необработена хрочка: Транспортирайте и съхранявайте хрочките при 2 – 8 °C преди обработка, когато е възможно. Ако е необходимо, необработените проби от хрочки могат да се съхраняват при максимум 35 °C до три дни и след това при 2 – 8 °C за още седем дни.

10 Процедура за анализ

10.1 Процедура за обеззаразени, концентрирани утайки от хрочки

Забележка Отхвърляйте спесимени с видими частици храна или други твърди частици.

Изисквания за обем: Утайки от хрочки, приготвени съгласно метода на Kent и Kubica¹¹ и ресуспендирани в 67 mM фосфат/H₂O буфер), могат да бъдат тествани с помощта на Xpert MTB/RIF Ultra теста. След повторно суспендиране запазете поне 0,5 ml от ресуспендираната утайка за Xpert MTB/RIF Ultra теста. За всички обеми по-малки от 0,7 ml изпълнете стъпките 1–6. Тези стъпки изискват 3 части реагент за проба (SR) към 1 част утайка, за да се генерира подходящ обем (~2 ml) за оптимално изпълнение на анализа.

Ако обемът на пробата е равен на или по-голям от 0,7 ml, може да се получи адекватен обем за изпитване чрез добавяне на 2 части SR към 1 част утайка. В този пример 1,4 ml SR ще бъдат добавени към 0,7 ml утайка. Тези обеми се мащабират в съотношение 2 части SR към 1 част утайка.

1. Доведете касетата до стайна температура. Етикетирайте всяка Xpert MTB/RIF Ultra тестова касета с ID на пробата. Вижте Фигура 1.

Забележка Напишете от страни на касетата или залепете идентификационен етикет. Не поставяйте етикета върху капака на касетата или върху съществуващия 2D баркод на касетата.

2. Разбъркайте утайката чрез завихряне или използвайте пипета, за да аспирирате и изхвърлите материала достатъчно пъти, за да сте сигурни, че всички организми са в суспензията.
3. Прехвърлете 0,5 ml от общата ресуспендирана пелета в конична епруветка с винтова капачка за Xpert MTB/RIF Ultra теста, като използвате трансферна пипета.

Забележка Да се съхраняват повторно суспендираните утайки при 2 до 8°C, ако не бъдат обработени веднага. Не провеждайте Xpert MTB/RIF Ultra теста върху ресуспендирана утайка, която е била в хладилник за > 7 дни.

4. Прехвърлете 1,5 ml Xpert MTB/RIF Ultra реагент за проба (SR) към 0,5 ml ресуспендирана утайка с помощта на трансферна пипета. Затегнете здраво капачката.
5. Разклатете енергично 10 до 20 пъти или разбъркайте на вортекс поне 10 секунди.

Забележка Едно движение напред-назад е едно разклащане.

6. Инкубирайте за 10 минути при стайна температура и след това разклатете енергично пробата 10 до 20 пъти или разбъркайте на вортекс поне 10 секунди.
7. Инкубирайте пробата на стайна температура допълнително за 5 минути.

10.2 Процедура за необработена хрчка

Изискване за обем: Необходим е ≥ 1 ml необработена хрчка.

1. Доведете касетата до стайна температура. Етиктирайте всяка Xpert MTB/RIF Ultra тестова касета с ID на пробата. Вижте Фигура 1.

Забележка Напишете от страни на касетата или залепете идентификационен етикет. Не поставяйте етикета върху капака на касетата или върху съществуващия 2D баркод на касетата.



Фигура 1. Писане върху патрона с перманентна писалка за маркиране

2. След получаване на пробата в непропусклив контейнер за събиране на хрчки, внимателно отворете капака на контейнера за събиране на хрчки и прегледайте съдържанието, за да сте сигурни, че няма частици храна или други твърди частици. Вижте Фигура 2.

Забележка Отхвърляйте спесимени с видими частици храна или други твърди частици.



Фигура 2. Отваряне на контейнера за проби

3. Изсипете приблизително 2 пъти обема на SR в хрчката (разреждане 2:1, SR: хрчка).

Забележка Изхвърлете остатъците SR и бутилката в контейнер за химически отпадъци.



Фигура 3. Пример за разреждане 2:1 (8 ml SR:4 ml хрчка)



Фигура 4. Пример за разреждане 2:1 (2 ml SR:1 ml хрчка)

4. Сменете и закрепете капака. Разклатете енергично 10 до 20 пъти или разбъркайте на вортекс поне 10 секунди.

Забележка Едно движение напред-назад е едно разклащане.

5. Инкубирайте пробата за 10 минути на стайна температура.
6. Разклатете енергично пробата 10 до 20 пъти или разбъркайте на вортекс поне 10 секунди. Инкубирайте пробата на стайна температура допълнително за 5 минути.

Забележка Уверете се, че пробата е втечнена напълно. Ако пробата не е втечнена, повторете тази стъпка.

10.3 Подготовка на касетата

Когато използвате GeneXpert Dx System или GeneXpert Edge System, започнете теста в рамките на 4 часа от добавяне на пробата, обработена с реагент за проба, в касетата. След като пробата се добави към касетата, касетата трябва да остане на стайна температура преди започване на теста в рамките на четири часа. Ако използвате GeneXpert Infinity System, уверете се, че започвате теста и поставяте касетата на конвейера в рамките на 30 минути от добавянето на пробата, третирана с реагента за проби в касетата. Оставашият срок на годност се проследява от софтуера Xpertise, така че тестовите се извършват преди изтичане на 4-часовия срок в апарата.

- Забележка**
1. Отворете капака на касетата и след това отворете контейнера за проби.
 2. Като използвате предоставената трансферна пипета, аспирирайте втечнената проба точно над линията на пипетата. Вижте Фигура 5. Не обработвайте допълнително пробата, ако няма достатъчен обем.



Фигура 5. Аспириране до линията върху пипетата

3. Прехвърлете пробата в контейнера за проби на касетата Xpert MTB/RIF Ultra. Изпразнете пробата от пипетата бавно, за да сведете до минимум риска от образуване на аерозол. Вижте Фигура 6.



Фигура 6. Разпределяне на обеззаразена втечнена проба в контейнера за проби на касетата

4. Затворете капака на касетата плътно. Останалата втечнена проба може да се съхранява до 4 часа при 2 до 8 °C, в случай че е необходимо повторно изследване.

11 Провеждане на теста

- За GeneXpert Dx System, вижте Раздел 11.1.
- За GeneXpert Edge System, вижте Раздел 11.2.
- За GeneXpert Infinity System, вижте Раздел 11.3.

11.1 GeneXpert Dx System

11.1.1 Започване на теста

Преди започване на теста се уверете, че:

- Важно**
- Системата работи със софтуерната версия на GeneXpert Dx, показана в раздел „Необходими, но недоставени материали“.
 - В софтуера е импортиран правилният файл за дефиниране на анализа (ADF).

В този раздел са описани основните стъпки за провеждане на теста. За подробни инструкции, вижте *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

- Забележка**
- Стъпките, които следвате, могат да бъдат различни, ако системният администратор е променил работния поток по подразбиране на системата.
1. Включете GeneXpert Dx System, след което включете компютъра и влезте. Софтуерът GeneXpert ще стартира автоматично. Ако не стартира, щракнете два пъти върху иконата за пряк достъп до софтуера GeneXpert Dx на работния плот на Windows®.
 2. Влезте, като си използвате потребителското име и паролата.
 3. В прозореца **GeneXpert System**, натиснете **Създаване на Тест**. Показва се прозореца **Създаване на Тест**. Показва се диалоговото каре **Сканирай баркод идентификатора на пациента (Scan Patient ID barcode)**.
 4. Сканирайте или въведете идентификатора на пациента (Patient ID). Ако въвеждате идентификатора на пациента (Patient ID), уверете се, че е въведен точно. Идентификаторът на пациента (Patient ID) е свързан с резултатите от теста и се показва в прозореца **Разглеждане на резултати (View Results)** и във всички отчети. Показва се диалогово каре **Сканирай баркод идентификатора на пробата (Scan Sample ID barcode)**.
 5. Сканирайте или въведете идентификатора на пробата (Sample ID). Ако въвеждате ID на пробата (Sample ID), уверете се, че е въведен точно. Идентификаторът на пробата (Sample ID) е свързан с резултатите от теста и се показва в прозореца **Разглеждане на резултати (View Results)** и във всички отчети. Показва се диалогово каре **Сканирай баркода на касетата (Scan Cartridge barcode)**.
 6. Сканирайте баркода върху касетата. Като използва информацията от баркода, софтуерът автоматично попълва каретата за следните полета: Изберете анализ (Select Assay), Идентификатор на партидата реагенти (Reagent Lot ID), Сериен номер на касетата (Cartridge SN) и Срок на годност (Expiration Date).

- Забележка**
- Ако баркодът върху касетата не се сканира, то тогава повторете теста с нова касета. Ако сте сканирали баркода на касетата в софтуера и файлът за дефиниране на анализа не е наличен, се показва екран, показващ, че файлът за дефиниране на анализа не е зареден в системата. Ако се покаже този екран, свържете се с отдела за техническа поддръжка на Cepheid.

7. Натиснете **Начало на Теста**. В диалоговото каре, което се показва, въведете паролата си, ако се изисква.
8. Отворете вратата на модула на инструмента с мигащата зелена светлина и заредете касетата.
9. Затворете вратата. Тестът стартира и зелената светлина престава да мига. Когато тестът приключи, светлината изгасва.
10. Изчакайте докато системата освободи блокировката на вратата преди да отворите вратата на модула, след това извадете касетата.
11. Изхвърлете използваните касети в съответния контейнер за отпадъци от проби съгласно стандартните практики във Вашата институция.

Забележка

Не отваряйте и не се опитвайте да променят която и да е част от използваната касета за изхвърляне. Не изключвайте и не изваждайте щепсела на захранващия кабел на инструмента от контакта, докато се провежда тест. Изключването или изваждането на щепсела на захранващия кабел на инструмента или компютъра от контакта ще спре теста.

11.1.2 Разглеждане и отпечатване на резултати

Този раздел посочва основните стъпки за разглеждане и отпечатване на резултати. За по-подробни инструкции как да прегледате и отпечатате резултатите вижте *Ръководството за оператора на системата GeneXpert DX*.

1. Щракнете върху иконата **Разглеждане на резултати (View Results)**, за да разгледате резултатите.
2. След приключване на теста, щракнете върху бутона **Отчет (Report)** в прозореца **Разглеждане на резултати (View Results)**, за да разгледате и/или генерирате отчет като PDF файл.

11.2 GeneXpert Edge System

(Може да не е налично във всички държави)

11.2.1 Започване на нов тест

Допълнителен тест може да бъде започнат след като първият е в ход.

1. Докоснете бутона **НАЧАЛО (HOME)**.
Екранът **Начало (Home)** показва използвания модул като леко сив и с означение, че събирането на данни се изпълнява.
2. Докоснете бутона **ИЗПЪЛНИ НОВ ТЕСТ (RUN NEW TEST)** и продължете с новия тест, като следвате стъпките в Започване на теста.
3. След като вторият тест е в ход, докоснете бутона **НАЧАЛО (HOME)**.
Появява се статуса на двата теста. Когато тестът е завършен, текстът на иконата се променя на **Събирането на данни завършено (Data collection complete)** и се показва отметка върху иконата.
4. Докоснете иконата **Събирането на данни завършено (Data collection complete)**, за да се покаже екранът **Извади касетата (Remove Cartridge)**. Следвайте инструкциите на екрана, за да извадите касетата.

11.2.2 Разглеждане и отпечатване на резултати

Този раздел посочва основните стъпки за разглеждане и отпечатване на резултати. За по-подробни инструкции как да прегледате и отпечатате резултатите вижте *GeneXpert Edge System User's Guide*.

Забележка

Ако отчитате резултати с използване на LIS, потвърдете, че резултатите в LIS съответстват на резултатите в системата за полето с идентификатора на пациента; ако резултатите не са еднакви, отчетете само резултатите в системата.

1. Докоснете бутона **ПРЕГЛЕДАЙ ПРЕДИШНИ ТЕСТОВЕ (VIEW PREVIOUS TESTS)** на екрана **Начало (Home)**.
2. От екрана **Избери тест (Select Test)** изберете теста, като докоснете името на теста или като използвате стрелките, за да изберете теста.

11.3 GeneXpert Infinity System**11.3.1 Започване на теста**

Преди започване на теста се уверете, че:

- Важно**
- Системата работи със софтуерната версия на Xpertise, показана в раздел „Необходими, но недоставени материали“.
 - В софтуера е импортиран правилният файл за дефиниране на анализа (ADF).

В този раздел са описани основните стъпки за провеждане на теста. За подробни инструкции, вижте *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Забележка

Стъпките, които следвате, могат да бъдат различни, ако системният администратор е променил работния поток по подразбиране на системата.

1. Включете инструмента. Софтуерът Xpertise ще стартира автоматично. Ако не стартира, щракнете два пъти върху иконата за пряк достъп до софтуера Xpertise на работния плот на Windows®.
2. Влезте в компютъра, след което влезте в софтуера GeneXpert Xpertise, като използвате вашето потребителско име и парола.
3. В работното пространство **Xpertise Software Home**, натиснете **Поръчки(Orders)** и в работното пространство **Поръчки(Orders)**, натиснете **Поръчка на Тест(Order Test)**.
Дисплея на работното пространство **Поръчка на Тест (Order Test) - Идентификатор на Пациента (Patient ID)**.
4. Сканирайте или въведете идентификатора на пациента (Patient ID). Ако въвеждате идентификатора на пациента (Patient ID), уверете се, че е въведен точно.
Идентификаторът на пациента (Patient ID) е свързан с резултатите от теста и се показва в прозореца **Разглеждане на резултати (View Results)** и във всички отчети.
5. Въведете всяка допълнителна информация, изисквана от вашата институция, и щракнете върху бутона **ПРОДЪЛЖИ (CONTINUE)**.
Дисплея на работното пространство **Поръчка на Тест - ID на проба (Order Test - Sample ID)**.
6. Сканирайте или въведете идентификатора на пробата (Sample ID). Ако въвеждате ID на пробата (Sample ID), уверете се, че е въведен точно.
Идентификаторът на пробата (Sample ID) е свързан с резултатите от теста и се показва в прозореца **Разглеждане на резултати (View Results)** и във всички отчети.
7. Щракнете върху бутона **ПРОДЪЛЖИ (CONTINUE)**.
Дисплея на работното пространство **Поръчка на Тест - анализ (Order Test - Assay)**.
8. Сканирайте баркода върху касетата. Като използва информацията от баркода, софтуерът автоматично попълва каретата за следните полета: Изберете анализ (Select Assay), Идентификатор на партидата реагенти (Reagent Lot ID), Сериен номер на касетата (Cartridge SN) и Срок на годност (Expiration Date).

Забележка

Ако баркодът върху касетата не се сканира, то тогава повторете теста с нова касета. Ако сте сканирали баркода на касетата в софтуера и файлът за дефиниране на анализа не е наличен, се показва екран, показващ, че файлът за дефиниране на анализа не е зареден в системата. Ако се покаже този екран, свържете се с отдела за техническа поддръжка на Serheid.

След сканиране на касетата се показва работното пространство **Поръчка на Тест (Order Test) - Информация за Теста (Test Information)**.

9. Проверете дали информацията е правилна и натиснете **Предавам (Submit)**. В диалоговото каре, което се показва, въведете паролата си, ако се изисква.
10. Поставете касетата върху конвейерната лента.

Забележка

Не изключвайте и не изваждайте щепсела на захранващия кабел на системата от контакта, докато се провежда тест. Изключването или изваждането на щепсела на захранващия кабел на инструмента GeneXpert от контакта ще спре теста.

Касетата се зарежда автоматично, тестът се провежда и използваната касета се поставя в контейнера за отпадъци.

11.3.2 Разглеждане и отпечатване на резултати

Този раздел посочва основните стъпки за разглеждане и отпечатване на резултати. За по-подробни инструкции как да прегледате и отпечатате резултатите вижте *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. В работното пространство **Xpertise Software Home**, натиснете на иконата **РЕЗУЛТАТИ (RESULTS)**. Менюто на Резултати се показва.
2. В менюто за Резултати изберете бутона **ВИЖТЕ РЕЗУЛТАТИТЕ (VIEW RESULTS)**. Дисплея на работното пространство **Вижете Резултатите (View Results)** показва резултатите от теста.
3. Натиснете бутона **ОТЧЕТ (REPORT)**, за да видите и/или генерирате PDF файл с отчета.

12 Качествен контрол

Всеки тест включва Контрола за обработка на пробата (Sample Processing Control, SPC) и Контрола за проверка на сондите (Probe Check Control, PCC).

Контрола за обработка на пробата (SPC)

Гарантира, че пробата е обработена правилно. SPC съдържа неинфекциозни спори под формата на суха маса, която е включена във всяка касета, за да се провери правилната обработка на MTB. SPC потвърждава, че е настъпила лиза на MTB, ако организмите са налице, и потвърждава, че обработката на спесимена е адекватна. Освен това, тази контрола открива свързаното с пробите инхибиране на анализа на PCR в реално време.

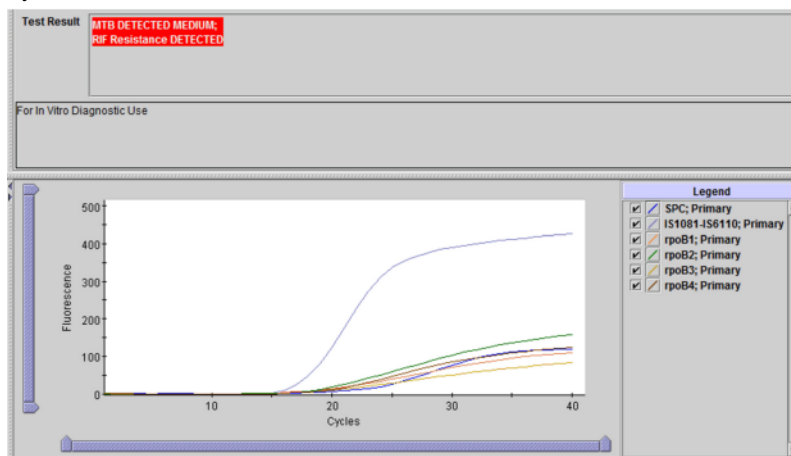
SPC трябва да е положителна при отрицателна проба и може да е отрицателна или положителна при положителна проба. SPC се счита за успешна, ако отговаря на валидираните критерии за приемане. Резултатът на теста ще бъде „невалиден“, ако SPC не се открие в отрицателна проба.

Контрола за проверка на сондите (PCC)

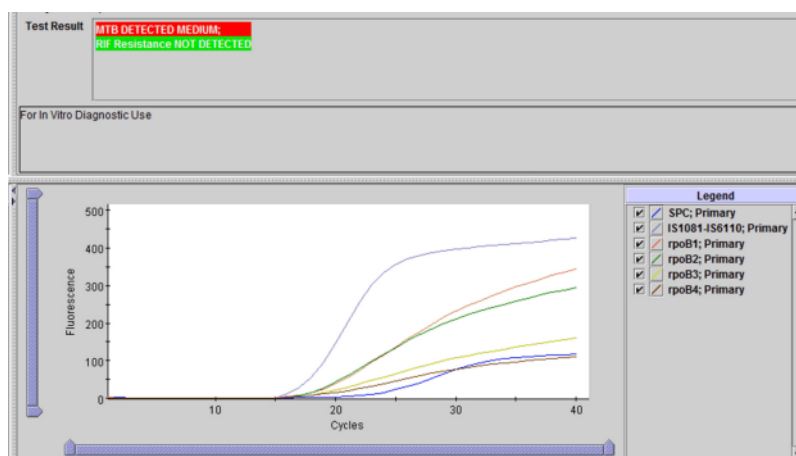
Преди началото на PCR реакцията Xpert MTB/RIF Ultra теста измерва флуоресцентния сигнал от сондите, за да се проследи рехидратацията на микросферата, напълването на епруветката за реакция, целостта на сондата и стабилността на багрилото. PCC се счита за успешен, ако отговаря на определените критерии за приемане.

13 Интерпретация на резултатите

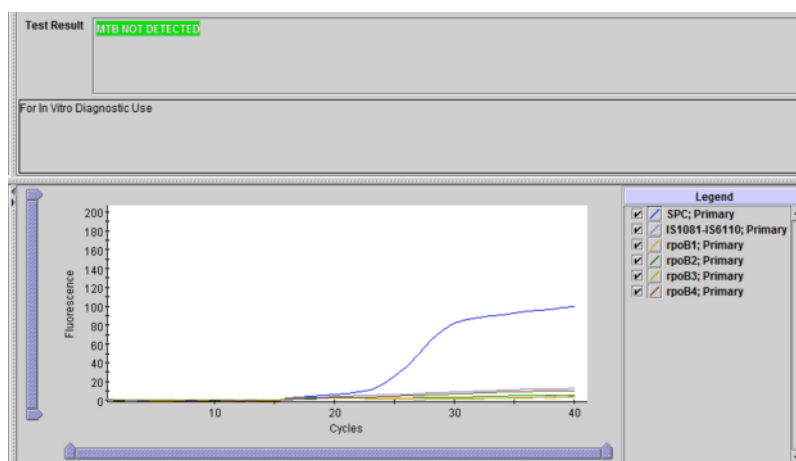
Инструменталната система GeneXpert генерира резултатите от измерените флуоресцентни сигнали и вградените алгоритми за изчисление. Резултатите може да се видят в прозореца **Преглед на резултати**. Вижте Фигура 7, Фигура 8, Фигура 9, Фигура 10, Фигура 11, и Фигура 12 за конкретни примери, и вижте Таблица 3 за списък с всички възможни резултати.



Фигура 7. МТВ ОТКРИТА СРЕДА; RIF Устойчивост ОТКРИТА
(Подробен потребителски изглед на GeneXpert Dx)



Фигура 8. МТВ ОТКРИТА СРЕДА; RIF Устойчивост НЕ Е ОТКРИТА (Подробен потребителски изглед на GeneXpert Dx)



Фигура 9. МТВ НЕ Е ОТКРИТА (Подробен потребителски изглед на GeneXpert Dx)

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

Фигура 10. МТВ ОТКРИТА В МАЛКИ КОЛИЧЕСТВА; RIF Устойчивост ОТКРИТА (GeneXpert Edge)

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

Фигура 11. МТВ ОТКРИТА В МАЛКИ КОЛИЧЕСТВА; RIF Устойчивост НЕ Е ОТКРИТА (GeneXpert Edge)

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

Фигура 12. МТВ НЕ Е ОТКРИТА (GeneXpert Edge)

Таблица 2. Xpert MTB/RIF Ultra Резултати от тестове и интерпретация

Резултат	Интерпретация
МТВ ОТКРИТА В ГОЛЕМИ КОЛИЧЕСТВА; RIF Устойчивост ОТКРИТА	МТВ целта присъства в пробата: - Открита е мутация в целевата последователност на <i>rpoB</i> гена. - SPC: Неприложимо (NA). Не е необходим SPC сигнал, тъй като МТВ усилването може да се конкурира с този контрол. - Проверка на сондите: УСПЕШЕН (PASS). Всички резултати за проверка на сондите са успешни.
МТВ ОТКРИТА В СРЕДНИ КОЛИЧЕСТВА; RIF Устойчивост ОТКРИТА	
МТВ ОТКРИТА В МАЛКИ КОЛИЧЕСТВА; RIF Устойчивост ОТКРИТА	
МТВ ОТКРИТА В МНОГО МАЛКИ КОЛИЧЕСТВА; RIF Устойчивост ОТКРИТА	

Резултат	Интерпретация
MTB ОТКРИТА В ГОЛЕМИ КОЛИЧЕСТВА; RIF Устойчивост НЕ Е ОТКРИТА	MTB целта присъства в пробата: - Не е открита мутация в целевата последователност на <i>rpoB</i> гена. - SPC: Неприложимо (NA). Не е необходим SPC сигнал, тъй като MTB усилването може да се конкурира с този контрол. - Проверка на сондите: УСПЕШЕН (PASS). Всички резултати за проверка на сондите са успешни.
MTB ОТКРИТА В СРЕДНИ КОЛИЧЕСТВА; RIF Устойчивост НЕ Е ОТКРИТА	
MTB ОТКРИТА В МАЛКИ КОЛИЧЕСТВА; RIF Устойчивост НЕ Е ОТКРИТА	
MTB ОТКРИТА В МНОГО МАЛКИ КОЛИЧЕСТВА; RIF Устойчивост НЕ Е ОТКРИТА	
MTB ОТКРИТА В ГОЛЕМИ КОЛИЧЕСТВА; RIF Устойчивост НЕУСТАНОВЕНА	MTB целта присъства в пробата: - Устойчивостта на RIF не може да бъде определена поради невалидни пикове на топене. - SPC: Неприложимо (NA). Не е необходим SPC сигнал, тъй като MTB усилването може да се конкурира с този контрол. - Проверка на сондите: УСПЕШЕН (PASS). Всички резултати за проверка на сондите са успешни.
MTB ОТКРИТА В СРЕДНИ КОЛИЧЕСТВА; RIF Устойчивост НЕУСТАНОВЕНА	
MTB ОТКРИТА В МАЛКИ КОЛИЧЕСТВА; RIF Устойчивост НЕУСТАНОВЕНА	
MTB ОТКРИТА В МНОГО МАЛКИ КОЛИЧЕСТВА; RIF Устойчивост НЕУСТАНОВЕНА	
MTB Следи ОТКРИТА; RIF Устойчивост НЕУСТАНОВЕНА	MTB целта присъства в пробата: - Устойчивостта на RIF не може да бъде установена, поради недостатъчно откриване на сигнал. - SPC: Неприложимо (NA). Не е необходим SPC сигнал, тъй като MTB усилването може да се конкурира с този контрол. - Проверка на сондите: УСПЕШЕН (PASS). Всички резултати за проверка на сондите са успешни.
НЕ Е ОТКРИТ MTB (MTB NOT DETECTED)	MTB целта не е открита в пробата: - SPC: УСПЕШЕН (PASS). SPC отговаря на критериите за приемане. - Проверка на сондите: УСПЕШЕН (PASS). Всички резултати за проверка на сондите са успешни.

Резултат	Интерпретация
НЕВАЛИДЕН (INVALID)	Не може да се определи наличие или отсъствие на МТВ. SPC не отговаря на критериите за приемливост, пробата не е обработена правилно или PCR е инхибирана. Повторете теста. Вижте раздела Процедура за повторен тест на този документ. - МТВ НЕВАЛИДЕН: Не може да се определи наличие или отсъствие на ДНК на МТВ. - SPC: НЕУСПЕШЕН (FAIL). Целевият резултат за МТВ е отрицателен и SPC Ct не е във валидния диапазон. - Проверка на сондите: УСПЕШЕН (PASS). Всички резултати за проверка на сондите са успешни.
ГРЕШКА (ERROR)	Не може да се определи наличие или отсъствие на МТВ. Повторете теста. Вижте раздела Процедура за повторен тест на този документ. - МТВ: БЕЗ РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) - SPC: БЕЗ РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) - Проверка на сондите: НЕУСПЕШЕН (FAIL). Всички или един от резултатите за проверка на сондите са неуспешни.
Забележка	Ако проверката на сондите е успешна, грешката е причинена от неизправност на системен компонент.
БЕЗ РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)	Не може да се определи наличие или отсъствие на МТВ. Повторете теста. Вижте раздела Процедура за повторен тест на този документ. БЕЗ РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) показва, че са събрани недостатъчно данни. Например, операторът е спрял теста, докато все още се е извършвал. - МТВ: БЕЗ РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) - SPC: БЕЗ РЕЗУЛТАТ (NO RESULT) - Проверка на сондите: Неприложимо (not applicable, NA)

Таблица 3. Xpert MTB/RIF Ultra: Всички възможните резултати

ТВ Резултати	RIF Резултати
МТВ ОТКРИТ В ГОЛЕМИ КОЛИЧЕСТВА	RIF Устойчивост ОТКРИТА
МТВ ОТКРИТ В ГОЛЕМИ КОЛИЧЕСТВА	RIF Устойчивост НЕ Е ОТКРИТА
МТВ ОТКРИТ В ГОЛЕМИ КОЛИЧЕСТВА	RIF Устойчивост СРЕДНА
МТВ ОТКРИТА В СРЕДНИ КОЛИЧЕСТВА	RIF Устойчивост ОТКРИТА
МТВ ОТКРИТА В СРЕДНИ КОЛИЧЕСТВА	RIF Устойчивост НЕ Е ОТКРИТА
МТВ ОТКРИТА В СРЕДНИ КОЛИЧЕСТВА	RIF Устойчивост СРЕДНА
МТВ ОТКРИТА В МАЛКИ КОЛИЧЕСТВА	RIF Устойчивост ОТКРИТА
МТВ ОТКРИТА В МАЛКИ КОЛИЧЕСТВА	RIF Устойчивост НЕ Е ОТКРИТА
МТВ ОТКРИТА В МАЛКИ КОЛИЧЕСТВА	RIF Устойчивост СРЕДНА
МТВ ОТКРИТА В МНОГО МАЛКИ КОЛИЧЕСТВА	RIF Устойчивост ОТКРИТА
МТВ ОТКРИТА В МНОГО МАЛКИ КОЛИЧЕСТВА	RIF Устойчивост НЕ Е ОТКРИТА
МТВ ОТКРИТА В МНОГО МАЛКИ КОЛИЧЕСТВА	RIF Устойчивост СРЕДНА
МТВ Проследяване ^a ОТКРИТА	RIF Устойчивост СРЕДНА
НЕ Е ОТКРИТ МТВ (MTB NOT DETECTED)	
НЕВАЛИДЕН (INVALID)	

ТВ Резултати	RIF Резултати
ГРЕШКА (ERROR)	
БЕЗ РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)	

- ^a Повикването за резултата от проследяване означава, че са открити ниски нива на МТВ, но не е открит резултат, устойчив на RIF. Това се дължи на повишена чувствителност на откриването на туберкулоза, използвайки мишени с множество копия IS6110 и IS1081, за разлика от откриването на резистентност към RIF, използвайки *groB* гена с едно копие. Следователно резистентен или податлив на RIF резултат не може да бъде определен в проследяваната проба. Проследяваната проба е винаги **RIF Устойчивост НЕОПРЕДЕЛЕНА**.

13.1 Причини за повтаряне на анализа

Повторете теста с нова касета, ако се получи един от следните резултати от теста.

- НЕВАЛИДЕН (INVALID) резултат показва, че SPC е неуспешна. Пробата не е обработена правилно или PCR е спряна.
- Резултат **ГРЕШКА (ERROR)** показва, че PCC е неуспешна и анализът е прекратен, вероятно поради неправилно напълване на реакционната епруветка, откриване на проблем с целостта на сондите в реагента, защото са надвишени на максималните граници за налягането или модулът GeneXpert дава грешка.
- **БЕЗ РЕЗУЛТАТ (NO RESULT)** показва, че са събрани недостатъчно данни. Например, операторът е спрял теста, докато все още се е извършвал.

13.2 Процедура за повторен тест

Ако имате остатъчна прясна храчка или възстановена утайка, винаги използвайте нов SR за обеззаразяване и втечняване на храчката или утайката, преди да започнете анализа. Вижте Раздел 10 или Процедура за необработена храчка.

Ако имате достатъчно остатъчна проба, обработена със SR, и сте в рамките на 4 часа от първоначалното добавяне на SR към пробата, можете да използвате остатъчната проба, за да подготвите и обработите нова касета. При повторно тестване винаги използвайте нова касета и стартирайте теста незабавно. Вижте Подготовка на касетата.

14 Ограничения

Понеже откриването на МТВ зависи от броя организми, присъстващи в пробата, надеждните резултати зависят от правилното вземане, боравене и съхранение на пробите. Грешни резултати от теста могат да възникнат поради неправилно вземане на проби, боравене или съхранение, техническа грешка, объркване на проби или недостатъчна концентрация на изходния материал. Внимателното придържане към инструкциите за употреба е необходимо за избягване на грешни резултати.

Тези лица с резултати от **МТВ Следа ОТКРИТА** може да изискват допълнителна клинична информация и разглеждане на техния клиничен контекст за решения за лечение на туберкулоза в някои условия.

Положителният резултат от теста не показва непременно присъствие на жизнеспособни организми. Предполага се обаче наличието на резистентност към МТВ и Рифампин.

Мутации или полиморфизми в регионите на свързване на праймера или сондата може да се отразят на откриването на нови или неизвестни резистентни щамове MDR-MTB или рифампин и да доведат до фалшиво рифампин-чувствителен резултат.

Функционирането на теста Xpert MTB/RIF Ultra не е оценявано при пациенти на възраст под осемнадесет години.

Xpert MTB/RIF Ultra тестът не дава потвърждение за чувствителност към рифампин, тъй като може да съществуват механизми на резистентност към рифампин, различни от тези, открити от това устройство, които могат да бъдат свързани с липса на клиничен отговор към лечението.

Екземпляри, които имат както ДНК на МТВ-комплекс, така и свързани с резистентност към рафимпин мутации на гена *groB*, открити от Xpert MTB/RIF Ultra теста, трябва да бъдат разгледани за допълнително изследване за чувствителност към лекарства.

Изпълнението на Xpert MTB/RIF Ultra теста зависи от уменията на оператора и спазването на процедурите за анализ. Грешки в процедурата на анализа могат да предизвикат фалшиво положителни или фалшиво отрицателни резултати. Всички оператори на устройства трябва да имат подходящо обучение за устройства.

Наблюдавана е интерференция в анализа при спесимени, съдържащи ≥ 100 ug/ml албутерол сулфат.

15 Клинично действие

15.1 Дизайн на клиничното изследване

Характеристиките на действието на Xpert MTB/RIF Ultra теста бяха оценени за откриване на ДНК на MTB-комплекс и за откриване на мутации, свързани с резистентност към RIF, в проби от храчки по отношение на резултати от култура (твърда и/или течна среда) и съответно тест за лекарствена чувствителност (DST). Това многоцентрово проучване използва проспективни и архивирани директни (сурови) проби от храчка или концентрирани утайки, събрани от субекти на 18 или повече години. Субектите включват съмнения за белодробна туберкулоза без лечение за туберкулоза или по-малко от 3 дни лечение в рамките на 6 месеца от началото на проучването (заподозрени за туберкулоза), както и пациенти, лекувани преди това от туберкулоза, които са били заподозрени за мулти-лекарствена резистентна туберкулоза (заподозрени за MDR TB). Проучването е проведено в световен мащаб (Беларус, Бразилия, Китай, Грузия, Германия, Индия, Италия, Кения, Перу, Южна Африка, Уганда, Виетнам и Съединените Щати). Чувствителността и специфичността на Xpert MTB/RIF Ultra теста за откриване на MTB бяха оценени с помощта на данни само от заподозрени с туберкулоза; като се има предвид, че данните от заподозрените за MDR TB бяха комбинирани, за да се оцени ефективността на резистентността към RIF.

Сред екземплярите от 1985 г., включени в анализите на първичните данни, пробите идват от участници в проучването, които са били на възраст ≥ 18 години, 59% (n=1175) мъже, 37% жени (n=734) и при 4% (n=76) полът е неизвестен или не е наличен. Те са от географски различни региони: 11% (n=217) са от САЩ (Калифорния, Ню Йорк и Флорида) и 89% (n=1768) са от държави извън САЩ (Беларус, Бразилия, Китай, Грузия, Германия, Индия, Италия, Южна Африка, Кения, Перу, Виетнам и Уганда).

15.2 Xpert MTB/RIF Ultra Представяне на теста срещу MTB култура

До три проби от храчки бяха събрани от всеки изследван субект за използване в клиничното изследване. За проспективни проби първата проба от храчка беше изследвана с Xpert MTB/RIF Ultra теста, а вторите две проби бяха използвани за култура на туберкулоза. За архивирани екземпляри, резултатите от културата бяха достъпни от стандартния метод на грижа и Xpert MTB/RIF Ultra тестът беше извършен с помощта на първия образец с достатъчен обем. Ако резултатът от анализа не е определен (**ГРЕШКА, НЕВАЛИДЕН** или **БЕЗ РЕЗУЛТАТ**), пробата е повторно тествана, ако има достатъчен обем. Анализите MTB Ultra за 96,8% (1939/2004) проби бяха успешни при първия опит (първоначален процент на ND = 3,2%). Четиридесет и шест от 65-те неопределени случая са били тествани повторно, всеки от тях е дал валидни резултати при повторно тестване; 19 спесимена не са тествани повторно. Общата честота на успех на анализа е 99,1% (1985/2004). Общата честота на неопределените резултати е била общо 0,9% (19/2004). Статусът на цитонамазка с киселинно устойчиви бацили (AFB) за субект се определя чрез флуоресцентно оцветяване на Auramine-O (АО) или Ziehl-Neelsen (ZN) намазка от пробата с съответния резултат от Xpert MTB/RIF Ultra теста. Състоянието на MTB културата за всички субекти беше определено въз основа на резултата от MTB културата на всички проби, събрани в рамките на седемдневен период за този субект.

Ефективността на Xpert MTB/RIF Ultra теста за откриване на MTB по отношение на културата на MTB, стратифицирана по статус на AFB намазка, е показана в таблицата по-долу. Чувствителността при проби с положителни и отрицателни цитонамазки е 99,5% (426/428), 95% ДИ: 98,3, 99,9 и 73,3% (200/273), 95% ДИ: 67,7, 78,2, съответно. Общата специфичност на Xpert MTB/RIF Ultra теста, независимо от AFB цитонамазката е 95,5% (1222/1280), 95% ДИ: 94,2, 96,5. Вижте таблиците по-долу.

Таблица 4. Xpert MTB/RIF Ultra Представяне на теста срещу MTB култура

	Намазка/Култура				
	Положителен			Отрицателен	Общо
	AFB Намазка +	AFB Намазка -	Цялостна Култура +	Цялостна Култура -	

		Намазка/Култура				
		Положителен			Отрицателен	Общо
		AFB Намазка +	AFB Намазка -	Цялостна Култура +	Цялостна Култура -	
Xpert MTB/ RIF Ultra	MTB ОТКРИТ	426	200	630 ^a	58	688
	НЕ Е ОТКРИТ MTB (MTB NOT DETECTED)	2	73	75	1222	1297
	Общо	428	273	705	1280	1985
Ефективност при положителна цитонамазка: Чувствителност: 99,5% (426/428), 95% ди: 98,3, 99,9 Ефективност при отрицателна цитонамазка: Чувствителност: 73,3% (200/273), 95% ДИ: 67,7, 78,2 Цялостно Изпълнение: Чувствителност: 89,4% (630/705), 95% ДИ: 86,9, 91,4 Специфичност: 95,5% (1222/1280), 95% ДИ: 94,2, 96,5						

^a Резултатите от цитонамазката не бяха налични за 4 проби с положителна култура.

Ефективността на Xpert MTB/RIF Ultra теста за откриване на MTB по отношение на културата на MTB, стратифицирана по сайтове извън САЩ срещу в САЩ, е показана в таблицата по-долу. Сред 1985 екземпляра има 1768 екземпляра от места извън САЩ и 217 от обекти в САЩ.

Таблица 5. Xpert MTB/RIF Ultra Тест срещу MTB култура от сайтове извън САЩ срещу в САЩ

	Извън САЩ		САЩ	
	N	Процент 95% ДИ)	N	Процент 95% ДИ)
Чувствителност на Цитонамазка Пол.	380/382	99,5% (98,1, 99,9)	46/46	100,0% (92,3, 100)
Чувствителност на Цитонамазка Отр.	180/245	73,5% (67,6, 78,6)	20/28	71,4% (52,9, 84,7)
Цялостна Чувствителност	564/631 ^a	89,4% (86,7, 91,6)	66/74	89,2% (80,1, 94,4)
Цялостна Специфичност	1080/1137	95,0% (93,6, 96,1)	142/143	99,3% (96,1, 99,9)

^a Резултатите от цитонамазката не бяха налични за 4 проби с положителна култура.

15.3 Xpert MTB/RIF Ultra Ефективност на теста спрямо култура по тип цитонамазка

Ефективността на Xpert MTB/RIF Ultra теста за откриване на MTB беше определена спрямо MTB култура в проби с AFB намазка, извършена от АО и ZN. Резултатите са показани в таблицата по-долу. Сред 1985 проби имаше 1810 проби с АО намазки и 175 с ZN намазки.

Таблица 6. Ефективност на Xpert MTB/RIF Ultra теста спрямо MTB култура чрез методи на оцветяване с Auramine O (АО) и Ziehl-Neelsen (ZN)

	Auramine O Метод		Ziehl-Neelsen Метод	
	N	Процент (95% ДИ)	N	Процент (95% ДИ)
Чувствителност на Цитонамазка Пол.	386/388	99,5% (98,1, 99,9)	40/40	100% (91,2, 100)
Чувствителност на Цитонамазка Отр.	153/219	69,9% (63,5, 75,6)	47/54	87,0% (75,6, 93,6)
Цялостна Чувствителност	543/611 ^a	88,9% (86,1, 91,1)	87/94	92,6% (85,4, 96,3)
Цялостна Специфичност	1145/1199	95,5% (94,2, 96,5)	77/81	95,1% (88,0, 98,1)

^a Резултатите от цитонамазката не бяха налични за 4 проби с положителна култура.

15.4 Xpert MTB/RIF Ultra Ефективност на теста спрямо култура по тип проба

Ефективността на Xpert MTB/RIF Ultra теста за откриване на MTB беше определена спрямо MTB култура в необработена хранка и проби от концентриран седимент от хранка. Резултатите са показани в таблицата по-долу. Сред 1985 проби имаше 1543 необработени проби от хранки и 442 проби от концентрирана утайка от хранки.

Таблица 7. Xpert MTB/RIF Ultra Теста спрямо MTB културата по тип проба

	Директна Хранка		Утайка от хранка	
	N	% (95% ДИ)	N	% (95% ДИ)
Чувствителност на Цитонамазка Пол.	323/324	99,7% (98,3, 99,9)	103/104	99,0% (94,8, 99,8)
Чувствителност на Цитонамазка Отр.	168/229	73,4% (67,3, 78,7)	32/44	72,7% (58,2, 83,7)
Цялостна Чувствителност	495/557 ^a	88,9% (86,0, 91,2)	135/148	91,2% (85,6, 94,8)
Цялостна Специфичност	937/986	95,0% (93,5, 96,2)	285/294	96,9% (94,3, 98,4)

^a Резултатите от цитонамазката не бяха налични за 4 проби с положителна култура.

15.5 Xpert MTB/RIF Ultra Ефективност на теста срещу Тестване за чувствителност към лекарства за RIF

MTB положителните културни изолати бяха тествани за лекарствена чувствителност (DST) към рифампин, като се използва методът на пропорцията на агар с Middlebrook или Lowenstein-Jensen среда, Thermo Scientific Sensititre™ Mycobacterium tuberculosis MIC Plate или BD BACTEC™ MGIT™ 960 SIRE анализ. Ефективността на Xpert MTB/RIF Ultra теста за откриване на мутации, свързани с резистентност към RIF, се определя спрямо резултатите от DST на изолатите от MTB културата.

Резултатите за откриване на мутации, свързани с резистентност към RIF, се отчитат от Xpert MTB/RIF Ultra теста само когато *rpoB* генната последователност на MTB-комплекс е открита от устройството. Ефективността на чувствителността/резистентността към RIF е отчетена в таблицата по-долу. Проби с ненаправена DST, **MTB НЕ Е ОТКРИТА** и **MTB ОТКРИТА; RIF Устойчивост НЕОПРЕДЕЛЕНА** бяха изключени от анализа. Шестдесет и три (63) от 67 проби с RIF неопределени резултати са **MTB Следа ОТКРИТА; RIF Устойчивост НЕОПРЕДЕЛЕНА**.

Таблица 8. Xpert MTB/RIF Ultra Тествайте ефективността срещу DST

Тест за чувствителност към лекарства				
		RIF Устойчив	RIF Податлив	Общо
Xpert MTB/ RIF Ultra	MTB ОТКРИТА; RIF Устойчивост ОТКРИТА	128	12 ^a	140
	MTB ОТКРИТА; RIF Устойчивост НЕ Е ОТКРИТА	5 ^b	314	319
	Общо	133	326	459
		Чувствителност: 96.2% (128/133), 95% ДИ: 91,5, 98,4		
		Специфичност: 96.3% (314/326), 95% ДИ: 93,7, 97,9		

^a Несъответстващи резултати от секвенирането: 11 от 12 са устойчиви на RIF, 1 от 12 не е наличен.

^b Несъответстващи резултати от секвенирането: 4 от 5 са податливи на RIF, 1 от 5 не е наличен.

15.6 Xpert MTB/RIF Ultra Ефективност на теста спрямо теста Xpert MTB/RIF

Хиляда петстотин деветдесет и четири (1594) проби бяха тествани както чрез Xpert MTB/RIF Ultra теста, така и чрез Xpert MTB/RIF анализ. Общото процентно съгласие между анализите е 96,5% [(1538/1594) 95% ДИ: 95,5, 97,3]. Положителният процент на съгласие и отрицателният процент на съгласие са съответно 99,2% [(491/495) 95% ДИ: 97,9, 99,7] и 95,3% [(1047/1099) 95% ДИ: 93,8, 96,4].

15.7 Възпроизводимост

Възпроизводимостта на Xpert MTB/RIF Ultra теста беше оценена на три места, като се използва панел от проби, съставен от чувствителни и резистентни на MTB рифампин щамове. MTB положителните проби бяха приготвени в симулирана матрица на храчки при ниски (~1X LoD) и умерени (2-3X LoD) концентрации. Беше включен и отрицателен панелен член, който се състоеше от симулирана матрица на храчка. Тестван е панел от пет проби в шест различни дена от двама различни оператора два пъти на ден във всеки от трите центъра (240 теста от всяка проба = 2 оператора x 6 дена x 2 репликата x 2 цикъла на ден). В проучването са използвани три партии реагенти на китове за Xpert MTB/RIF Ultra тестове. Процента съответствие за всеки елемент на панела е представено в от сайта в Таблица 9.

**Таблица 9. Обобщение на резултатите за възпроизводимост
– Съответствие по център по проучването/инструмент**

Проба	Център 1 (GeneXpert Dx)	Център 2 (GeneXpert Dx)	Център 3 (Infinity Xpertise)	% общо съответствие по проба
Отрицателен	98% (47/48)	100% (48/48)	100% (48/48)	99,3%(143/144)
Слабо положителен за MTB, RIF Устойчив	96% (46/48)	96% (46/48)	98% (47/48)	96,5%(139/144)
Умерено положителен за MTB, RIF Устойчив	100% (48/48)	100% (48/48)	100%(48/48)	100% (144/144)
Слабо положителен за MTB, RIF чувствителен	100% (48/48)	100% (48/48)	98% (47/48)	99,3%(143/144)
Умерено положителен за MTB, RIF чувствителен	100% (47/47)	100% (48/48)	100%(48/48)	100% (143/143)

Възпроизводимостта на теста Xpert MTB/RIF Ultra е оценена и по отношение на флуоресцентния сигнал, изразен в стойности на прага на цикъла (Ct) за всеки открит таргет. Средната стойност, стандартното отклонение (SD) и коефициентът на вариация (CV) между центровете, между дните, между операторите и в рамките на теста за всеки елемент на панела са представени в Таблица 10. Цикълът се дефинира като четирите проби на елемент на панела, тествани от оператора в един център в един ден.

Таблица 10. Обобщение на данните за възпроизводимост

Проба		N	Среден Ct	Дисперсия											
				Между центровете		Между партиди		Между дните		Между операторите		В рамките на цикъла/ анализа		Общо	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV(%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Отрицателен	SPCCt	144	25,7	0,00	0,0	0,30	1,1	0,00	0,0	0,70	2,8	1,40	5,5	1,60	6,3
MTB Слабо Положителен, RIF Устойчив	ICCT	144	20,0	0,00	0,0	0,20	1,1	0,00	0,0	0,40	2,0	0,90	4,6	1,00	5,1
	гpo1C	141	31,0	0,00	0,0	0,50	1,6	0,00	0,0	0,60	2,0	2,20	7,2	2,40	7,7
	гpo2C	141	29,8	0,20	0,7	0,40	1,4	0,00	0,0	0,80	2,5	2,10	7,1	2,30	7,7
	гpo3C	139	33,8	0,20	0,6	0,60	1,9	0,00	0,0	0,70	2,0	2,00	5,9	0,20	6,5
	гpo4C	141	30,4	0,80	2,5	0,50	1,7	0,00	0,0	0,80	2,5	2,50	8,4	2,80	9,2
MTB Средно Положителен, RIF Устойчив	ICCT	144	18,4	0,30	1,4	0,00	0,0	0,10	0,5	0,10	0,3	0,70	3,7	0,80	4,1
	гpo1C	143	28,3	0,40	1,5	0,00	0,0	0,50	1,8	0,00	0,0	1,80	6,4	1,90	6,8
	гpo2C	144	27,2	0,50	1,8	0,00	0,0	0,50	1,8	0,00	0,0	1,80	6,7	1,90	7,1
	гpo3C	143	31,1	0,10	0,4	0,00	0,0	0,50	1,6	0,00	0,0	1,70	5,6	1,80	5,8
	гpo4C	144	27,2	0,80	3,1	0,00	0,0	0,70	2,4	0,00	0,0	2,20	8,0	2,40	8,9
MTB Слабо Положителен, RIF Чувствителен	ICCT	143	23,7	0,00	0,0	0,20	0,6	0,40	1,6	0,00	0,0	1,70	7,4	1,80	7,6
	гpo1C	130	30,2	0,10	0,3	0,00	0,0	0,90	3,0	0,00	0,0	2,60	8,4	2,70	9,0
	гpo2C	130	29,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,80	2,6	0,00	0,0	2,40	8,1	2,50	8,5
	гpo3C	130	31,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,80	2,6	0,20	0,7	2,30	7,4	2,50	7,8
	гpo4C	120	36,1	0,30	0,9	0,40	1,1	0,00	0,0	0,50	1,4	2,10	5,7	2,20	6,1

Проба		N	Среден Ст	Дисперсия											
				Между центровете		Между партиди		Между дните		Между операторите		В рамките на цикъла/ анализа		Общо	
				SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV(%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
MTB Средно Положителен, RIF Чувствителен	ICCt	143	21,8	0,10	0,6	0,00	0,0	0,20	1,1	0,00	0,0	1,20	5,4	1,20	5,5
	gro1C	142	27,6	0,20	0,7	0,00	0,0	0,30	1,2	0,00	0,0	2,00	7,2	2,00	7,3
	gro2C	141	26,7	0,00	0,0	0,40	1,4	0,00	0,0	0,10	0,2	1,60	5,9	1,60	6,1
	gro3C	141	28,9	0,00	0,0	0,30	1,1	0,00	0,0	0,50	1,7	1,70	5,7	1,70	6,0
	gro4C	140	33,9	0,70	2,0	0,60	1,7	0,00	0,0	0,00	0,0	2,00	5,9	2,20	6,5

16 Аналитични работни характеристики

16.1 Потенциално интерфериращи вещества

Проведено е проучване в матрица на изкуствена хранка, за да се оценят ефектите на потенциалните интерфериращи вещества с теста Xpert MTB/RIF Ultra. Оценени са общо 32 потенциално интерфериращи вещества. Потенциално ендогенните смущаващи вещества може да включват, но не се ограничават до, кръв, гной (бели кръвни клетки), клетки от дихателните пътища, муцин, човешка ДНК и киселина от стомаха. Другите потенциално смущаващи вещества може да включват анестетици, антибиотици, антибактериални лекарства, антитуберкулозни лекарства, антивирусни лекарства, бронходилататори, инхалаторни бронходилататори, жива интраназална ваксина срещу грипния вирус, бактерицидна вода за уста, реагенти за обработка на проби, лекарства за *Pneumocystis jiroveci*, хомеопатични лекарства за облекчаване на алергии, назални кортикостероиди, назални гелове, назални спрейове, орални анестетици, орални отхрачващи средства, неутрализиращи буфери и тютюн. Тези вещества са изброени в Таблица 11 с активните съставки и тестовите концентрации. В това проучване са включени положителни и отрицателни проби. Положителните проби са тествани близо до 3 пъти аналитичната граница на откриване, като се използват BCG клетки в реплики от 8 или 9. Отрицателните проби, състоящи се от веществото, липсващо от MTB щамата, са тествани за всяко вещество в повторения от 8, за да се определи ефектът върху работните характеристики на контролата за обработка на проби (SPC).

Не е наблюдаван инхибиторен ефект за никое от 32-те тествани потенциално интерфериращи вещества (Таблица 11).

Таблица 11. Интерфериращи вещества

Вещество	Описание/активна съставка	Тествана концентрация
Кръв	Кръв 5% v/v (човешка)	5% (v/v)
Бактерицидна вода за уста	Хлорхексидин глюконат (0,12%), 20% разтвор	20% (v/v)
Реактиви за обработка на спесимени	Цетилпиридиниев хлорид, 1% в 2% NaCl	0,5% (v/v) в 1% NaCl
Реактиви за обработка на спесимени	Цетилпиридиниев хлорид, 1% в 2% NALC	0,5% (v/v) в 1% NALC
Реактиви за обработка на спесимени	Цетилпиридиниев хлорид, 1% в 2% NALC плюс 25 mM цитрат	0,5% (v/v) в 1% NALC плюс 12,5 mM цитрат
Стомашна киселина	Разтвор във вода с pH 3 до 4, неутрализиран с натриев бикарбонат	100% (v/v)
Човешка ДНК/клетки	HeLa S3, 1x10 ⁷ (HELA 229)	10 ⁶ клетки/ml
Антимикотик; Антибиотик	Нистатин перорална суспензия, 20%	20% (v/v)

Вещество	Описание/активна съставка	Тествана концентрация
Бели кръвни клетки (човешки)	Матрица WBC/гной (30% тромбоцитно-левкоцитна фракция; 30% плазма; 40% PBS)	100% (v/v)
Анестетици (ендотрахеална интубация)	Лидокаин HCl 4%	30% (v/v)
Небулизиращи разтвори	NaCl 5% (w/v)	5% (w/v)
Муцин	Муцин 5% (w/v)	5% (w/v)
Антибактериални, системни	Левовфлоксацин 25 mg/ml	5 mg/ml
Назални кортикостероиди	Флутиказон 500 mcg/спрей	5 µg/ml
Инхалаторни бронходилататори	Албутерол сулфат 2 mg/5 ml	75 µg/ml (w/v); 100 µg/ml (w/v)
Орални анестетици	Ораджел (20% бензокаин)	5% (w/v)
Антивирусни лекарства	Ацикловир, IV 50 mg/ml	50 µg/ml
Антибиотик, назална маз	Неоспорин (400 U бацитрацин, 3,5 mg неомисин, 5000 U полимиксин В)	5% (w/v)
Тютюн	Никогел (40% екстракт от тютюн)	0,5% (w/v)
Антитуберкулозни лекарства	Стрептомицин 1 mg/ml	25 µg/ml
Антитуберкулозни лекарства	Етамбутол 1 mg/ml	50 µg/ml
Антитуберкулозни лекарства	Изониазид 1 mg/ml	50 µg/ml
Орални отхрачващи средства	Гуайфенезин (400 mg/таблетка)	5 mg/ml
Антитуберкулозни лекарства	Пиразинамид 10 mg/ml	100 µg/ml
Гел за нос (хомеопатичен)	Гел Zicam	50% (w/v)
Спрей за нос	Фенилефрин 1%	0,5% (v/v)
Антитуберкулозни лекарства	Рифампцин 1 mg/ml	25 µg/ml
Лекарство за облекчаване на алергии (хомеопатично)	Масло от чаено дърво (<5% Cineole, >35% терпинен-4-ol.)	0,5% (v/v)
Жива интраназална ваксина срещу грипен вирус	Жива ваксина срещу грипен вирус FluMist	5%
Лекарство за <i>Pneumocystis jiroveci</i>	Пентамидин	300 ng/ml
Бронходилататор	Епинефрин (инжекционна форма)	1 mg/ml
Антитуберкулозни лекарства	Амоксицилин	25 µg/ml

16.2 Аналитична чувствителност (граница на откриване)

Проведени са проучвания за определяне на аналитичната чувствителност или границата на откриване (LoD) на теста Xpert MTB/RIF Ultra при използване на *Mycobacterium tuberculosis* щам H37Rv и *Mycobacterium bovis* BCG (Bacille Calmette-Guerin), разредени в човешка хранка и утайка от човешка хранка. Положителният резултат за MTB се основава на откриването на целите IS1081/IS6110.

Проведени са проучвания и за определяне на аналитичната чувствителност или границата на откриване на теста Xpert MTB/RIF Ultra за откриване на резистентност към RIF при използване на добре характеризирани клинични *Mycobacterium tuberculosis* рифампин-резистентен щам (TDR125), носещ D516V мутация в 81-ва базова двойка в „ядрената“ област на *rpoB* гена, разреден в човешка храчка и утайка от човешка храчка.

LoD е най-ниската отчетена концентрация в CFU/ml, която може възпроизводимо да се разграничи от отрицателни проби с 95% доверителност. Повторения от най-малко 20 за два щам са оценени при пет до осем концентрации за 3 дни и LoD е определена с помощта на анализ на пробите. Предявените LoD са обобщени в таблицата по-долу.

Таблица 12. Данни от анализа на пробите и предявените LoD в CFU/ml

Видове <i>Mycobacteria</i>	Тип спесимен	Предявена LoD
<i>M. bovis</i> (BCG)	Храчка	30
	Утайка от храчка	33
<i>M. tuberculosis</i> (H37Rv)	Храчка	12
	Утайка от храчка	11

Таблица 13. Данни от анализа на пробите и предявената LoD за резистентност към RIF в CFU/ml

Видове <i>Mycobacteria</i>	Тип спесимен	Предявена LoD
<i>M. tuberculosis</i> (TDR125)	Храчка	1093
	Утайка от храчка	4000

16.3 Аналитична специфичност (ексклузивност)

Култури от 30 щам не туберкулозни микобактерии (NTM) бяха тествани с теста Xpert MTB/RIF Ultra. Три повторения от всеки изолат бяха добавени в буфер и тествани при концентрация $\geq 10^6$ CFU/ml. Вижте Таблица 14.

Таблица 14. NTM щамове, тествани за специфичност

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

При условията на изследването, всички NTM изолати са докладвани като **МТВ НЕОТКРИТИ**. В това проучване са включени положителни и отрицателни контроли. Специфичността е 100%.

Освен това, за да се определи дали високите концентрации на NTM биха попречили на откриването на ниски нива (3X LoD) на туберкулоза, шест представителни щамове от шамовите, изброени в Таблица 14 бяха смесени с щамове на туберкулоза H37Rv и с *M. bovis* в хрчка, за крайна концентрация от 10⁶ CFU/ml NTM и съответно 36 CFU/ml *M. tuberculosis* H37Rv и 90 CFU/ml *M. bovis*.

Микробната интерференция на нетуберкулозни микобактерии (NTM) в присъствието на H37Rv-mc2 6030 е оценена с помощта на шест представителни NTM щамове (*M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. celatum*, *M. abscessus* 19977 и *M. gordonae*). Тествани са по 5 репликата за всеки таргетен щам и за всяка комбинация с конкурентен щам. 5-те повторни проби при 3x LoD дават 5 от 5 валидни резултата за всичките 6 комбинирани смеси при CFU/ml от 36 ≥ 1 x 10⁶ от H37Rv-mc2 6030. При условията на това изследване високите концентрации на NTM не инхибират откриването на ниски нива на *Mycobacterium tuberculosis* с помощта на Xpert MTB/RIF Ultra теста. Не са наблюдавани конкурентни инхибиращи ефекти.

Микробната интерференция на нетуберкулозни микобактерии (NTM) в присъствието на MTB-BCG клетки са оценени с помощта на осем представителни NTM щамове (*M. avium* 19250, *M. intracellulare* 35771, *M. kansasii* 12478, *M. kansasii* 35776, *M. celatum* 51131, *M. abscessus* 700868 и *M. gordonae* 14470, *M. gordonae* 35760). Тествани са по 5 репликата за всеки таргетен щам и за всяка комбинация с конкурентен щам. 5-те повторни проби дават 5 от 5 валидни резултата за всичките 8 комбинирани смеси. Смесите са тествани в CFU/ml в съотношение 90 до ≥ 1 x 10⁶ MTB-BCG клетки. При условията на това изследване високите концентрации на NTM не инхибират откриването на ниски нива на *Mycobacterium tuberculosis* с помощта на Xpert MTB/RIF Ultra теста. Не са наблюдавани конкурентни инхибиращи ефекти.

16.4 Видове/щамове, тествани за специфичност

Следните микроорганизми, включително Грам-отрицателни бактерии, Грам-положителни бактерии, гъбични организми, вируси и дрожди, са тествани за фалшивоположителна реакция при теста Xpert MTB/RIF Ultra. Повторенията на всеки изолат са добавени към буфер и тествани при концентрация ≥ 10⁶ CFU/ml (бактериални и гъбични щамове) или ≥ 10⁶ копия/ml (геномна ДНК за бактерии и гъбички) и ≥ 10⁵ TCID₅₀/ml (вирусни щамове).

Таблица 15. Видове и щамове

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Респираторно-синцитиален вирус Тип В
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	Риновирус
<i>Candida Albicans</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Nocardia asteroides</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	Парагрипен Вирус Тип 1	<i>Streptococcus agalactiae</i>
Коронавирус	Парагрипен Вирус Тип 2	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	Парагрипен Вирус Тип 3	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	Респираторно-синцитиален вирус Тип А	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Човешки метапневмовирус (hMPV) 16 Тип А1		

При условията на проучването всички тествани микроорганизми са докладвани като **ЛИПСВА МТВ (MTB NOT DETECTED)**. В това проучване са включени положителни и отрицателни контроли. Специфичността е 100%.

16.5 Аналитична инклузивност

Четиридесет и един МТВ-комплексни щама, състоящи се от 20 чувствителни към рафампин щама с див тип *rpoB* ядрена област и 21 рафампин-резистентни щама с единични нуклеотидни полиморфизми (SNPs) в *rpoB* ядрена област, бяха тествани в четирикратно използване на Xpert MTB/RIF Ultra теста. ДНК проби от общо 41 МТВ щама бяха тествани на GeneXpert с помощта на Xpert MTB/RIF Ultra протокол, модифициран за ДНК тестване. Крайните реакционни компоненти и условията на PCR циклиране бяха непроменени от протокола, предназначен за тестване на проби от пациенти. Дванадесет от щамове са от колекцията на СЗО/TDR и 6 от лабораторната колекция в университета Рутгерс. Колективно тези щамове представляват изолати от 8 страни и съдържат 21 RIF-резистентни изолати, съставени от единични, двойни и една тройна *rpoB* мутации в ядрената област. Пробите бяха тествани чрез добавяне на 100 µL от ДНК пробата към камерата за лизат на касетата. Отрицателните реакции използват буфер като проба. Анализът идентифицира правилно всичките 20 щама от див тип и правилно идентифицира резистентността към рифампин в 21 щама, резистентни към рифампин с мутации в ядрото на *rpoB*. Неопределени резултати за рифампин са получени за 3 мутантни щама. *M. caprae* и *M. pinnipedii* не са оценени като част от това проучване.

Термолизатите на мутантния шам (термично обработени клетки) и нуклеиновите киселини (ДНК) са получени от Белгия и Rutgers New Jersey и произхождат от Центровете за контрол и превенция на заболяванията (CDC), Американската колекция от типови култури (ATCC) и Детския фонд на ООН/ПРООН/Световната банка/СЗО специалната програма за изследване и обучение на колекционирането на тропически болести. Анализът идентифицира правилно всичките 20 щама от див тип и правилно идентифицира резистентността към рифампин във всичките 21 щама, резистентни към рифампин с мутации в ядрото на *rpoB*.

16.6 Аналитично инактивиране на микобактерии в проби от храчка

Способността за дезинфекция на Xpert MTB/RIF Ultra реагента на пробата беше определена с помощта на стандартизиран метод за количествена туберкулоцидна култура.¹² В пробите от храчки беше добавена висока концентрация на жизнеспособни *M. bovis*, смесени с реагент на пробата в съотношение 2:1 и инкубирани за 15 минути. След инкубиране сместа реагент/храчка на пробата се неутрализира чрез разреждане и филтруване и след това се култивира. Жизнеспособността на организмите *M. bovis* от третираната храчка е намалена с най-малко 6 logs спрямо нетретираната контрола.

Всяка лаборатория трябва да определи ефективността на дезинфекционните свойства на реагента на пробата, като използва свои собствени стандартизирани методи и трябва да се придържа към препоръчаните разпоредби за биобезопасност.

17 Библиография

1. Доклад на СЗО 2018 г. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274453/9789241565646-eng.pdf?ua=1>.
2. Глобален доклад на СЗО за туберкулозата за 2019 г. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329368/9789241565714-eng.pdf>.
3. Резистентност към туберкулоза в света: четвърти глобален доклад. WHO/HTM/TB/2008.394.
4. Morris SL, Bai GH, Suffys P, Portillo-Gomez L, Fairchok M, Rouse D. Молекулярни механизми на множествена лекарствена резистентност в клинични изолати на *Mycobacterium tuberculosis*. J Infect Dis. 1995 г. 171:954-60.
5. Rattan A, Kalia A, Ahmad N. 1998 г. Мултилекарствено резистентни *Mycobacterium tuberculosis*: Молекулярни Перспективи, Възникващи Инфекциозни Заболявания, Vol.4 No.2, <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no2/rattan.htm>.
6. Национален туберкулозен център Francis J. Curry и California Министерство на общественото здраве на Калифорния, 2008 г.: Устойчива на лекарства туберкулоза, Ръководство за оцеляване за клиницисти, Второ издание.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 1993 г. Richmond JY and McKinney RW (eds). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (вижте последното издание).
9. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazardous Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpart Z).
11. Kent PT, Kubica GP. 1985 г. Микобактериология на общественото здраве—Ръководство за лаборатория ниво III, Центрове за контрол на заболяванията, Атланта, Публикация №. PB 86-216546.

12. Banada, P. et al. Ограничаване на риска от биоаерозолна инфекция чрез теста Xpert MTB/RIF и неговата приложимост към настройките на място за лечение. Journal of Clinical Microbiology. 2010 г. 48:10. 3551-3557.

18 Местонахождение на седалищата на Cepheid

Корпоративно седалище

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Европейско седалище

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

19 Техническа помощ

Преди да се свържете с нас

Съберете следната информация, преди да се свържете с отдел „Техническа поддръжка“ на Cepheid:

- Наименование на продукта
- Партиден номер
- Сериен номер на инструмента
- Съобщения за грешки (ако има)
- Версия на софтуера и, ако е приложимо, сервизен номер на компютъра

Техническа поддръжка за Съединените щати

Телефон: + 1 888 838 3222

Електронна поща: techsupport@cepheid.com

Техническа поддръжка за Франция

Телефон: + 33 563 825 319

Електронна поща: support@cepheideurope.com

Информация за контакт с всички отдели за техническа поддръжка на Cepheid е на разположение на нашата уебстраница: www.cepheid.com/en/support/contact-us.

20 Таблица на символите

Символ	Значение
	Каталожен номер
	<i>Ин vitro</i> диагностично медицинско изделие
	Да не се използва повторно
	Партиден код
	Вижте инструкциите за употреба
	Внимание
	Производител
	Страна на производство
	Съдържа достатъчно за <i>n</i> теста
	Контрола
	Срок на годност
	Маркировка CE– Европейско съответствие
	Температурно ограничение
	Биологични рискове
	Запалими течности
	Корозия на кожата
	Репродуктивна и органна токсичност
	Упълномощен представител в Швейцария
	Вносител



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden



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



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



21 История на ревизиите

Описание на промените: 301-5987, Ред. М до Ред. N

Раздел	Описание на промяната
8,1	Добавена е информация за пипетата за еднократна употреба.
9	Незначителни ревизии.
10.3	Специфицирана специфична проба.
11.1.1	Добавена е информация за неизключването на инструмента.
14	Добавена интерференция на анализа.
15.1, 15.2	Актуализирана информация за спесимена.
15.7, 16	Коригиран център 3 на Xpertise. Преместена таблица 10 от Раздел 16 към Раздел 15.7.
16.1, 16.2, 16.4	Незначителни ревизии.
16.3	Добавена микробна интерференция на нетуберкулозни микобактерии (NTM).
16.5	Добавена е информация за термолизати от мутантен щам (термично обработени клетки) и нуклеинови киселини (ДНК).