

Per uso diagnostico *in vitro*
Da utilizzare con il BD MAX™ System



USO PREVISTO

Il test BD MAX™ Multi Drug Resistant Tuberculosis (MDR-TB), eseguito sul BD MAX System, è un test diagnostico qualitativo automatico *in vitro* per la determinazione diretta del DNA del *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) nell'espettorato puro o in sedimenti di espettorato concentrati preparati da espettorati indotti o espulsi. Nei campioni in cui viene rilevato il DNA del MTBC, BD MAX MDR-TB rileva anche mutazioni del gene *rpoB* associate a resistenza alla rifampicina, oltre a mutazioni del gene *katG* e della regione promotrice di *inhA* che si associano a resistenza all'isoniazide.

Il test utilizza la reazione polimerasica a catena (PCR) in tempo reale per l'amplificazione del DNA bersaglio specifico e sonde fluorogeniche di ibridazione mirate ai geni per rilevare il DNA del MTBC oltre al DNA associato a mutazioni nei geni *rpoB* e *katG* e nella regione promotrice di *inhA*, che si associano a tubercolosi multi-resistente.

Il test BD MAX MDR-TB è indicato per l'uso su campioni di pazienti per cui sussiste il sospetto clinico di tubercolosi (TB) e che non hanno ricevuto terapia antitubercolare o hanno ricevuto meno di tre giorni di terapia negli ultimi sei mesi. Il test è indicato come supporto nella diagnosi di tubercolosi polmonare, quando usato in combinazione con i dati clinici e altri dati di laboratorio.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

La tubercolosi (TB) è una malattia infettiva causata da specie del *M. tuberculosis* complex (MTBC) ed è tuttora un importante problema di salute a livello globale in quanto si stima che sia responsabile di 10,4 milioni di infezioni e 1,7 milioni di decessi l'anno.¹ La tubercolosi multi-resistente (MDR-TB) rappresenta una continua minaccia ed è una forma più complicata della malattia dovuta a MTBC resistente a rifampicina (RIF) e isoniazide (INH).¹ Nel 2016, si sono verificati 600.000 nuovi casi resistenti alla rifampicina (RRTB), il più efficace farmaco di prima linea, e 490.000 di questi casi avevano una tubercolosi multi-resistente (MDR-TB).¹ Nel 2016, l'OMS ha pubblicato nuove linee guida per l'esame della TB che richiedono test molecolari più rapidi per il rilevamento della MDR-TB.² Il rilevamento rapido e preciso del MTBC e delle forme resistenti ai farmaci è importante per individuare e trattare adeguatamente i pazienti affetti dalla malattia al fine di ridurre il tasso di decessi e interrompere la diffusione della TB.³

Il test BD MAX MDR-TB fornisce un risultato integrato per il MTBC (bersagli genomici multicopia IS6110 e IS1081, nonché bersaglio genomico monocopia), la resistenza a RIF (codoni RRDR 507-533) e INH (regione promotrice di *inhA* e codone *katG* 315), automatizza il processo di analisi e riduce al minimo l'intervento dell'operatore da quando il campione viene posizionato sul BD MAX System fino al momento in cui sono disponibili i risultati. Il test BD MAX MDR-TB eseguito sul BD MAX System può fornire risultati per 24 campioni in meno di 4 ore, mentre i metodi di coltura e i test per la resistenza ai farmaci tradizionali possono richiedere settimane.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

L'espettorato puro o i sedimenti di espettorato concentrati preparati da espettorati indotti o espulsi sono prelevati dai pazienti e trasportati al laboratorio in un contenitore ermetico. Si prepara una diluizione del campione nel contenitore di raccolta con BD MAX STR, in modo che il rapporto finale STR:campione sia 2:1. Il contenitore di raccolta viene quindi agitato 10 volte, incubato a temperatura ambiente per 5 minuti e riagitato vigorosamente 10 volte. Il campione trattato con BD MAX STR viene quindi incubato a temperatura ambiente per 25 minuti. Usando una BD MAX Transfer Pipet (pipetta di trasferimento), si trasferiscono 2,5 mL del campione trattato con STR in una BD MAX MDR-TB Sample Tube (provetta campione) etichettata. La BD MAX MDR-TB Sample Tube viene chiusa con un tappo a setto e trasferita al BD MAX System. Una volta generato l'elenco di lavoro e caricato il campione sullo strumento BD MAX, insieme a una BD MAX MDR-TB Unitized Reagent Strip (striscia reagente unitaria) e a una PCR Cartridge (cartuccia PCR), viene avviata l'analisi e non è più necessario alcun ulteriore intervento dell'operatore. Il BD MAX System automatizza la preparazione dei campioni, incluse la lisi degli organismi bersaglio, l'estrazione e la concentrazione del DNA, la reidratazione dei reagenti, l'amplificazione e il rilevamento della sequenza dell'acido nucleico bersaglio mediante PCR in tempo reale. L'interpretazione del segnale viene eseguita automaticamente dal BD MAX System. Il test comprende anche un controllo per l'analisi dei campioni, fornito nella provetta di estrazione e sottoposto alle fasi di estrazione, concentrazione e amplificazione. Il controllo per l'analisi dei campioni monitora la presenza di potenziali sostanze inibitrici, oltre a eventuali errori del sistema o inattività del reagente.

Il BD MAX System utilizza una combinazione di reagenti e calore per eseguire la lisi cellulare e l'estrazione del DNA. Gli acidi nucleici liberati vengono catturati da microsfele ad affinità magnetica. Le microsfele, insieme agli acidi nucleici legati, sono lavate e gli acidi nucleici sono eluiti nel tampone di eluizione mediante calore. Il DNA eluito viene neutralizzato e trasferito nelle provette di master mix per reidratare i reagenti della PCR. Dopo la reidratazione, il BD MAX System eroga un volume fisso di soluzione pronta per la PCR nella BD MAX PCR Cartridge (cartuccia PCR). Prima di iniziare la PCR, le microvalvole di BD MAX PCR Cartridge vengono sigillate dal sistema per contenere la miscela di amplificazione e quindi evitare evaporazione e contaminazione da amplicone.

Per individuare i bersagli di DNA amplificati si impiegano sonde di idrolisi (TaqMan®), marcate a un'estremità con un colorante reporter fluorescente (fluoroforo) e all'altra con un gruppo di smorzamento (quencher moiety). Si utilizzano sonde marcate con diversi fluorofori per rilevare gli ampliconi di DNA del *M. tuberculosis* complex, la resistenza a rifampicina, la resistenza a isoniazide e il controllo per l'analisi dei campioni nei cinque diversi canali ottici del BD MAX System. Il rilevamento della resistenza alla rifampicina si avvale della fusione chimica rilevando mutazioni nella regione della coppia di basi 81 di RRDR del gene *rpoB* mentre la resistenza all'isoniazide è determinata rilevando le mutazioni nella regione promotrice di *inhA* e nel gene *katG*. Il BD MAX System controlla questi segnali a ogni ciclo e interpreta i dati alla fine del programma per refertare i risultati finali.

REAGENTI E MATERIALI

RIF	Contenuto	Quantità
443878	BD MAX™ MDR-TB Master Mix (E6) <i>Master mix PCR essiccata contenente nucleotidi, sonde molecolari (0,006% w/v) e primer (0,01% w/v) del bersaglio ed enzima PCR (3E-14% w/v).</i>	24 test (2 x 12 provette)
	BD MAX™ MDR-TB Master Mix (E5) <i>Master mix PCR essiccata contenente nucleotidi, sonde molecolari (0,006% w/v), primer (0,008% w/v) specifici del controllo per l'analisi del bersaglio e dei campioni, ed enzima PCR (3E-14% w/v).</i>	24 test (2 x 12 provette)
	BD MAX™ MDR-TB Reagent Strips <i>Strisce reagenti unitarie contenenti tampone di lavaggio con 0,1% v/v di Tween® 20 e 3,8% v/v di Tween 80 (0,75 ml), tampone di eluizione (0,75 ml), tampone di neutralizzazione con 0,02% v/v di Tween 20 (0,75 ml) e soluzione legante con 5% v/v di Triton® X-100 (0,75 ml) e puntali per pipette monouso per l'analisi dei campioni e l'estrazione del DNA.</i>	24 test
	BD MAX™ MDR-TB Extraction Tubes (E7) <i>Reagente di estrazione essiccato contenente microsfele ad affinità magnetica per DNA (6,4% w/v), reagenti proteasici (6,7% w/v) e controllo per l'analisi dei campioni.</i>	24 test (2 x 12 provette)
	BD MAX™ MDR-TB Sample Tube	24 test (2 x 12 provette)
	BD MAX™ Transfer Pipets	25
	Tappi a setto	25

APPARECCHIATURE E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- BD MAX™ STR (reagente per il trattamento di campioni) (BD, N. di cat. 443806)
- BD MAX™ PCR Cartridges (cartucce) (BD N. di cat. 437519)
- Controlli esterni
- Camice da laboratorio e guanti monouso senza talco
- Contenitori per rifiuti biomedici
- Cronometro o timer

Per la raccolta di espettorato puro:

- Contenitori asciutti ed ermetici per la raccolta di campioni di espettorato

MATERIALI RACCOMANDATI MA NON FORNITI NEL KIT

- Nefelometro
- Provette sterili
- Microsfele sterili in vetro da 3-5 mm
- Terreno di coltura (brodo MGIT™ o brodo 7H9)
- Middlebrook OADC
- Piastre di agar 7H10/7H11
- Soluzione fisiologica tamponata con fosfato
- Diffusori per piastra
- Agitatore vortex
- BD BBL™ MycoPrep™

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Pericolo



H312 Nocivo per contatto con la pelle.

H314 Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.

H315 Provoca irritazione cutanea.

H317 Può provocare una reazione allergica cutanea.

H319 Provoca grave irritazione oculare.

H334 Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.

H335 Può irritare le vie respiratorie.

H411 Tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

H412 Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

P260 Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.

P261 Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.

P264 Lavarsi accuratamente dopo l'uso.

P272 Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro.

P273 Non disperdere nell'ambiente.

P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.

P285 In caso di ventilazione insufficiente utilizzare un apparecchio respiratorio.

P301+P330+P331 IN CASO DI INGESTIONE: sciacquare la bocca. NON provocare il vomito.

P312 In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico.

P303+P361+P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): Togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle (o fare una doccia).

P363 Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente.

P321 Trattamento specifico (vedere l'etichetta).

P304+P340 IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione.

P310 Chiamare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.

P305+P351+P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P302+P352 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare con acqua abbondante/...

P333+P313 In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.

P337+P313 Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico.

P391 Raccogliere il materiale fuoriuscito

P405 Conservare sotto chiave.

P403+P233 Conservare in luogo ben ventilato. Tenere il recipiente ben chiuso.

P501 Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di trattamento e smaltimento appropriato nel rispetto delle leggi e delle normative vigenti e in conformità con le caratteristiche del prodotto al momento dello smaltimento.

- Il test BD MAX MDR-TB è per uso diagnostico *in vitro*.
- Per prestazioni ottimali, il test BD MAX MDR-TB deve essere eseguito entro i limiti ambientali di laboratorio di 18–28 °C e limiti di umidità relativa del laboratorio compresi tra il 20 e l'80%.
- Il test BD MAX MDR-TB è indicato per l'esame di espettorato puro o sedimenti di espettorato concentrati preparati da espettorati indotti o espulsi.
- Non usare reagenti e/o materiali scaduti.
- Non usare il kit se l'etichetta posta a chiusura del contenitore esterno è lacerata alla consegna.
- Non usare i reagenti se i sacchetti protettivi sono aperti o danneggiati alla consegna.
- Non usare i reagenti se l'essiccante è assente o rotto nei sacchetti dei reagenti.
- Non rimuovere l'essiccante dai sacchetti dei reagenti.
- Dopo l'uso, chiudere subito con la chiusura lampo i sacchetti protettivi del reagente. Prima di chiudere, eliminare l'aria in eccesso dai sacchetti.
- Proteggere i reagenti dal calore e dall'umidità. L'esposizione prolungata all'umidità potrebbe influenzare le prestazioni del prodotto.

- Non usare i reagenti se il foglio di alluminio è rotto o danneggiato.
- Non mescolare i reagenti di diversi sacchetti e/o kit e/o lotti.
- Non scambiare né riutilizzare i tappi dopo averli usati su provette contenenti campioni trattati con STR perché potrebbero causare contaminazione e compromettere i risultati del test.
- Non riutilizzare le BD MAX Sample Tube.
- Verificare che il livello del liquido delle strisce reagenti unitarie sia adeguato (assicurarsi che i liquidi siano sul fondo dei serbatoi di reagente) (vedere la Figura 1).
- Controllare le strisce reagenti unitarie per assicurarsi che siano presenti tutti i puntali per pipette (vedere la Figura 1).
- Usare con cautela le soluzioni chimiche perché potrebbero alterare la leggibilità del codice a barre su Master Mix e provetta di estrazione.
- Per la corretta esecuzione di questo test è essenziale una buona tecnica di laboratorio. A causa dell'elevata sensibilità analitica di questo test, prestare massima attenzione per preservare la purezza di tutti i materiali e i reagenti.
- Se si effettuano altri test PCR nelle stesse aree generali del laboratorio, prestare attenzione al fine di garantire che il kit BD MAX MDR-TB, gli eventuali altri reagenti richiesti per i test e il BD MAX System non vengano contaminati. Evitare sempre la contaminazione dei reagenti da parte di microbi e deossiribonucleasi (DNasi). Cambiare i guanti prima di manipolare i reagenti e la cartuccia.
- Per evitare eventuali contaminazioni ambientali da ampliconi, non rompere la BD MAX PCR Cartridge dopo l'uso. I sigilli delle BD MAX PCR Cartridges sono concepiti per prevenire la contaminazione.
- Per ridurre il rischio di contaminazione crociata, il laboratorio è tenuto a eseguire un monitoraggio ambientale di routine.
- Se non viene eseguito negli intervalli di tempo e di temperatura consigliati per il trasporto e la conservazione del campione, il test BD MAX MDR-TB può produrre risultati non validi. Ripetere i test che non sono stati eseguiti entro gli intervalli di tempo e temperatura indicati.
- È possibile eseguire ulteriori controlli in conformità alle indicazioni o ai requisiti di enti locali, provinciali, statali e/o federali o degli organismi competenti.
- Trattare sempre i campioni come se fossero infetti, attenendosi scrupolosamente alle procedure di sicurezza di laboratorio, quali quelle descritte nel CLSI Document M29⁴ e in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.⁵
- Indossare indumenti protettivi e guanti monouso quando si manipolano i reagenti.
- Lavarsi accuratamente le mani dopo aver eseguito il test.
- Non pipettare con la bocca.
- Non fumare, bere, masticare o mangiare nelle aree dove vengono manipolati i campioni o i reagenti del kit.
- Smaltire i reagenti inutilizzati e i rifiuti in conformità alle normative locali, provinciali, statali e/o federali.
- Per ulteriori avvertenze, precauzioni e procedure, consultare il Manuale d'uso del BD MAX System.⁸

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Mantenere i campioni di espettorato puro raccolti a una temperatura compresa tra 2 °C e 35 °C durante il trasferimento per un massimo di 3 giorni. Non esporre i campioni a calore eccessivo.

Espettorato puro: è possibile conservare il campione per altre 168 ore (7 giorni) al massimo, a 2–8 °C, prima del trattamento con STR.

Sedimento di espettorato: è possibile conservare il campione per un massimo di 168 ore (7 giorni) a 2–8 °C prima del trattamento con STR.

È possibile conservare i campioni trattati con BD MAX STR a 2–28 °C per un massimo di 72 ore.

È possibile conservare le BD MAX MDR-TB Sample Tubes a 2–28 °C per un massimo di 72 ore dopo il trattamento con STR.

I componenti BD MAX MDR-TB rimangono stabili a 2–28 °C fino alla data di scadenza indicata. Non usare componenti scaduti.

Le provette di Master mix e di Estrazione BD MAX MDR-TB sono fornite in sacchetti sigillati. Per proteggere il prodotto dall'umidità, richiudere immediatamente dopo l'apertura. Le provette dei reagenti rimangono stabili per 14 giorni a una temperatura compresa tra 2 e 28 °C dopo la prima apertura e la richiusura del sacchetto.

ISTRUZIONI PER L'USO

Raccolta e trasporto dei campioni

Per ottenere un campione adeguato, attenersi scrupolosamente alla procedura prevista per la raccolta dei campioni. Tutti i campioni devono essere prelevati e trasportati seguendo le disposizioni dei Centers for Disease Control and Prevention (CDC),⁵ del *Clinical Microbiology Procedures Handbook*⁶ o del manuale delle procedure fornito dalla struttura. Per la raccolta dell'espettorato puro, i pazienti devono essere seduti o stare in piedi. I pazienti sono tenuti a risciacquare la bocca eliminando eventuali residui di cibo o sporco prima della raccolta dell'espettorato.

L'espettorato puro o i sedimenti di espettorato concentrati preparati da espettorati indotti o espulsi sono raccolti secondo la procedura riportata di seguito:

NOTA: non accettare campioni con evidenti residui di cibo o particelle solide di altro tipo.

1. Espettorato puro: raccogliere almeno 1 ml di espettorato, utilizzando un contenitore di raccolta ermetico idoneo. Etichettare il contenitore e trasferire in laboratorio (consultare la sezione Conservazione e stabilità).
2. Sedimento di espettorato: decontaminare il campione di espettorato con NALC/NaOH secondo il metodo di Kent e Kubica.⁷ Risospendere il sedimento in al massimo 2 ml di tampone fosfato/acqua 67 mM. Etichettare il contenitore e trasferire in laboratorio (consultare la sezione Conservazione e stabilità). Per il test con BD MAX MDR-TB è necessario almeno 1 ml di campione.

Preparazione dei campioni

NOTA: il test BD MAX MDR-TB può essere utilizzato esclusivamente con il kit BD MAX STR. Le fasi di elaborazione dell'espettorato e dei sedimenti di espettorato sono descritte nel foglietto illustrativo di BD MAX STR.

NOTA: Occorrono una (1) BD MAX STR tube, una (1) pipetta di trasferimento, una (1) provetta campione, un (1) tappo a setto, due (2) provette di master mix [una (E6) e una (E5)], una (1) provetta di estrazione (E7) e one (1) striscia reagente unitaria per ogni campione e ogni controllo esterno da testare. Estrarre la quantità necessaria di ciascun materiale dai sacchetti protettivi o dalle confezioni. Per conservare i sacchetti aperti di master mix o di provette di estrazione, eliminare l'aria in eccesso e chiudere subito con la chiusura lampo.

1. Etichettare ogni BD MAX MDR-TB Sample Tube (tappo trasparente) con codice a barre con una dicitura identificativa adatta del campione. Non coprire, scrivere o applicare etichette sul codice a barre 2D.
Per ciascun campione di espettorato puro o sedimento di espettorato: [le fasi 2-7 descrivono l'utilizzo di BD MAX STR (non fornito). Per ulteriori informazioni consultare il foglietto illustrativo di BD MAX STR].
2. Lasciare equilibrare il campione a temperatura ambiente.
3. Aprire con cautela il coperchio del contenitore ermetico per la raccolta dell'espettorato, prestando attenzione a non versarlo.
4. Aprire con attenzione la BD MAX STR tube e aggiungere il volume richiesto in modo che il rapporto tra STR:campione sia 2:1.
5. Tappare il contenitore di raccolta e agitare vigorosamente la soluzione (non tramite vortex) 10 volte (un movimento verso l'alto e uno verso il basso equivalgono a una volta).
6. Incubare a temperatura ambiente per 5 minuti e riagitare vigorosamente 10 volte.
7. Incubare il campione trattato con BD MAX STR a temperatura ambiente per 25 minuti.
8. Rimuovere il tappo dalla BD MAX MDR-TB Sample Tube e mantenere il tappo rigido se si conserva il campione.
9. Usando la pipetta di trasferimento fornita, trasferire 2,5 ml del campione di espettorato trattato con STR in una BD MAX MDR-TB Sample Tube etichettata. Controllare che l'ID campione sulla BD MAX MDR-TB Sample Tube corrisponda all'etichetta sul contenitore di raccolta.
10. Chiudere la BD MAX MDR-TB Sample Tube con un tappo a setto blu
11. Preparare eventuali ulteriori campioni da analizzare ripetendo le fasi da 1 a 10, prima di manipolare altri campioni.
12. Per l'esecuzione del test con BD MAX MDR-TB sul BD MAX System, passare alla sezione Funzionamento del BD MAX System.

Funzionamento del BD MAX System

NOTA: per istruzioni dettagliate consultare il Manuale dell'utente del BD MAX System⁸ (sezione Funzionamento).

NOTA: i test con il kit BD MAX MDR-TB devono essere eseguiti subito dopo aver trasferito i campioni trattati con STR nella provetta campione di cui sopra (consultare "Preparazione dei campioni", fase 9).

1. Accendere il BD MAX System (se non è già acceso) e collegarsi inserendo <user name> (nome utente) e <password>.
2. Cambiare i guanti prima di manipolare i reagenti e le cartucce.
3. Prelevare il numero richiesto di strisce reagenti unitarie dal kit BD MAX MDR-TB. Picchiettare delicatamente ciascuna striscia reagente unitaria su una superficie solida per verificare che tutti i liquidi siano sul fondo delle provette.
4. Estrarre dai sacchetti protettivi il numero necessario di provette di estrazione e di provette di Master Mix del kit BD MAX MDR-TB.
5. Eliminare l'aria in eccesso e chiudere i sacchetti con la chiusura a zip.
6. Per ciascun campione da analizzare, collocare una (1) striscia reagente unitaria sul rack del BD MAX System, partendo dalla posizione 1 del rack A e continuando in sequenza.
7. Inserire una (1) provetta di estrazione (E7) (foglio di alluminio bianco) in ogni striscia reagente unitaria in posizione 1, come illustrato nella Figura 1.
8. Inserire una (1) BD MAX MDR-TB Master Mix tube (E6) (foglio di alluminio verde) in ciascuna striscia reagente unitaria in posizione 2, come mostrato nella Figura 1.
9. Inserire una (1) provetta BD MAX MDR-TB Master Mix (E5) (foglio di alluminio blu) in ciascuna striscia reagente unitaria in posizione 4, come mostrato nella Figura 1.

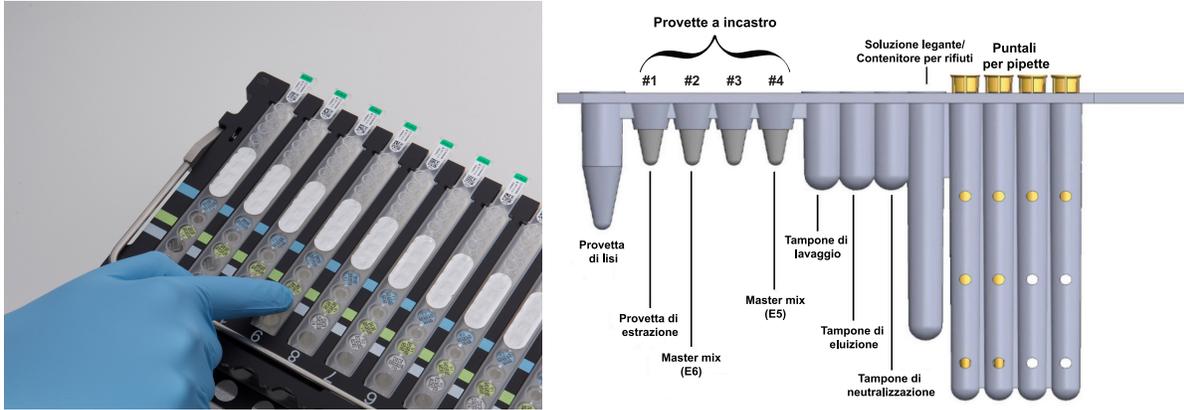


Figura 1: inserimento delle BD MAX MDR-TB Extraction tubes e delle BD MAX MDR-TB Master Mix tubes nelle strisce reagenti unitarie

10. Fare clic sull'icona Esegui, quindi su Inventario. Inserire il numero di lotto del kit BD MAX MDR-TB (per la rintracciabilità del lotto) scansiono il codice a barre con lo scanner o in modalità manuale (sulla confezione esterna).

NOTA: ripetere il passaggio 10 ogni volta che si usa un nuovo lotto di kit.

11. Accedere all'elenco di lavoro. Utilizzando il menu a discesa, selezionare <BD MAX MDR TB 70>.

12. Inserire l'ID della BD MAX MDR-TB Sample Tube, l'ID paziente ed (eventualmente) il numero di accesso per l'elenco di lavoro, in modalità manuale o scansionando il codice a barre.

13. Selezionare il numero appropriato del lotto del kit (sulla confezione esterna del kit BD MAX MDR-TB) dal menu a discesa.

14. Ripetere le fasi da 11 a 13 per tutte le restanti provette campione.

15. Posizionare le provette campione nei BD MAX System Rack corrispondenti alle strisce reagenti unitarie assemblate nelle fasi da 6 a 9.

NOTA: posizionare le provette campione nel rack del campione con le etichette del codice a barre 1D rivolte verso l'esterno (in questo modo si semplifica la scansione delle provette campione durante la registrazione del campione).

16. Collocare il numero richiesto di BD MAX PCR Cartridges nel BD MAX System (vedere la Figura 2):

- Ciascuna BD MAX PCR Cartridge contiene fino a 12 campioni.
- Il BD MAX System selezionerà automaticamente la posizione e la fila sulla BD MAX PCR Cartridge per ciascuna serie. Le BD MAX PCR Cartridge possono essere utilizzate più volte fino all'utilizzo di tutte le file.
- Per ottimizzare l'uso delle BD MAX PCR Cartridges, utilizzando la modalità 2000 Sample Mode, selezionare Serie guidata nella scheda Elenco di lavoro per assegnare le file.
- Consultare il Manuale d'uso del BD MAX System⁸ per ulteriori dettagli.



Figura 2: Caricamento delle BD MAX PCR Cartridges

17. Caricare i rack nel BD MAX System (vedere la Figura 3).

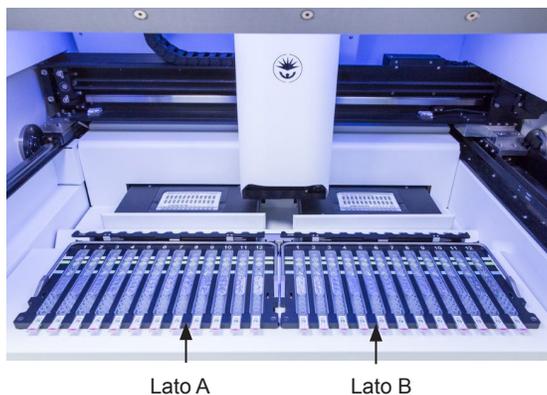


Figura 3: Caricamento dei rack nel BD MAX System

18. Chiudere il coperchio del BD MAX System e fare clic su <Avvio> per avviare l'elaborazione.

19. Al termine dell'analisi, controllare i risultati immediatamente o conservare le provette campione a 2–28 °C per un massimo di 72 ore dopo il trattamento con STR fino alla verifica dei risultati.

NOTA: prima della conservazione del campione, sostituire il tappo a setto con un tappo rigido.

NOTA: è possibile conservare le BD MAX MDR-TB Sample Tubes a 2–28 °C per un massimo di 72 ore. Se il risultato ottenuto è indeterminato (IND), non risolto (UNR) o incompleto (INC), oppure si verifica un errore del controllo esterno, occorre ripetere il test dalla provetta campione preparata, nei tempi previsti (consultare la sezione Ripetere la procedura del test).

NOTA: se un controllo esterno non va a buon fine, ripetere l'analisi di tutti i campioni utilizzando controlli esterni appena preparati (vedere la sezione Controllo di qualità).

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le procedure per il controllo di qualità verificano l'efficacia del test. I laboratori sono tenuti a stabilire il numero, il tipo e la frequenza dei test sui materiali di controllo, in conformità alle indicazioni o alle disposizioni vigenti a livello locale, provinciale, statale, federale e/o nazionale o approvate dalle organizzazioni competenti, al fine di monitorare l'efficacia dell'intero processo analitico. Per una guida generale sul Controllo di qualità, è possibile consultare il documento CLSI MM3⁹ ed EP12.¹⁰

1. I materiali per il controllo esterno non sono forniti da BD. I controlli positivo e negativo esterni non sono usati dal software del BD MAX System per l'interpretazione dei risultati dei test dei campioni. I controlli esterni sono trattati come se fossero campioni dei pazienti. La BD MAX STR è necessaria per preparare i controlli esterni (consultare la tabella presente nella sezione Interpretazione dei risultati per interpretare i risultati del test del controllo esterno).
2. Analizzare un controllo positivo esterno e un controllo negativo esterno almeno una volta al giorno, fino a ottenere una corretta validazione del processo sul BD MAX System in ciascun laboratorio. La frequenza ridotta dei test di controllo deve essere conforme alle norme vigenti in materia.
3. Il controllo positivo esterno permette di individuare gravi problemi legati ai reagenti. Il controllo negativo esterno viene impiegato per rilevare la contaminazione del reagente o dell'ambiente (o l'effetto residuo), utilizzando acidi nucleici bersaglio.
4. I ceppi utilizzati per i controlli devono essere testati in conformità alle linee guida o alle direttive vigenti a livello locale, nazionale e/o federale, o approvate dalle organizzazioni competenti, allo scopo di monitorare l'efficacia dell'intero processo analitico.
5. È opportuno disporre di vari tipi di controlli esterni affinché l'utente possa scegliere quello più adatto per la qualità del proprio laboratorio.
 - a. I controlli negativi esterni devono contenere 2,5 ml di soluzione STR (2 parti di STR: 1 parte di acqua deionizzata).
 - b. Controllo positivo esterno: qualsiasi sospensione di organismo del *M. tuberculosis* complex verificato, acquistato o ottenuto tramite procedure di isolamento colturale o attraverso un campione precedentemente caratterizzato e riconosciuto come positivo.

Se vengono utilizzati organismi di controllo

- a. Far crescere gli organismi in brodo 7H9 o brodo MGIT, arricchito con OADC a 37 °C. Far crescere fino a una torbidità McFarland di circa $\geq 0,5$ (solitamente tra 7 e 10 giorni, ma il periodo potrebbe essere più lungo in base al ceppo).
- b. Rimuovere il terreno di coltura liquido centrifugando per 10 minuti a 3.000 g.
- c. Risospendere l'organismo in soluzione fisiologica tamponata con fosfato (PBS).
- d. Trasferire la sospensione in una provetta sterile contenete fino a dieci (10) microsferi da 3-5 mm. Agitare con vortex la coltura per circa 30 secondi.
- e. Lasciar sedimentare la sospensione per circa 5 minuti per consentire alle particelle maggiori di raggiungere il fondo della provetta.

- f. Trasferire la sospensione a una nuova provetta sterile, per evitare la formazione di grumi sul fondo della provetta e assicurarsi che la torbidità McFarland rimanga $\geq 0,5$.
 - 1) Le dimensioni della provetta devono essere specifiche per il nefelometro.
 - g. Eseguire diluizioni seriali e strisciare l'organismo su piastre di agar (agar 7H10 o 7H11) per la quantificazione. Lasciare incubare le piastre di agar a 37 °C da 2 a 4 settimane.
 - h. Dopo la quantificazione dell'organismo, diluirlo a una concentrazione di 1×10^5 CFU/ml in PBS.
 - 1) È possibile preparare la sospensione alla diluizione finale, dividerla in aliquote da 300 μ l, congelarla e utilizzarla per test di routine.
 - i. Aggiungere 2,25 ml di soluzione STR (2 parti di STR: 1 parte di acqua deionizzata) alla provetta campione.
 - j. Aggiungere 250 μ l della diluizione finale nella BD MAX MDR-TB Sample Tube e tappare la provetta con un tappo a setto blu.
 - k. Analizzare il controllo esterno come se si trattasse di un campione paziente secondo la procedura indicata nella sezione Funzionamento del BD MAX System.
6. Tutti i controlli esterni devono dare i risultati attesi (positivi per il controllo positivo esterno, negativi per il controllo negativo esterno) e non devono essere presenti controlli esterni errati (risultati non risolti o indeterminati). Consultare la tabella seguente per i risultati accettabili per il controllo positivo esterno:

Organismo o campione caratterizzato di <i>M. tuberculosis</i>	Risultato del test
Sensibile a RIF e sensibile a INH	MTB rilevato, resistenza a RIF NON rilevata, resistenza a INH NON rilevata
Sensibile a RIF/resistente a INH	MTB rilevato, resistenza a RIF NON rilevata, resistenza a INH rilevata
Resistente a RIF/sensibile a INH	MTB rilevato, resistenza a RIF rilevata, resistenza a INH NON rilevata
Resistente a RIF/Resistente a INH	MTB rilevato, resistenza a RIF rilevata, resistenza a INH rilevata

- a. Un controllo negativo esterno che dà un risultato positivo in seguito al test indica un evento di manipolazione e/o contaminazione del campione. Controllare la tecnica di trattamento del campione per evitare confusioni e/o contaminazioni. Un controllo positivo esterno che dà un risultato negativo indica un problema di trattamento/preparazione del campione. Controllare la tecnica di trattamento/preparazione del campione.
- b. Un controllo esterno che dà un risultato del test non risolto, indeterminato o incompleto indica un errore dei reagenti o del BD MAX System. Controllare se sono visualizzati messaggi di errore sul monitor del BD MAX System. Consultare la sezione Risoluzione dei problemi del Manuale dell'utente del BD MAX System[®] per l'interpretazione di avvertenze e codici di errore. Se il problema persiste, usare i reagenti di un sacchetto nuovo o un nuovo kit BD MAX MDR-TB.
- c. Ogni BD MAX MDR-TB Extraction Tube contiene un controllo per l'analisi dei campioni, ossia un plasmide contenente una sequenza sintetica di DNA bersaglio. Il controllo per l'analisi dei campioni viene estratto, eluito e amplificato insieme a DNA bersaglio eventualmente presente nel campione analizzato. Il controllo per l'analisi dei campioni monitora la capacità di acquisizione, lavaggio ed eluizione del DNA durante le fasi di analisi dei campioni, nonché l'efficienza dell'amplificazione e della determinazione del DNA bersaglio durante l'analisi PCR. Se il risultato del controllo per l'analisi dei campioni non è conforme ai criteri di accettazione, il risultato del campione sarà segnalato come non risolto; qualsiasi risultato di test positivo per MTBC ("MTB rilevato") sarà comunque segnalato. Ripetere l'analisi di qualsiasi campione con esito non risolto come indicato di seguito nella sezione "Ripetere la procedura del test".

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I risultati sono riportati nella scheda <Risultati> nella finestra <Risultati> sul monitor del BD MAX System. Il software del BD MAX System interpreta automaticamente i risultati dei test. I risultati sono riportati per ciascun analita e per il controllo per l'analisi dei campioni. I risultati del test possono essere: MTB rilevato, MTB a bassa positività, MTB NON rilevato, resistenza a RIF rilevata, resistenza a RIF NON rilevata, resistenza a RIF NON REFERTABILE, resistenza a INH rilevata (*sono refertate anche le informazioni di mutazione katG NON rilevata; mutazione katG rilevata; mutazione inhApr NON rilevata; mutazione inhApr rilevata*), resistenza a INH NON rilevata, resistenza a INH NON REFERTABILE o UNR (non risolto) in base allo stato dell'amplificazione del bersaglio e del controllo per l'analisi dei campioni. Risultati IND (indeterminato) o INC (incompleto) sono dovuti a un errore del BD MAX System. L'interpretazione dei risultati del BD MAX MDR-TB è descritta di seguito nella Tabella 1.

Tabella 1: Interpretazione dei risultati del test BD MAX MDR-TB

RISULTATI RIPORTATI DEL TEST	INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI
MTB rilevato	DNA del <i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex rilevato
MTB a bassa positività	DNA del <i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex rilevato, metriche di resistenza non misurabili; ≥ 2 sonde per RRDR ^a , katG o regione promotrice di inhA non hanno fornito un segnale, il che è indicativo di una bassa carica batterica
MTB NON rilevato	DNA del <i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex DNA non rilevato e controllo per l'analisi dei campioni rilevato
Resistenza a RIF rilevata	Rilevata/e mutazione/e in RRDR ^a
Resistenza a RIF NON rilevata	Nessuna mutazione rilevata in RRDR ^a

Resistenza a RIF NON REFERTABILE		DNA del <i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex rilevato, ma metriche di resistenza a RIF non misurabili; una singola sonda per <i>rpoB</i> non ha fornito un segnale e le rimanenti sonde per <i>rpoB</i> presentano segnali wild-type
Resistenza a INH rilevata^c	Mutazione <i>katG</i> NON rilevata	DNA resistente a INH rilevato; nessuna mutazione rilevata nel bersaglio del test <i>katG</i>
	Mutazione <i>katG</i> rilevata	DNA resistente a INH rilevato; mutazione/i rilevata/e nel bersaglio del test <i>katG</i>
	Mutazione <i>inhApr</i>^b NON rilevata	DNA resistente a INH rilevato; nessuna mutazione rilevata nel bersaglio del test della regione promotrice di <i>inhA</i>
	Mutazione <i>inhApr</i>^b rilevata	DNA resistente a INH rilevato; mutazione/i rilevata/e nel bersaglio del test della regione promotrice di <i>inhA</i>
Resistenza a INH NON rilevata		Nessuna mutazione rilevata in entrambi i bersagli del test <i>katG</i> e regione promotrice di <i>inhA</i>
Resistenza a INH NON REFERTABILE		DNA del <i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex rilevato, ma metriche di resistenza a INH non misurabili; la sonda per <i>katG</i> o la sonda per la regione promotrice di <i>inhA</i> non ha fornito un segnale e l'altro segnale è presentato come wild-type
MTB non risolto (MTB UNR)		DNA del <i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex non rilevato e nessun controllo per l'analisi dei campioni rilevato (indicativo di campione inibitorio o inattività del reagente)
Indeterminato (IND)		Indeterminato per errore del BD MAX System (con Avvertenza o Codice di errore ^d)
Incompleto (INC)		Serie incompleta (con Avvertenza o Codice di errore ^d)

^a RRDR = regione di determinazione della resistenza alla rifampicina (regione 81 bp del gene *rpoB*, codoni 507–533)

^b *inhApr* = regione promotrice di *inhA*

^c Se la resistenza di *katG* o *inhApr* (Mutazione NON rilevata o Mutazione rilevata) non è riportata con il risultato di resistenza a INH rilevata, il risultato del bersaglio non è refertabile. La sonda del test per quel bersaglio non ha fornito un segnale.

^d Per interpretare i messaggi di avvertenza o i codici di errore, consultare la sezione "Risoluzione dei problemi" del Manuale d'uso del BD MAX System[®].

RIPETIZIONE DELLA PROCEDURA DEL TEST

NOTA: nella BD MAX MDR-TB Sample Tube è disponibile volume sufficiente per ripetere il test una sola volta. Per le BD MAX MDR-TB Sample Tubes conservate a 2–28 °C, ripetere il test entro 72 ore dal trattamento iniziale dei campioni con BD MAX STR. I campioni di espettorato trattati con STR rimanenti possono anche essere usati per ripetere le analisi entro 72 ore se conservati a 2–28 °C.

NOTA: i nuovi campioni possono essere analizzati insieme ai campioni ripetuti.

Risultato di MTB a bassa positività

I risultati di MTB a bassa positività si ottengono nel caso in cui i campioni siano positivi per MTB e ci sia perdita di segnale per ≥2 sonde bersaglio di resistenza, segnalando una carica batterica entro i limiti di rilevamento del rilevamento di MTB e dei test per la determinazione della resistenza.

Il test può essere ripetuto come descritto sopra, tuttavia, esiste la possibilità che i risultati sulla resistenza non vengano riportati perché la carica batterica del campione potrebbe essere inferiore ai limiti di rilevamento per i test su RIF e/o INH.

L'analisi dei campioni può essere ripetuta dalle corrispondenti provette campione entro i tempi definiti sopra. Ripartire dalla sezione "Funzionamento del BD MAX System". Il campione di espettorato rimanente può anche essere usato per ripetere i test con la preparazione di una nuova provetta campione nei tempi definiti sopra. Ripartire dalla sezione Preparazione dei campioni.

Risultato di resistenza a RIF o INH non refertabile

Si possono ottenere risultati non refertabili nel caso in cui ci sia una perdita di segnale per una sonda bersaglio di resistenza. Il test deve essere ripetuto come descritto sopra.

L'analisi dei campioni può essere ripetuta dalle corrispondenti provette campione entro i tempi definiti sopra. Ripartire dalla sezione "Funzionamento del BD MAX System". Il campione di espettorato rimanente può anche essere usato per ripetere i test con la preparazione di una nuova provetta campione nei tempi definiti sopra. Ripartire dalla sezione Preparazione dei campioni.

Risultato non risolto per MTB

Si possono ottenere risultati non risolti per MTB se l'inibizione associata al campione o un'inattività del reagente impedisce la corretta amplificazione del bersaglio e/o del controllo per l'analisi dei campioni. Se il controllo per l'analisi dei campioni non amplifica, il risultato del campione sarà MTB UNR. Il test deve essere ripetuto come descritto sopra.

L'analisi dei campioni può essere ripetuta dalle corrispondenti provette campione entro i tempi definiti sopra. Ripartire dalla sezione "Funzionamento del BD MAX System". Il campione trattato con STR rimanente può anche essere usato per ripetere i test con la preparazione di una nuova provetta campione nei tempi definiti sopra. Ripartire dalla sezione Preparazione dei campioni.

Risultato indeterminato

Si possono ottenere risultati indeterminati se si verifica un errore del sistema. L'analisi dei campioni può essere ripetuta dalle corrispondenti provette campione entro i tempi definiti sopra. Riavviare seguendo quanto riportato nella sezione "Funzionamento del BD MAX System". Il campione trattato con STR rimanente, preparato all'interno di una nuova provetta campione, può anche essere usato per ripetere i test nei tempi definiti sopra. Ripartire dalla sezione Preparazione dei campioni. Per interpretare i messaggi di avvertenza o con codice di errore, consultare il Manuale d'uso di BD MAX⁸ (sezione Risoluzione dei problemi).

Risultato incompleto

Si possono ottenere risultati incompleti se la preparazione del campione o la PCR non è stata completata. L'analisi dei campioni può essere ripetuta dalle corrispondenti provette campione entro i tempi definiti sopra. Riavviare seguendo quanto riportato nella sezione "Funzionamento del BD MAX System". Il campione trattato con STR rimanente, preparato all'interno di una nuova provetta campione, può anche essere usato per ripetere i test nei tempi definiti sopra. Ripartire dalla sezione Preparazione dei campioni. Per interpretare i messaggi di avvertenza o di codice di errore, consultare il Manuale per l'utente del BD MAX System⁸ (sezione Risoluzione dei problemi).

Errore controllo esterno

Quando analizzati, i controlli esterni dovrebbero fornire i risultati attesi. Se occorre ripetere l'analisi dei campioni in seguito a un risultato errato del controllo esterno, l'analisi deve essere ripetuta utilizzando le provette campione corrispondenti insieme a controlli esterni appena preparati entro i tempi definiti sopra. Riavviare seguendo quanto riportato nella sezione "Funzionamento del BD MAX System".

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

- Questo prodotto deve essere utilizzato esclusivamente con il BD MAX System da personale di laboratorio qualificato.
- Questo prodotto è destinato all'uso esclusivamente con espettorato puro trattato con BD MAX STR o sedimenti di espettorato concentrati preparati da espettorati indotti o espulsi.
- Le analisi potrebbero produrre risultati errati dovuti all'inadeguatezza delle procedure di prelievo, trattamento o conservazione del campione, a errori tecnici o allo scambio di campioni o al fatto che il numero di organismi nel campione è inferiore alla sensibilità analitica del test.
- Se il risultato del test BD MAX MDR-TB è IND, INC o UNR, è necessario ripetere il test.
- È stata osservata interferenza con il test BD MAX MDR-TB in presenza di Mucin a livelli superiori a 1,5% w/v (Tabella 24, sezione Caratteristiche delle prestazioni).
- Un risultato positivo del BD MAX MDR-TB non indica necessariamente la presenza di organismi vitali. Indica, tuttavia, la presenza del DNA bersaglio.
- Eventuali mutazioni o polimorfismi nelle regioni leganti i primer o le sonde potrebbero incidere sul rilevamento di varianti non note del bersaglio, con conseguente risultato non corretto del test BD MAX MDR-TB.
- Come per tutti i test basati sulla PCR, possono essere rilevati livelli molto bassi di bersaglio inferiori al LoD (Limit of Detection, limite di rilevamento) del test ma i risultati potrebbero non essere riproducibili.
- Risultati falsi negativi potrebbero essere dovuti a perdita di acido nucleico per l'inadeguatezza delle procedure di prelievo, trasferimento o conservazione dei campioni o per una lisi batterica insufficiente. Il controllo per l'analisi dei campioni è stato aggiunto al test come ausilio all'identificazione dei campioni che contengono inibitori dell'amplificazione della PCR e come controllo per l'integrità del reagente e di tutto il sistema di test. Il controllo per l'analisi dei campioni non indica se l'acido nucleico è stato perso a causa dell'inadeguatezza delle procedure di prelievo, trasferimento o conservazione dei campioni o se le cellule batteriche sono state lisate in modo inadeguato.
- I risultati del test BD MAX MDR-TB possono essere o meno influenzati da una terapia medica concomitante, che può ridurre la quantità di bersaglio presente.
- Si tratta di un test qualitativo che non fornisce valori quantitativi, né indica la quantità di organismi presenti.
- Le prestazioni del test BD MAX MDR-TB non sono state valutate con campioni di pazienti pediatrici.

VALORI ATTESI

Il tasso di positività dei campioni che sono positivi per *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), resistenti alla rifampicina (RIF) e resistenti a isoniazide (o idrazide isonicotinica) (INH), dipende dalla popolazione di pazienti. I fattori includono il Paese di origine. Nello studio clinico su BD MAX MDR-TB (marzo 2016–agosto 2017) sono stati raccolti in maniera prospettica, e poi congelati, 761 campioni di espettorato in Paesi noti per l'elevata incidenza di TB e MDR-TB. Ciascun campione di espettorato è stato suddiviso in due (2) porzioni, una è stata digerita tramite il metodo di digestione NALC/NaOH⁷ (trattata) e l'altra è stata considerata campione puro (senza digestione). Il BD MAX MDR-TB è stato effettuato su entrambe le porzioni. Il tasso di positività per MTB è stato calcolato su 635 campioni di espettorato puro più i 674 campioni di espettorato trattato che erano conformi a livello di campione e BD MAX MDR-TB con risultati refertabili (Tabella 2). Il tasso di positività per RIF è stato calcolato sui 316 campioni di espettorato puro più i 334 campioni di espettorato trattato che erano conformi a livello di campione e BD MAX MDR-TB con risultati refertabili per RIF. Il tasso di positività per INH è stato ottenuto da 327 campioni di espettorato puro più i 338 campioni di espettorato trattato che erano conformi a livello di campione e BD MAX MDR-TB con risultati refertabili per INH. I campioni sono stati prelevati in 6 Paesi.

Tabella 2: Positività al BD MAX MDR-TB su campioni congelati per Paese di origine dell'espettorato

Paese di raccolta	Tipo di campione	Tasso di positività MAX		
		MTB	RIF	INH
Mali	Espettorato puro	43,0% (92/214)	4,2% (3/72)	8,3% (6/72)
	Espettorato trattato	41,0% (87/212)	5,6% (4/71)	9,6% (7/73)
Messico	Espettorato puro	100% (5/5)	0,0% (0/5)	0,0% (0/5)
	Espettorato trattato	75,0% (6/8)	0,0% (0/6)	0,0% (0/6)
Repubblica di Moldavia	Espettorato puro	94,3% (82/87)	28,2% (20/71)	43,9% (36/82)
	Espettorato trattato	96,6% (84/87)	33,3% (25/75)	43,0% (34/79)
Russia	Espettorato puro	87,5% (14/16)	50,0% (5/10)	36,4% (4/11)
	Espettorato trattato	81,3% (13/16)	33,3% (3/9)	40,0% (4/10)
Sud Africa	Espettorato puro	69,2% (72/104)	0,0% (0/65)	1,6% (1/64)
	Espettorato trattato	67,3% (70/104)	1,5% (1/68)	1,6% (1/64)
Uganda	Espettorato puro	51,9% (107/206)	1,1% (1/91)	3,3% (3/91)
	Espettorato trattato	53,7% (131/244)	0,0% (0/103)	2,9% (3/104)
Sconosciuto	Espettorato puro	66,7% (2/3)	0,0% (0/2)	0,0% (0/2)
	Espettorato trattato	66,7% (2/3)	0,0% (0/2)	0,0% (0/2)
Totale	Espettorato puro	58,9% (374/635)	9,2% (29/316)	15,3% (50/327)
	Espettorato trattato	58,3% (393/674)	9,9% (33/334)	14,5% (49/338)

In un secondo studio clinico su BD MAX MDR-TB (maggio 2017–marzo 2018) sono stati raccolti in maniera prospettica 1.063 campioni di espettorato conformi in Paesi noti per l'elevata incidenza di TB e MDR-TB. Ciascun campione fresco di espettorato è stato suddiviso in due (2) porzioni, una è stata digerita tramite il metodo di digestione NALC/NaOH⁷ (trattata) e l'altra è stata considerata campione puro (senza digestione). Il BD MAX MDR-TB è stato effettuato su entrambe le porzioni. Il tasso di positività per MTB è stato calcolato sui 953 campioni di espettorato puro e sui 965 campioni di espettorato trattato che erano conformi a livello di campione e BD MAX MDR-TB con risultati refertabili (Tabella 3). Il tasso di positività per RIF è stato calcolato sui 255 campioni di espettorato puro e sui 236 campioni di espettorato trattato che erano conformi a livello di campione e BD MAX MDR-TB con risultati refertabili per RIF. Il tasso di positività per INH è stato ottenuto dai 256 campioni di espettorato puro e dai 233 campioni di espettorato trattato che erano conformi a livello di campione e BD MAX MDR-TB con risultati refertabili per INH. I campioni erano stati prelevati in quattro Paesi.

Tabella 3: Positività al BD MAX MDR-TB su campioni freschi per Paese di origine dell'espettorato

Paese di raccolta	Tipo di campione	Tasso di positività MAX		
		MTBC	RIF	INH
India	Espettorato puro	42,3% (52/123)	4,4% (2/45)	9,3% (4/43)
	Espettorato trattato	43,5% (54/124)	2,5% (1/40)	10,0% (4/40)
Perù	Espettorato puro	49,6% (125/252)	13,1% (16/122)	15,4% (19/123)
	Espettorato trattato	49,0% (124/253)	14,5% (17/117)	14,2% (16/113)
Sud Africa	Espettorato puro	10,4% (33/318)	0,0% (0/22)	0,0% (0/23)
	Espettorato trattato	12,1% (39/322)	4,5% (1/22)	5,0% (1/20)
Uganda	Espettorato puro	28,8% (75/260)	3,0% (2/66)	4,5% (3/67)
	Espettorato trattato	26,7% (71/266)	3,5% (2/57)	5,0% (3/60)
Totale	Espettorato puro	29,9% (285/953)	7,8% (20/255)	10,2% (26/256)
	Espettorato trattato	29,8% (288/965)	8,9% (21/236)	10,3% (24/233)

Il valore predittivo positivo (PPV) e il valore predittivo negativo (NPV) ipotetici sono stati calcolati e rappresentati nelle Tabelle 4–6 per MTB rispettivamente resistente a RIF e resistente a INH. Questi calcoli si basano sull'ipotetica prevalenza e sulle sensibilità e specificità complessive rispetto ai metodi di riferimento dello studio.

Tabella 4: Valori predittivi positivi e negativi ipotetici per *M. tuberculosis* su campioni freschi per tipo di espettorato

Tipo di campione MAX	MTBC			PPV		NPV	
	Prevalenza	Sensibilità totale	Specificità totale	Stima	IC 95%	Stima	IC 95%
Espettorato puro	1%	92,6% (275/297) (89,0%, 95,1%)	98,6% (584/592) (97,4%, 99,3%)	40,9%	(26,6%, 60,7%)	99,9%	(99,9%, 100%)
	2,5%			63,7%	(47,9%, 79,7%)	99,8%	(99,7%, 99,9%)
	5%			78,3%	(65,3%, 88,9%)	99,6%	(99,4%, 99,7%)
	10%			88,4%	(79,9%, 94,4%)	99,2%	(98,8%, 99,5%)
	15%			92,4%	(86,3%, 96,4%)	98,7%	(98,1%, 99,2%)
	20%			94,5%	(90,0%, 97,5%)	98,2%	(97,3%, 98,8%)
	25%			95,8%	(92,3%, 98,1%)	97,6%	(96,4%, 98,4%)
	30%			96,7%	(93,9%, 98,5%)	96,9%	(95,5%, 98,0%)
	40%			97,9%	(96,0%, 99,0%)	95,2%	(93,1%, 96,9%)
	50%			98,6%	(97,3%, 99,4%)	93,0%	(90,0%, 95,4%)
Espettorato trattato	1%	89,2% (263/295) (85,1%, 92,2%)	96,5% (583/604) (94,7%, 97,7%)	20,6%	(14,8%, 28,9%)	99,9%	(99,8%, 99,9%)
	2,5%			39,7%	(30,6%, 50,8%)	99,7%	(99,6%, 99,8%)
	5%			57,4%	(47,5%, 67,9%)	99,4%	(99,2%, 99,6%)
	10%			74,0%	(65,6%, 81,7%)	98,8%	(98,3%, 99,1%)
	15%			81,9%	(75,2%, 87,7%)	98,1%	(97,4%, 98,6%)
	20%			86,5%	(81,1%, 91,0%)	97,3%	(96,3%, 98,1%)
	25%			89,5%	(85,1%, 93,1%)	96,4%	(95,1%, 97,4%)
	30%			91,7%	(88,0%, 94,5%)	95,4%	(93,8%, 96,7%)
	40%			94,5%	(92,0%, 96,4%)	93,0%	(90,7%, 95,0%)
	50%			96,2%	(94,5%, 97,6%)	89,9%	(86,7%, 92,7%)

Tabella 5: Valori predittivi positivi e negativi ipotetici per *M. tuberculosis* resistente a rifampicina (RIF) su campioni freschi per tipo di espettorato

Tipo di campione MAX	RIF			PPV		NPV	
	Prevalenza	Sensibilità totale	Specificità totale	Stima	IC 95%	Stima	IC 95%
Espettorato puro	1%	94,1% (16/17) (73,0%, 99,0%)	98,5% (202/205) (95,8%, 99,5%)	39,4%	(18,9%, 73,9%)	99,9%	(99,7%, 100%)
	2,5%			62,3%	(37,2%, 87,8%)	99,8%	(99,3%, 100%)
	5%			77,2%	(54,8%, 93,6%)	99,7%	(98,5%, 100%)
	10%			87,7%	(71,9%, 96,9%)	99,3%	(96,9%, 100%)
	15%			91,9%	(80,3%, 98,0%)	99,0%	(95,2%, 100%)
	20%			94,1%	(85,2%, 98,6%)	98,5%	(93,3%, 100%)
	25%			95,5%	(88,5%, 98,9%)	98,0%	(91,3%, 99,9%)
	30%			96,5%	(90,8%, 99,2%)	97,5%	(89,0%, 99,9%)
	40%			97,7%	(93,9%, 99,5%)	96,2%	(83,9%, 99,9%)
	50%			98,5%	(95,8%, 99,6%)	94,4%	(77,7%, 99,8%)
Espettorato trattato	1%	93,8% (15/16) (71,7%, 98,9%)	97,4% (191/196) (94,2%, 98,9%)	27,1%	(14,2%, 51,3%)	99,9%	(99,7%, 100%)
	2,5%			48,5%	(29,5%, 72,8%)	99,8%	(99,2%, 100%)
	5%			65,9%	(46,2%, 84,6%)	99,7%	(98,4%, 100%)
	10%			80,3%	(64,5%, 92,1%)	99,3%	(96,7%, 100%)
	15%			86,6%	(74,2%, 94,8%)	98,9%	(94,9%, 100%)
	20%			90,2%	(80,3%, 96,3%)	98,4%	(92,9%, 100%)
	25%			92,5%	(84,5%, 97,2%)	97,9%	(90,8%, 99,9%)
	30%			94,0%	(87,5%, 97,8%)	97,3%	(88,5%, 99,9%)
	40%			96,1%	(91,6%, 98,6%)	95,9%	(83,1%, 99,9%)
	50%			97,4%	(94,2%, 99,1%)	94,0%	(76,6%, 99,8%)

Tabella 6: Valori predittivi positivi e negativi ipotetici per *M. tuberculosis* resistente a isoniazide (INH) su campioni freschi per tipo di espettorato

Tipo di campione MAX	INH			PPV		NPV	
	Prevalenza	Sensibilità totale	Specificità totale	Stima	IC 95%	Stima	IC 95%
Espettorato puro	1%	81,5% (22/27) (63,3%, 91,8%)	100% (205/205) (98,2%, 100%)	100%	(33,9%, 100%)	99,8%	(99,6%, 99,9%)
	2,5%			100%	(56,5%, 100%)	99,5%	(99,0%, 99,8%)
	5%			100%	(72,7%, 100%)	99,0%	(98,0%, 99,7%)
	10%			100%	(84,9%, 100%)	98,0%	(95,9%, 99,3%)
	15%			100%	(89,9%, 100%)	96,8%	(93,7%, 98,9%)
	20%			100%	(92,7%, 100%)	95,6%	(91,3%, 98,4%)
	25%			100%	(94,4%, 100%)	94,2%	(88,7%, 97,9%)
	30%			100%	(95,6%, 100%)	92,6%	(86,0%, 97,4%)
	40%			100%	(97,1%, 100%)	89,0%	(79,8%, 96,0%)
	50%			100%	(98,1%, 100%)	84,4%	(72,4%, 94,1%)
Espettorato trattato	1%	84,0% (21/25) (65,3%, 93,6%)	100% (188/188) (98,0%, 100%)	100%	(32,5%, 100%)	99,8%	(99,6%, 100%)
	2,5%			100%	(55,0%, 100%)	99,6%	(99,1%, 99,9%)
	5%			100%	(71,5%, 100%)	99,2%	(98,1%, 99,8%)
	10%			100%	(84,1%, 100%)	98,3%	(96,1%, 99,5%)
	15%			100%	(89,4%, 100%)	97,3%	(94,0%, 99,2%)
	20%			100%	(92,3%, 100%)	96,2%	(91,7%, 98,9%)
	25%			100%	(94,1%, 100%)	94,9%	(89,3%, 98,5%)
	30%			100%	(95,3%, 100%)	93,6%	(86,6%, 98,1%)
	40%			100%	(96,9%, 100%)	90,4%	(80,6%, 97,1%)
	50%			100%	(97,9%, 100%)	86,2%	(73,5%, 95,7%)

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Prestazioni cliniche

Le caratteristiche prestazionali cliniche del test BD MAX MDR-TB sono state determinate con una ricerca multicentrica. Lo studio ha usato campioni raccolti in maniera prospettica e poi congelati, da 761 pazienti di sei Paesi noti per l'elevata incidenza di casi di TB e MDR-TB. I partecipanti allo studio sono stati arruolati in seguito a sospetto di tubercolosi (TB), avevano almeno 18 anni e non avevano ricevuto terapia antitubercolare o avevano ricevuto meno di tre (3) giorni di terapia negli ultimi sei (6) mesi. I campioni congelati sono stati inviati a BD, dove sono stati suddivisi in maniera randomizzata e inviati a due (2) centri in cui ogni campione di espettorato è stato suddiviso in due (2) porzioni: una porzione è stata digerita tramite il metodo di digestione NALC/NaOH⁷ (trattata) e l'altra è stata considerata campione puro (senza digestione). Un totale di tre (3) centri ha eseguito il metodo di riferimento (MR) sull'espettorato trattato, che prevedeva microscopia a fluorescenza (solo a scopo di stratificazione), coltura in terreno liquido seguita dal test di farmacosenibilità (DST, Drug Susceptibility Testing) e test di amplificazione degli acidi nucleici (NAAT, Nucleic Acid Amplification Test) Cepheid® Xpert MTB/RIF. Per MTB e RIF, per avere un MR positivo occorre che sia positiva la coltura/DST o NAAT. Entrambi i metodi devono essere negativi per ottenere un MR negativo. Per INH, solo la coltura/DST era il MR. Due (2) altri centri hanno eseguito il test BD MAX MDR-TB sulle porzioni trattate e pure dei campioni. Un totale di 761 pazienti ha fornito campioni di espettorato. I motivi di esclusione dei campioni dallo studio sono stati: manipolazione e trattamento inaccurati del campione, quantità inadeguata di campione ricevuto, assenza di risultati BD MAX corrispondenti e un volume di espettorato inferiore a 1,5 ml. Un totale di 643 campioni di espettorato puro e 678 campioni di espettorato trattato prelevati da 686 pazienti erano conformi a livello di BD MAX MDR-TB. Di questi, 596 campioni di espettorato puro e 635 campioni di espettorato trattato prelevati da 645 pazienti avevano anche un metodo di riferimento conforme e sono stati inclusi nei calcoli delle caratteristiche prestazionali. In totale, 384 soggetti di sesso maschile, 256 di sesso femminile e 5 di sesso non registrato sono stati inclusi nelle caratteristiche prestazionali. I campioni che hanno dato un risultato non conforme o assente per il MR oppure un risultato assente al BD MAX sono stati rimossi dai calcoli dei dati clinici. Tutti i test BD MAX che hanno dato inizialmente risultati non refertabili sono stati ripetuti.

La Tabella 7 riassume la sensibilità e la specificità per tipo di campione e lo stato sul vetrino per MTB. La Tabelle 8 e 9 riassumono la sensibilità e la specificità per tipo di campione per la resistenza a RIF e INH.

Tabella 7: Specificità e sensibilità di MTB su campioni congelati rispetto al MR composito (coltura più NAAT)

	Espettorato puro	Espettorato trattato
Sensibilità	98,3%	99,2%
Striscio positivo	(229/233)	(245/247)
	(95,7%, 99,3%)	(97,1%, 99,8%)
Sensibilità	88,5%	90,3%
Striscio negativo	(131/148)	(139/154)
	(82,4%, 92,7%)	(84,6%, 94,0%)
Sensibilità totale	94,5%	95,8%
	(360/381)	(384/401)
	(91,7%, 96,4%)	(93,3%, 97,3%)
Specificità totale	94,9%	97,0%
	(204/215)	(227/234)
	(91,1%, 97,1%)	(94,0%, 98,5%)

Dei 360 risultati veri positivi per MTB con espettorato puro, 106 avevano un metodo di riferimento RIF non valutabile. Tra i 254 campioni di MTB veri positivi e con MR RIF valutabile, rispettivamente 15 e 13 campioni avevano un risultato iniziale di MTB a bassa positività e di resistenza a RIF non refertabile. Ripetendo il test in modo valido, rispettivamente 7 e 4 campioni presentavano ancora un risultato di MTB a bassa positività e di resistenza a RIF non refertabile.

Dei 384 risultati veri positivi per MTB con espettorato trattato, 118 avevano un metodo di riferimento RIF non valutabile. Tra i 266 campioni di MTB veri positivi e con MR RIF valutabile, rispettivamente 24 e 11 campioni avevano un risultato iniziale di MTB a bassa positività e di resistenza a RIF non refertabile. Ripetendo il test in modo valido, rispettivamente 11 e 2 campioni presentavano ancora un risultato di MTB a bassa positività e di resistenza a RIF non refertabile.

Tabella 8: Prestazioni complessive per RIF su campioni congelati rispetto al MR composito (coltura/DST più NAAT)

	Espettorato puro	Espettorato trattato
Sensibilità totale	100%	100%
	(26/26)	(30/30)
	(87,1%, 100%)	(88,6%, 100%)
Specificità totale	100%	99,1%
	(206/206)	(214/216)
	(98,2%, 100%)	(96,7%, 99,7%)

Dei 360 risultati veri positivi per MTB con espettorato puro, 107 avevano un metodo di riferimento INH non valutabile. Tra i 253 campioni di MTB veri positivi e con MR INH valutabile, rispettivamente 14 e 2 campioni avevano un risultato iniziale di MTB a bassa positività e di resistenza a INH non refertabile. Ripetendo il test in modo valido, rispettivamente 7 e 0 campioni presentavano ancora un risultato di MTB a bassa positività e di resistenza a INH non refertabile.

Dei 384 risultati veri positivi per MTB con espettorato trattato, 115 avevano un metodo di riferimento INH non valutabile. Tra i 269 campioni di MTB veri positivi e con MR INH valutabile, rispettivamente 29 e 3 campioni avevano un risultato iniziale di MTB a bassa positività e di resistenza a INH non refertabile. Ripetendo il test in modo valido, rispettivamente 15 e 2 campioni presentavano ancora un risultato di MTB a bassa positività e di resistenza a INH non refertabile.

Tabella 9: Prestazioni complessive per INH su campioni congelati rispetto al MR (coltura/DST)

	Espettorato puro	Espettorato trattato
Sensibilità totale	100%	100%
	(43/43)	(41/41)
	(91,8%, 100%)	(91,4%, 100%)
Specificità totale	100%	100%
	(199/199)	(209/209)
	(98,1%, 100%)	(98,2%, 100%)

Un totale di 643 campioni di espettorato puro e 678 campioni di espettorato trattato sono basati su campioni di espettorato e risultati del BD MAX MDR-TB conformi. Un risultato del BD MAX MDR-TB iniziale non refertabile è stato ripetuto. La Tabella 10 riassume le percentuali di risultati MTB non risolti, indeterminati e incompleti per tipo di campione.

Tabella 10: Percentuali di MTB UNR, IND, INC e combinate non refertabili su campioni congelati per tipo di espettorato

Tipo di campione	MTB non risolto (UNR)		Indeterminato (IND)		Incompleto (INC)		Totale non refertabile (UNR+IND+INC)	
	Iniziale (IC 95%)	Ripetizione valida (IC 95%)	Iniziale (IC 95%)	Ripetizione valida (IC 95%)	Iniziale (IC 95%)	Ripetizione valida (IC 95%)	Iniziale (IC 95%)	Ripetizione valida (IC 95%)
Espettorato puro	2,5% (16/643) (1,5%, 4,0%)	0,2% (1/636) (0,0%, 0,9%)	3,1% (20/643) (2,0%, 4,8%)	0,0% (0/636) (0,0%, 0,6%)	0,0% (0/643) (0,0%, 0,6%)	0,0% (0/636) (0,0%, 0,6%)	5,6% (36/643) (4,1%, 7,7%)	0,2% (1/636) (0,0%, 0,9%)
Espettorato trattato	0,7% (5/678) (0,3%, 1,7%)	0,0% (0/674) (0,0%, 0,6%)	1,2% (8/678) (0,6%, 2,3%)	0,0% (0/674) (0,0%, 0,6%)	0,0% (0/678) (0,0%, 0,6%)	0,0% (0/674) (0,0%, 0,6%)	1,9% (13/678) (1,1%, 3,3%)	0,0% (0/674) (0,0%, 0,6%)

Le caratteristiche prestazionali cliniche del test BD MAX MDR-TB sono state determinate con una seconda ricerca multicentrica. Lo studio ha usato campioni freschi raccolti in maniera prospettica in quattro Paesi noti per l'elevata incidenza di casi di TB e MDR-TB. I partecipanti allo studio sono stati arruolati nel gruppo di rilevamento dei casi se presentavano a sospetto di tubercolosi (TB), avevano almeno 18 anni e non avevano ricevuto terapia antitubercolare o avevano ricevuto meno di tre (3) giorni di terapia negli ultimi sei (6) mesi. I partecipanti allo studio sono stati arruolati nel gruppo TB resistente ai farmaci se presentavano sospetto di tubercolosi (TB), avevano almeno 18 anni e soddisfacevano almeno uno dei seguenti criteri: i) TB polmonare accertata, con sospetto insuccesso del trattamento, ii) anamnesi di TB resistente ai farmaci e di trattamento anti-TB per 3 mesi o più, iii) TB polmonare confermata microbiologicamente con resistenza a RIF documentata, sottoposti a trattamento anti-TB per 31 giorni o meno.

Le caratteristiche prestazionali per MTB sono state determinate solo dalla popolazione del gruppo di rilevamento dei casi. Per la determinazione delle caratteristiche prestazionali della resistenza a RIF e INH, sono state combinate entrambe le popolazioni. Ciascun campione fresco di espettorato è stato suddiviso in due (2) porzioni: una porzione è stata digerita tramite il metodo di digestione NALC/NaOH⁷ (trattata) e l'altra è stata considerata campione puro (senza digestione). Ciascuno dei quattro (4) centri ha eseguito il test BD MAX MDR-TB sulle porzioni trattata e pura dei campioni e il metodo di riferimento (MR) sull'espettorato trattato costituito da coltura in terreno liquido seguita dal test di farmacosenibilità (DST, Drug Susceptibility Testing) e test di amplificazione degli acidi nucleici (NAAT) Cepheid Xpert MTB/RIF. Il sequenziamento bidirezionale di una regione del gene *rhoB* è stato eseguito da BD per confermare i risultati di resistenza a RIF rilevata dal NAAT. Per MTB, per avere un MR positivo occorre che sia positiva la coltura o il NAAT. Entrambi i metodi devono essere negativi per ottenere un MR negativo. Per la resistenza a RIF, per avere un MR positivo occorre che sia positivo il DST o il NAAT seguito da sequenziamento bidirezionale. Entrambi i metodi devono essere negativi per ottenere un MR negativo. Per INH, solo la coltura/DST era il MR. Le colorazioni Ziehl-Neelsen e Auramina-O sono state eseguite sulle porzioni pura e trattata.

In totale, rispettivamente 1.091 e 11 soggetti sono stati arruolati nel gruppo di rilevamento dei casi e nel gruppo di TB resistente ai farmaci. Di questi, rispettivamente 1.076 e 10 soggetti erano conformi per il gruppo di rilevamento dei casi e il gruppo di TB resistente ai farmaci in base ai criteri del protocollo. In totale, rispettivamente 1.053 e 10 pazienti nel gruppo di rilevamento dei casi e nel gruppo di TB resistente ai farmaci hanno fornito un campione di espettorato conforme. I campioni sono stati esclusi dallo studio in caso di manipolazione e trattamento inaccurati dei campioni, quantità inadeguata del campione ricevuto, assenza di risultati corrispondenti di BD MAX e se erano troppo vecchi per l'analisi. Un totale di 1.033 campioni di espettorato puro e 1.034 campioni di espettorato trattato erano conformi a livello di BD MAX MDR-TB. Di questi, 889 campioni di espettorato puro e 899 campioni di espettorato trattato prelevati da 911 pazienti sono stati inclusi nei calcoli delle caratteristiche prestazionali. Quattrocentottantanove (489) soggetti di sesso maschile e quattrocentoventidue (422) di sesso femminile sono stati inclusi nelle caratteristiche prestazionali. I campioni che hanno dato un risultato non conforme o assente per il MR oppure un risultato assente al BD MAX sono stati rimossi dai calcoli dei dati clinici. Tutti i test BD MAX che hanno dato inizialmente risultati non refertabili sono stati ripetuti.

La Tabella 11 riassume la prevalenza ottenuta per ciascun bersaglio per Paese.

Tabella 11: Prevalenza di MTB e resistenza a RIF e INH in campioni freschi per Paese

Paese di raccolta	Prevalenza con MR					
	MTB	RIF	INH	Resistente solo a RIF (sensibile a INH) ^a	Resistente solo a INH (sensibile a RIF) ^a	Resistente a RIF e resistente a INH ^a
India	43,6% (58/133)	4,9% (2/41)	14,0% (7/50)	0,0% (0/41)	9,8% (4/41)	4,9% (2/41)
Perù	56,6% (151/267)	11,5% (15/130)	15,6% (22/141)	3,1% (4/129)	7,8% (10/129)	7,8% (10/129)
Sud Africa	10,6% (34/320)	3,8% (1/26)	3,4% (1/29)	0,0% (0/26)	0,0% (0/26)	3,8% (1/26)
Uganda	33,7% (88/261)	2,9% (2/68)	3,9% (3/77)	2,9% (2/68)	4,4% (3/68)	0,0% (0/68)
Totale	33,7% (331/981)	7,5% (20/265)	11,1% (33/297)	2,3% (6/264)	6,4% (17/264)	4,9% (13/264)

^a Il denominatore è costituito da tutti i campioni con un risultato POS/NEG refertabile sia per il MR composito per RIF (coltura/DST più NAAT e sequenziamento bidirezionale) sia per il MR per INH (coltura/DST).

Le Tabelle 12 e 13 riassumono le prestazioni di MTB stratificate in funzione del metodo di colorazione Auramina-O e Ziehl-Neelsen eseguito rispettivamente sull'espettorato puro e trattato.

Tabella 12: Sensibilità di MTB su campioni freschi stratificata in funzione del metodo di colorazione Auramina-O e Ziehl-Neelsen eseguito sull'espettorato puro

Metodi di colorazione eseguiti sull'espettorato puro	Metodo Auramina-O ^a		Metodo Ziehl-Neelsen ^b	
	Test BD MAX MDR-TB eseguito su		Test BD MAX MDR-TB eseguito su	
	Espettorato puro	Espettorato trattato	Espettorato puro	Espettorato trattato
	Percentuale (IC 95%)	Percentuale (IC 95%)	Percentuale (IC 95%)	Percentuale (IC 95%)
Sensibilità striscio positivo	100% (178/178) (97,9%, 100%)	100% (176/176) (97,9%, 100%)	100% (149/149) (97,5%, 100%)	100% (147/147) (97,5%, 100%)
Sensibilità striscio negativo	81,5% (97/119) (73,6%, 87,5%)	73,1% (87/119) (64,5%, 80,3%)	85,1% (126/148) (78,5%, 90,0%)	78,4% (116/148) (71,1%, 84,2%)

^aI risultati dello striscio non erano disponibili per 3 campioni con un metodo di riferimento negativo.

^bI risultati dello striscio non erano disponibili per 2 campioni con un metodo di riferimento negativo.

Tabella 13: Sensibilità di MTB su campioni freschi stratificata in funzione del metodo di colorazione Auramina-O e Ziehl-Neelsen eseguito sull'espettorato trattato

Metodi di colorazione eseguiti sull'espettorato trattato	Metodo Auramina-O ^a		Metodo Ziehl-Neelsen ^b	
	Test BD MAX MDR-TB eseguito su		Test BD MAX MDR-TB eseguito su	
	Espettorato puro	Espettorato trattato	Espettorato puro	Espettorato trattato
	Percentuale (IC 95%)	Percentuale (IC 95%)	Percentuale (IC 95%)	Percentuale (IC 95%)
Sensibilità striscio positivo	99,1% (214/216) (96,7%, 99,7%)	99,5% (213/214) (97,4%, 99,9%)	99,5% (193/194) (97,1%, 99,9%)	99,5% (191/192) (97,1%, 99,9%)
Sensibilità striscio negativo	75,3% (61/81) (64,9%, 83,4%)	61,7% (50/81) (50,8%, 71,6%)	79,6% (82/103) (70,8%, 86,3%)	69,9% (72/103) (60,5%, 77,9%)

^aI risultati dello striscio non erano disponibili per 2 campioni con un metodo di riferimento negativo.

^bI risultati dello striscio non erano disponibili per 3 campioni con un metodo di riferimento negativo.

La Tabella 14 riassume la sensibilità e la specificità per tipo di campione e sito di test di raccolta per MTB. La Tabelle 15 e 16 riassumono la sensibilità e la specificità per tipo di campione per la resistenza a RIF e INH.

Tabella 14: Specificità e sensibilità di MTB su campioni freschi rispetto al MR composito (coltura più NAAT)

Sito	Espettorato puro		Espettorato trattato	
	Sensibilità	Specificità	Sensibilità	Specificità
	Percentuale (IC 95%)	Percentuale (IC 95%)	Percentuale (IC 95%)	Percentuale (IC 95%)
Sud Africa	91,2% (31/34) (77,0%, 97,0%)	99,3% (265/267) (97,3%, 99,8%)	84,8% (28/33) (69,1%, 93,3%)	95,9% (260/271) (92,9%, 97,7%)
Uganda	92,2% (71/77) (84,0%, 96,4%)	98,7% (148/150) (95,3%, 99,6%)	87,0% (67/77) (77,7%, 92,8%)	98,7% (153/155) (95,4%, 99,6%)
India	98,0% (49/50) (89,5%, 99,6%)	95,6% (65/68) (87,8%, 98,5%)	92,0% (46/50) (81,2%, 96,8%)	91,3% (63/69) (82,3%, 96,0%)
Perù	91,2% (124/136) (85,2%, 94,9%)	99,1% (106/107) (94,9%, 99,8%)	90,4% (122/135) (84,2%, 94,3%)	98,2% (107/109) (93,6%, 99,5%)
Totale	92,6% (275/297) (89,0%, 95,1%)	98,6% (584/592) (97,4%, 99,3%)	89,2% (263/295) (85,1%, 92,2%)	96,5% (583/604) (94,7%, 97,7%)

Dei 275 più 3 risultati di MTB veri positivi con espettorato puro nel gruppo di rilevamento dei casi e nel gruppo di resistenza, 44 avevano un metodo di riferimento RIF composito non valutabile. Tra i 234 campioni di MTB veri positivi e con MR RIF valutabile, rispettivamente 16 e 3 campioni avevano un risultato iniziale di MTB a bassa positività e di resistenza a RIF non refertabile. Ripetendo il test in modo valido, rispettivamente 9 e 2 campioni presentavano ancora un risultato di MTB a bassa positività e di resistenza a RIF non refertabile.

Dei 263 più 3 risultati di MTB veri positivi con espettorato trattato nel gruppo di rilevamento dei casi e nel gruppo di resistenza, 36 avevano un metodo di riferimento RIF composito non valutabile. Tra i 230 campioni di MTB veri positivi e con MR RIF valutabile, rispettivamente 28 e 4 campioni avevano un risultato iniziale di MTB a bassa positività e di resistenza a RIF non refertabile. Ripetendo il test in modo valido, rispettivamente 13 e 1 campione presentavano ancora un risultato di MTB a bassa positività e di resistenza a RIF non refertabile.

Tabella 15: Prestazioni complessive per RIF su campioni freschi rispetto al MR composito coltura/DST più NAAT e sequenziamento bidirezionale

	Espettorato puro	Espettorato trattato
Sensibilità totale	94,1% (16/17) ^a (73%, 99%)	93,8% (15/16) ^b (71,7%, 98,9%)
Specificità totale	98,5% (202/205) (95,8%, 99,5%)	97,4% (191/196) (94,2%, 98,9%)

^a Dei 17 campioni resistenti a RIF, 7 erano sensibili a RIF con DST o non erano valutabili, ma con Xpert MTB/RIF è stata rilevata resistenza a RIF e il sequenziamento bidirezionale ha confermato tale resistenza. La resistenza rilevata era per L511P, D516Y, D516F, H526N e L533P.

^b Dei 16 campioni resistenti a RIF, 6 erano sensibili a RIF con DST, ma con Xpert MTB/RIF è stata rilevata resistenza a RIF e il sequenziamento bidirezionale ha confermato tale resistenza. La resistenza rilevata era per L511P, D516Y, D516F e L533P.

Dei 275 più 3 risultati di MTBC veri positivi con espettorato puro nel gruppo di rilevamento dei casi e nel gruppo di resistenza, 26 avevano un metodo di riferimento INH non valutabile. Tra i 252 campioni di MTBC veri positivi e con MR INH valutabile, rispettivamente 22 e 8 campioni avevano un risultato iniziale di MTBC a bassa positività e di resistenza a INH non refertabile. Ripetendo il test in modo valido, rispettivamente 17 e 2 campioni presentavano ancora un risultato di MTBC a bassa positività e di resistenza a INH non refertabile.

Dei 263 più 3 risultati di MTB veri positivi con espettorato trattato nel gruppo di rilevamento dei casi e nel gruppo di resistenza, 23 avevano un metodo di riferimento INH non valutabile. Tra i 243 campioni di MTB veri positivi e con MR INH valutabile, rispettivamente 35 e 12 campioni avevano un risultato iniziale di MTB a bassa positività e di resistenza a INH non refertabile. Ripetendo il test in modo valido, rispettivamente 19 e 10 campioni presentavano ancora un risultato di MTB a bassa positività e di resistenza a INH non refertabile.

Tabella 16: Prestazioni complessive per INH su campioni freschi rispetto al MR (coltura/DST)

	Espettorato puro	Espettorato trattato
Sensibilità totale	81,5% (22/27) (63,3%, 91,8%)	84% (21/25) (65,3%, 93,6%)
Specificità totale	100% (205/205) (98,2%, 100%)	100% (188/188) (98%, 100%)

Un totale di 1.033 campioni di espettorato puro e 1.034 campioni di espettorato trattato sono basati su campioni di espettorato e risultati del BD MAX MDR-TB conformi. Un risultato del BD MAX MDR-TB iniziale non refertabile è stato ripetuto. La Tabella 17 riassume le percentuali di risultati MTB non risolti, indeterminati e incompleti per tipo di campione.

Tabella 17: Percentuali di MTB UNR, IND, INC e non refertabili totali su campioni freschi per tipo di espettorato

Tipo di campione	MTB non risolto (UNR)		Indeterminato (IND)		Incompleto (INC)		Totale non refertabile (UNR+IND+INC)	
	Iniziale (IC 95%)	Ripetizione valida (IC 95%)	Iniziale (IC 95%)	Ripetizione valida (IC 95%)	Iniziale (IC 95%)	Ripetizione valida (IC 95%)	Iniziale (IC 95%)	Ripetizione valida (IC 95%)
Espettorato puro	3,8% (39/1.033) (2,8%, 5,1%)	1,0% (10/1.020) (0,5%, 1,8%)	2,8% (29/1.033) (2,0%, 4,0%)	0,6% (6/1.020) (0,3%, 1,3%)	0,6% (6/1.033) (0,3%, 1,3%)	0,6% (6/1.020) (0,3%, 1,3%)	7,2% (74/1.033) (5,7%, 8,9%)	2,2% (22/1.020) (1,4%, 3,2%)
Espettorato trattato	2,7% (28/1.034) (1,9%, 3,9%)	0,3% (3/1.022) (0,1%, 0,9%)	1,3% (13/1.034) (0,7%, 2,1%)	0,1% (1/1.022) (0,0%, 0,6%)	0,7% (7/1.034) (0,3%, 1,4%)	0,4% (4/1.022) (0,2%, 1,0%)	4,6% (48/1.034) (3,5%, 6,1%)	0,8% (8/1.022) (0,4%, 1,5%)

Inclusività analitica

Nello studio sono stati inclusi vari ceppi bersaglio del test BD MAX TB-MDR. I criteri per la scelta del ceppo hanno incluso isolati resistenti e sensibili a rifampicina e isoniazide da diverse aree geografiche. In questo studio sono stati inclusi una combinazione di organismi quantitativi, lisati di cellule termali (acquisiti dalla collezione pubblica della Belgian Coordinated Collections of Microorganisms/Institute of Tropical Medicine (BCCM/ITM)) e DNA genomico. Quarantaquattro (44) ceppi ben caratterizzati di *M. tuberculosis* sono stati testati per il rilevamento di RIF/INH con il test BD MAX MDR-TB (Tabelle 18 e 19). I ceppi testati delle specie del *M. tuberculosis* complex sono stati: *M. africanum*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. canetti*, *M. microti*, *M. pinnipedii* (Tabella 20).

Tabella 18: Test della resistenza con il test BD MAX MDR-TB con lisati di cellule termali

ID ceppo	Origine	Resistenza a rifampicina ^a		Resistenza a isoniazide ^b			Risultato BD MAX MDR-TB
		R/S	Codone RRDR	R/S	Codone <i>katG</i>	Nucleotide <i>inhApr</i>	
041679	Nepal	R	Ser512Gly Ser531Trp	R	Ser315Thr	WT	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
971524	Bangladesh	R	Met515Ile Asp516Tyr	S	WT	WT	Resistenza a RIF rilevata
980166	Bangladesh	R	Ser509Arg His526Arg	S	WT	WT	Resistenza a RIF rilevata
970472	Bangladesh	S	WT	R	Ser315Ile	WT	Resistenza a INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
041204	Corea del Sud	R	Asp516Val	R	WT	C-15T	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> NON rilevata Mutazione <i>inhApr</i> rilevata
041207	Corea del Sud	R	Ser531Leu	R	WT	G-9A	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> NON rilevata Mutazione <i>inhApr</i> rilevata
041226	Corea del Sud	R	Leu511 Pro	R	Ser315Thr	WT	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
041203	Corea del Sud	S	WT	R	Ser315Thr	WT	Resistenza a INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
042763	Filippine	R	Ser531Leu	R	WT	C-15T	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> NON rilevata Mutazione <i>inhApr</i> rilevata
000440	Kazakistan	R	Ser531Trp	R	Ser315Thr	WT	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
020115	Georgia	S	WT	R	WT	C-15T	Resistenza a INH rilevata Mutazione <i>katG</i> NON rilevata Mutazione <i>inhApr</i> rilevata
042928	Spagna	S	WT	R	Ser315Asn	WT	Resistenza a INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
041668	Germania	S	WT	R	Ser315Thr	C-15T	Resistenza a INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> rilevata
992092	Francia	R	Ser531Leu	R	Ser315Thr	WT	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
041655	Bolivia	R	Ser531Leu	R	Ser315Asn	WT	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
041290	Brasile	S	WT	R	Ser315Thr	WT	Resistenza a INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata

ID ceppo	Origine	Resistenza a rifampicina ^a		Resistenza a isoniazide ^b			Risultato BD MAX MDR-TB
		R/S	Codone RRDR	R/S	Codone <i>katG</i>	Nucleotide <i>inhApr</i>	
041281	Brasile	R	Asp516Val	S	Ser315Ser	WT	Resistenza a RIF e INH rilevata ^c Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
041289	Brasile	R	His526Arg	R	Ser315Thr	C-15T	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> rilevata
042611	Perù	R	His526Arg	R	Ser315Asn	WT	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
040850	Sud Africa	R	Leu533Pro	R	Ser315Thr	T-8G	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> rilevata
041086	Ruanda	R	Ser531Leu	R	Ser315Thr	C-15T	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> rilevata
991451	Congo	R	Asp516Tyr	R	Ser315Thr	WT	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
021555	Burundi	S	WT	R	Ser315Thr	WT	Resistenza a INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata

^a R = resistente a rifampicina, S = sensibile a rifampicina, WT = wild-type, senza variazione di codone o nucleotide

^b R = resistente a isoniazide, S = sensibile a isoniazide, WT = wild-type, senza variazione di codone o nucleotide

^c Fenotipicamente sensibile a INH ma resistente a INH mediante sequenza di DNA e BD MAX MDR-TB

Tabella 19: Test della resistenza con BD MAX MDR-TB con isolati di depositi con BD Mycobacterium

ID ceppo	Resistenza a rifampicina		Resistenza a isoniazide			Risultato BD MAX MDR-TB
	R/S	Codone RRDR	R/S	Codone <i>katG</i>	Nucleotide <i>inhApr</i>	
TB006	R	Gln513Lys	R	WT	C-15T	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> NON rilevata Mutazione <i>inhApr</i> rilevata
TB007	R	Gln513Lys	R	WT	C-15T	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> NON rilevata Mutazione <i>inhApr</i> rilevata
TB009	R	Gln513Lys	S	WT	WT	Resistenza a RIF rilevata
TB010	R	Ser531Leu	R	Ser315Thr	WT	Resistenza a RIF ^c e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
TB012 ^a	R	His526Tyr	R	Ser315Thr	WT	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
TB022	R	His526Tyr	S	WT	WT	Resistenza a RIF rilevata
TB023	R	Asp516Tyr	R	Ser315Thr	WT	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
TB028	R	His526Tyr	R	Ser315Thr	C-15T	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> rilevata
TB037	R	Asp516Val	R	Ser315Thr	WT	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
TB041	R	His526Asp	S	WT	WT	Resistenza a RIF rilevata
TB047	R	Delezione del codone 519 (AAC)	S	WT	WT	Resistenza a RIF rilevata

ID ceppo	Resistenza a rifampicina		Resistenza a isoniazide			Risultato BD MAX MDR-TB
	R/S	Codone RRDR	R/S	Codone <i>katG</i>	Nucleotide <i>inhApr</i>	
TB049	R	Asp516Val	S	WT	WT	Resistenza a RIF rilevata, resistenza a INH non refertabile ^b
TB053	R	Ser531Leu	R	Ser315Thr	WT	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
TB058	R	Asp516Val	R	Ser315Thr	WT	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
TB059	R	His526Asp	R	Ser315Thr	WT	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
TB062	R	His526Arg	S	WT	WT	Resistenza a RIF rilevata
TB063	R	Gln513Glu	R	Ser315Thr	WT	Resistenza a RIF e INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
TB094	R	Leu511Pro Ser512Thr	S	WT	WT	Resistenza a RIF rilevata
TB112	R	His526Leu	R	Ser315Thr	WT	Resistenza a RIF rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata
TB121	S	WT	R	Ser315Asn	C-15T	Resistenza a INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> rilevata
TB123	S	WT	R	Ser315Thr	WT	Resistenza a INH rilevata Mutazione <i>katG</i> rilevata Mutazione <i>inhApr</i> NON rilevata

^a DNA genomico

^b Fenotipicamente sensibile a INH, ma INH non refertabile mediante sequenza di DNA e BD MAX MDR-TB

^c Il 20% delle repliche dei test era a RIF non refertabile per isolare TB010 alla concentrazione testata. La mutazione Ser531Leu è stata rilevata correttamente nell'isolare TB053, pertanto TB010 non è stato testato a concentrazioni superiori.

Tabella 20: Inclusività di *M. tuberculosis*

Organismo MTB complex	ID ceppo
<i>Mycobacterium africanum</i>	ATCC® 25420
<i>Mycobacterium bovis</i>	ATCC TMC 407
<i>Mycobacterium canettii</i>	BCCM/ITM C02321
<i>Mycobacterium caprae</i> ^b	ATCC BAA-824D-2
<i>Mycobacterium microti</i>	ATCC 35782
<i>Mycobacterium pinnipedi</i> ^a	BCCM/ITM 2015-00021

^aLisati di cellule termali

^bDNA genomico

Sensibilità analitica

La sensibilità analitica (Limit of Detection, LoD, ossia limite di rilevazione) per il test BD MAX MDR-TB è stata determinata nel modo seguente: isolati di organismi di *M. tuberculosis* e *M. bovis* BCG (Bacillus Calmette-Guérin) sono stati preparati e quantificati prima dell'inclusione in questo studio. Gli organismi sono stati trasferiti a una provetta campione contenente già pellet di espettorato o espettorato trattato con STR che risultava pre-determinatamente negativo per tutti i bersagli rilevati dal test BD MAX MDR-TB.

Un LoD putativo è stato valutato per ciascun organismo testato con un minimo di 36 replicati per tipo di campione (espettorato o pellet di espettorato), che usavano 3 diversi lotti di produzione del test BD MAX MDR-TB. Il LoD per specifico organismo è stato confermato testando almeno 20 replicati ulteriori alla concentrazione di LoD stabilita. La sensibilità analitica (LoD) è definita come la concentrazione minima a cui ci si attende che una percentuale pari o maggiore al 95% di tutti i replicati risulti positiva (vedere la Tabella 21).

Tabella 21: Limite di rilevamento per BD MAX MDR-TB

Microrganismo (ceppo)	LoD dichiarato	Espettorato (CFU/ml)	Pellet espettorato (CFU/ml)
<i>M. bovis</i> (BCG)	MTBC	0,5	20
	Resistenza	3,75	
<i>M. tuberculosis</i> (H37Rv)	MTBC	0,25	
	Resistenza	6,0	

Specificità analitica (reattività crociata ed esclusività)

Il test BD MAX MDR-TB è stato eseguito su campioni contenenti specie filogeneticamente correlate e altri organismi (batteri, virus e lieviti) presumibilmente presenti nei campioni di espettorato. Le cellule batteriche e i lieviti sono stati testati in una provetta tampone per campioni a $\geq 1 \times 10^6$ cellule/ml o CFU/ml e *Chlamydia* a $>1 \times 10^6$ EB/ml, in espettorato umano trattato con STR. Le specie di virus, batteri o lieviti non facilmente acquisite sono state sottoposte ad analisi *in silico* con ciascun bersaglio del test MDR-TB. Complessivamente, sono stati testati 114 organismi che sono elencati nella Tabella 22. Gli organismi che sono stati sottoposti all'analisi *in silico* sono elencati nella Tabella 23. Tutti i ceppi batterici e i lieviti hanno prodotto risultati negativi con il test BD MAX MDR-TB.

Tabella 22: Risultati di specificità per BD MAX MDR-TB (batteri, lieviti e virus)

Microrganismo		
<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Escherichia coli</i> che produce CTX-M-15 ESBL	<i>Mycobacterium simiae</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Fuseobacterium nucleatum</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Mycobacterium szulgai</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Mycobacterium terrae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Mycobacterium triviale</i>
<i>Bordetella parapertussi</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Mycobacterium xenopi</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Mycobacterium ulcerans</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Neisseria mucosa</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Legionella micdadei</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Candida krusei</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Neisseria lactamica</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Neisseria sicca</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i> Serovar H	<i>Mycobacterium asiaticum</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycobacterium celatum</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	<i>Mycobacterium chelonae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	<i>Mycobacterium fortuitum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Mycobacterium gastri</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Mycobacterium gordonae</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Mycobacterium kansasii</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Mycobacterium phlei</i>	<i>Rhodococcus equi</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Mycobacterium genavense</i>	<i>Salmonella enterica</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Mycobacterium malmoense</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Mycobacterium marinum</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Mycobacterium mucogenicum</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus equinus</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	<i>Streptococcus vestibularis</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Weissella paramesenteroides</i>
<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

Microorganismo	
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Streptococcus parasanguinis</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Streptococcus criceti</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Streptococcus constellatus</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Streptococcus equi</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>

Tabella 23: Analisi con BD MAX MDR-TB *in silico*

Microorganismo	
Adenovirus	<i>Moraxella catarrhalis</i>
Virus dell'immunodeficienza umana	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Virus dell'influenza umana (tipo A)	<i>Mycobacterium abscessus</i>
Virus dell'influenza umana (tipo B)	<i>Mycobacterium flavescens</i>
Metapneumovirus umano	<i>Mycobacterium kumamotoense</i>
Virus parainfluenzale umano di tipo 1	<i>Mycobacterium leprae</i>
Virus parainfluenzale umano di tipo 2	<i>Mycobacterium obuense</i> ^a
Virus parainfluenzale umano di tipo 3	<i>M. shimoidei</i> ^a
Virus parainfluenzale umano di tipo 4	<i>Nocardia farcinica</i>
Virus della parotite	<i>Nocardia brasiliensis</i>
Virus respiratorio sinciziale	<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>
Rhinovirus	<i>Penicillium</i> spp.
Virus della rosolia	<i>Rhizopus</i> spp.
Virus del morbillo	<i>Scedosporium</i> spp.
Virus Varicella Zoster	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Streptomyces anulatus</i>
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	<i>Tsukamurella</i> spp.
<i>Histoplasma capsulatum</i>	

^a Anche i primer necessari per l'amplificazione del DNA bersaglio in *M. obuense* e *M. shimoidei* hanno diversi disallineamenti di coppie di basi, che riducono l'efficienza dell'amplificazione di questi obiettivi.

Sostanze interferenti

Sono state analizzate trentaquattro (34) sostanze biologiche e chimiche che possono essere occasionalmente presenti nei campioni di espettorato, al fine di valutare l'eventuale interferenza con il test BD MAX MDR-TB. Le sostanze sono state testate per i livelli descritti nella seguente Tabella 24, sia in presenza sia in assenza di *M. bovis* BCG a un LoD di 2x MTBC. Delle 34 sostanze testate, solo una sostanza, la mucina al 5%, ha dimostrato inibizione del test. Quando la mucina è stata diluita all'1,5% l'inibizione non è stata più osservata. Non sono state osservate altre interferenze segnalabili con altre sostanze testate (vedere la Tabella 24).

Tabella 24: Sostanze endogene ed esogene disponibili in commercio testate con il BD MAX MDR-TB

Sostanza	Risultato	Sostanza	Risultato
Lidocaina (12 µg/ml)	NI	Fenilefrina (50% v/v)	NI
Mupirocina (5% w/v)	NI	Ossimetazolina (20% v/v)	NI
Streptomina (25 µg/ml)	NI	Spray nasale al cloruro di sodio (100%)	NI
Zanamivir (10 mg/ml)	NI	NaCl (5% w/v)	NI
Sangue umano (40% v/v)	NI	Benzocaina (5% w/v)	NI
Acido gastrico (100%)	NI	Guaifenesin (5 mg/ml)	NI
DNA umano (1,0E+6 cellula/ml)	NI	Cloruro di cetilpiridinio (0,5%)	NI
Leucociti umani (100% buffy coat)	NI	Nicotina (4 µg/ml)	NI
Mucina (5%)	I ^a	Tobramicina (24 µg/ml)	NI
Listerine (20% v/v)	NI	Amoxicillina (75,2 µg/ml)	NI
Adrenalina (1 mg/ml)	NI	Levofloxacina (5 mg/ml)	NI
Tea Tree Oil (1% v/v)	NI	Pentamidina (300 ng/ml)	NI
Goldenseal (100%)	NI	Isoniazide (50 µg/ml)	NI

Sostanza	Risultato	Sostanza	Risultato
Albuterolo solfato (100 µg/ml)	NI	Rifampicina (120 µg/ml)	NI
Budesonide (12,8 µg/ml)	NI	Pirazinamide (500 µg/ml)	NI
Fluticasone (5 µg/ml)	NI	Etambutolo (60 µg/ml)	NI
Zicam (1 tampone/1,67 ml di campione di espettorato)	NI	Streptomycin (25 µg/ml)	NI

NI: nessuna Interferenza riferibile con il test BD MAX MDR-TB.

I: interferenza riferibile con il test BD MAX MDR-TB.

^a1,5% p/v di concentrazione massima alla quale non è stata osservata interferenza.

Infezione mista - Interferenza competitiva

Lo studio relativo all'infezione mista/interferenza competitiva era inteso a valutare la capacità del test BD MAX MDR-TB di rilevare risultati con bassa positività in presenza di organismi non-mycobacterium tuberculosis (NTM) che possono essere presenti nell'espettorato umano. Quattro (4) organismi sono stati testati a una concentrazione elevata (1×10^6 cellule/ml di espettorato) miscelati con *M. bovis* BCG a un LoD di 2x MTBC. Gli organismi testati sono stati *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii* e *M. malmoense*. Il MTBC è stato correttamente rilevato dal test BD MAX MDR-TB quando combinato con le preparazioni di infezioni miste simulate con concentrazioni a elevato bersaglio.

Precisione

La precisione intra-laboratorio per il test BD MAX MDR-TB è stata studiata presso un (1) sito. I test sono stati condotti nell'arco di 12 giorni, con 2 analisi al giorno (ciascuna da parte di 2 operatori), per un totale di 24 analisi. Ogni pannello conteneva un ceppo di *M. tuberculosis* wild type (sensibile a RIF e INH) ed è stato trattato in una matrice di espettorato non trattata. Le seguenti concentrazioni sono state utilizzate come livelli addizionali per l'organismo bersaglio contenuto in ciascun membro del pannello:

- Resistenza moderatamente positiva (MP): ≥ 2 e $\leq 3x$ LoD
- MTB moderatamente positivo (MP): ≥ 2 e $\leq 3x$ LoD
- Resistenza a bassa positività (LP): ≥ 1 e $< 2x$ LoD
- MTB a bassa positività (LP): ≥ 1 e $< 2x$ LoD
- Veri negativi (TN): campione negativo (senza bersaglio)

I risultati dello studio di precisione per campioni per TN, resistenza MP, MTB MP e resistenza MP hanno dimostrato una concordanza del 100% (Tabella 25). I risultati dello studio di precisione per i campioni per la resistenza LP hanno dimostrato una concordanza del 98,6%. Tutti i risultati inizialmente non refertabili, eccetto uno, sono stati ripetuti in conformità alle istruzioni del foglietto illustrativo. I campioni che inizialmente hanno dato un risultato <MTB Low POS> (MTB a bassa positività) hanno dato i risultati attesi alla ripetizione del test.

Tabella 25: Risultati dello studio di precisione utilizzando un lotto del BD MAX MDR-TB

Categoria	Concordanza con i risultati attesi	
	<i>M. tuberculosis</i> (IC 95%)	Resistenza (IC 95%)
MP	100% 72/72 (94,9–100,0)	100% 72/72 (94,9–100,0)
LP	100% 72/72 (94,9–100,0)	98,6% 70/71 (92,4–99,8)
TN ^a	100% 72/72 (94,9–100,0)	100% 72/72 (94,9–100,0)

^aPer le categorie Vere negative (TN), la concordanza riportata indica la percentuale dei risultati negativi.

Riproducibilità

Lo riproducibilità tra strumenti è stata condotta utilizzando gli stessi pannelli, come descritto per lo studio di precisione di cui sopra. I campioni di ciascuna categoria sono stati testati tre volte, nell'arco di cinque (5) diversi giorni da due (2) diversi tecnici, su tre (3) diversi strumenti e usando un (1) lotto di reagenti.

I valori percentuali della concordanza complessiva per la riproducibilità tra strumenti sono stati pari al 100% per MTB MP, MTB LP, resistenza MP e TN. I valori percentuali della concordanza complessiva stati pari al 97,8% per la resistenza LP (Tabella 26). La riproducibilità quantitativa tra centri e per categoria di campione è illustrata di seguito nella Tabella 27.

Tabella 26: Risultati dello studio di riproducibilità tra strumenti utilizzando un lotto del test BD MAX MDR-TB

Categoria	Strumento 1	Strumento 2	Strumento 3	Totale	
				Concordanza	IC 95%
TN	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)	(95,9–100,0)
MTB LP	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)	(95,9–100,0)
Resistenza LP	100% (30/30)	96,6% (28/29)	96,7% (29/30)	97,8% (87/89)	(92,2–99,4)
MTB MP	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)	(95,9–100,0)
Resistenza MP	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)	(95,9–100,0)

Tabella 27: Risultati complessivi dello studio di riproducibilità tra strumenti utilizzando il punteggio CT numerico sottostante

Variabile	Categoria	Concordanza/N	Media	Intra-analisi		Inter-analisi per giorno		Tra giorni		Tra strumenti		Totale	
				SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Punteggio ct. (MTB1)	MP	59/90	38,6	0,81	2,1	0,00	0,0	0,21	0,6	0,00	0,0	0,84	2,2
	LP	52/90	38,5	0,88	2,3	0,38	1,0	0,00	0,0	0,18	0,5	0,98	2,5
Punteggio ct. (MTB2)	MP	90/90	35,8	0,70	1,9	0,00	0,0	0,00	0,0	0,12	0,3	0,71	2,0
	LP	90/90	36,1	0,74	2,1	0,00	0,0	0,06	0,2	0,29	0,8	0,80	2,2

NOTA: i valori mostrati sono quelli ottenuti per il bersaglio nei campioni che hanno dato un risultato di MTB rilevato.

Per lo studio di riproducibilità tra lotti, sono stati analizzati tre replicati di campioni in ciascuna categoria con tre lotti di reagenti su un unico strumento, eseguendo 2 analisi al giorno per cinque giorni. I pannelli utilizzati sono stati gli stessi descritti nella sezione Precisione, riportata in precedenza. I risultati dei 5 giorni di studio tra strumenti sono stati utilizzati per produrre i dati per un lotto di reagenti per lo studio tra lotti. Per quanto riguarda la riproducibilità fra lotti, i valori percentuali della concordanza complessiva sono stati rispettivamente pari al 98,9% per MTB MP, MTB LP e resistenza MP, pari al 96,6% per resistenza MP e pari al 100% per TN (Tabella 28).

Tabella 28: Risultati dello studio di riproducibilità tra lotti utilizzando tre lotti del test BD MAX MDR-TB

Categoria	Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	Totale	
				Concordanza	IC 95%
TN	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)	(95,9%, 100%)
MTB LP	100% (30/30)	100% (30/30)	96,7% (29/30)	98,9% (89/90)	(94,0%, 99,8%)
Resistenza LP	96,6% (28/29)	96,7% (29/30)	96,7% (29/30)	96,6% (86/89)	(90,6%, 98,8%)
MTB MP	100% (30/30)	100% (30/30)	96,7% (29/30)	98,9% (89/90)	(94,0%, 99,8%)
Resistenza MP	100% (30/30)	96,7% (29/30)	100% (30/30)	98,9% (89/90)	(94,0%, 99,8%)

Contaminazione residua-Contaminazione crociata

È stato condotto uno studio per ricercare il residuo intra-analisi e la contaminazione crociata inter-analisi durante il processo di campioni con carica batterica elevata di MTBC nel test BD MAX MDR-TB. Il pannello positivo consisteva di organismi MTBC addizionati a espettorato trattato con STR a una concentrazione di 1×10^6 CFU/ml. I componenti negativi del pannello non contenevano organismi del MTBC. Dodici (12) replicati del componente altamente positivo del pannello e 12 replicati del componente negativo del pannello sono stati analizzati in ciascuna analisi alternando campioni negativi e positivi. Un totale di 9 analisi contenevano 24 campioni, ciascuno dei quali veniva analizzato su più strumenti. Dei 108 campioni negativi analizzati in questo studio, un campione ha prodotto un risultato positivo.

BIBLIOGRAFIA

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2017. Geneva: WHO, 2017.
2. World Health Organization. Framework of Indicators and Targets for Laboratory Strengthening under the End TB Strategy Geneva: WHO, 2016.
3. Pai M, Schito M. *Tuberculosis* diagnostics in 2015: landscape, priorities, needs, and prospects. J Infect Dis 2015; 211 Suppl 2:S21-8.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to the latest edition).
5. Centers for Disease Control and Prevention, and National Institutes of Health. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Chosewood L.C. and Wislon D.E. (eds) (2009). HHS Publication No. (CDC) 21–1112.
6. Leber, Amy L. (ed.) 2016. Clinical Microbiology Handbook. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Kent PT, Kubica GP 1985. Public Health Mycobacteriology – A Guide for the Level III Laboratory, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546
8. BD MAX System User's Manual (refer to the latest version) BD Life Sciences, Sparks, MD 21152 USA.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline. Document MM3 (refer to the latest edition).
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test performance; Approved Guideline, Document EP12 (refer to the latest edition).

Cronologia delle modifiche

Revisione	Data	Riassunto delle modifiche
(08)	2019-06	R/S aggiornato per ID ceppo TB112 nella Tabella 19. Espettorato aggiornato (CFU/ml) Limite di rilevazione per <i>M. tuberculosis</i> (H37Rv) MTBC nella Tabella 21.
(09)	2020-05	Istruzioni stampate convertite per l'uso in formato elettronico e ulteriori informazioni per l'accesso per ottenere il documento da bd.com/e-labeling . Chiarimento dell'uso previsto. Aggiunta di ulteriori informazioni alla sezione Reagenti e materiali. Aggiornamento delle figure 1, 2 e 3. Aggiunta della limitazione per i pazienti pediatrici. Aggiornamento e chiarimento della sezione Caratteristiche prestazionali. Aggiornamento degli indirizzi dello sponsor australiano e neozelandese.
(10)	2020-11	Aggiornata la sezione Avvertenze e precauzioni con informazioni GHS. Le tabelle delle prestazioni sono state riviste in seguito al miglioramento del rilevamento della resistenza RIF applicato al software. Questa modifica ha determinato un aggiornamento dei numeri di rilevamento RIF nelle tabelle 2, 3, 5, 8, 9, 15, 16, 19, 25, 26 e 28, nonché in relazione alle stesse.

Alcuni simboli elencati di seguito potrebbero non essere applicabili a questo prodotto.



Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvođač / Gyártó / Fabricante / Atқарушы / 제조업체 / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirker / Producent / Producător / Производител / Výrobca / Proizvođač / Tillverkare / Üretici / Виробник / 生产厂商



Use by / Исполняйте до / Spotføjte do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / 사용 기한 / Uputrijebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дейні пайдаланува / Naudokite iki / Izljetot līdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Исползовать до / Použite do / Uputrebiti do / Använd före / Son kulanma tarihi / Використати доліне / 使用截止日期

YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)
 ГТГГ-ММ-ДД / ГТГГ-ММ (ММ = края на месеца)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutning af måned)
 JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende)
 EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fin del mes)
 AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp)
 AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)
 ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja)
 AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese)
 ЖӨЖӨЖ-АА-КК / ЖӨЖӨЖ-АА / (АА = айдың соңы)
 YYYY-MM-DD/YYYY-MM (MM = 월말)
 MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mēnesio pabaiga)
 GGGG-MM-DD/GGGG-MM (MM = mēneša beigas)
 JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutten av måneden)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês)
 AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii)
 ГТГГ-ММ-ДД / ГТГГ-ММ (ММ = конец месяца)
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutet av månaden)
 YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu)
 PPPP-MM-DD / PPPP-MM (MM = кінець місяця)
 YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = 月末)



Catalog number / Каталоген номер / Katalogové číslo / Katalognummer / Αριθμός καταλόγου / Número de catálogo / Katalooginumber / Numéro catalogue / Kataloški broj / Katalogsszám / Numero di catalogo / Каталог номери / 카탈로그 번호 / Katalog / numeris / Kataloga numurs / Catalogus nummer / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по каталогу / Katalogové číslo / Kataloški broj / Katalog numarası / Номер за каталогом / 目录号



Authorized Representative in the European Community / Оторизирани представител в Европейската общност / Autorizovaný zástupce pro Evropském společenství / Autoriseret repræsentant / De Europæiske Fællesskaber / Autoriserter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Voilutat esindaja Euroopa Nõukogus / Représentant autorisé pour la Communauté européenne / Autorizirani predstavnik u Europskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségen / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / 유럽 공동체의 위임 대표 / Įgaliojatis atstovas Europos Bendrijoje / Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap / Autoriseret representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo we Wspólnocie Europejskiej / Reprezentante autorizado na Comunidade Europeia / Reprezentantul autorizat pentru Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейской сообществе / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Autorizovano predstavništvo u Europskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen / Автура Topluluğu Yetkili Temsilcisi / Уповноважений представник у країнах ЄС / 欧洲共同体授权代表



In Vitro Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика ин витро / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medizinisches in-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In vitro diagnostika meditsinaparatuur / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinska romagala za In Vitro Dijagnostiku / In vitro diagnostikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica in vitro / Жасанды жағдайда жұргізетін медициналық диагностика аспабы / In Vitro Diagnostic 의료 기기 / In vitro diagnostikos prietaisais / Medicīnas ierīces, ko lieto in vitro diagnostikā / Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispositiv medical pentru diagnostic in vitro / Медицинский прибор для диагностики ин витро / Medicinska rombicka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Medicinteknik produkt för in vitro-diagnostik / In Vitro Diagnostik Tibbi Cihaz / Медицинский прибор для диагностики ин витро / 体外诊断医疗设备



Temperature limitation / Температури ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμό θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperaturi pirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Температураны шекре / 온도 제한 / Laikymo temperatūra / Temperatūras ierobežojumi / Temperaturlimit / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limites de temperatura / Organichenie temperatury / Ograničenje teploty / Ograničenje temperature / Temperaturgräns / Sıcaklık sınırlaması / Обмеження температури / 温度限制



Batch Code (Lot) / Код на партидата / Kód (číslo) šarže / Batch-kode (lot) / Batch-Code (Charge) / Κωδικός παρτίδας (παρτίδα) / Código de lote (lote) / Partii kod / Numéro de lot / Lot (kod) / Tétel száma (Lot) / Codice batch (lotto) / Топтама коды / Топтама коды / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot number / Batch-kode (parti) / Kod partii (seria) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (лот) / Kód série (šarža) / Kod serije / Partinummer (Lot) / Part Kodu (Lot) / Код партії / 批号 (亚批)



Contains sufficient for <n> tests / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkelig til <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις / Contenido suficiente para <n> pruebas / Küllaldane <n> testide jaoks / Contenu suffisant pour <n> tests / Sadržaj za <n> testova / <n> teszthez elegendő / Contenido suficiente per <n> test / <n> testleri үшін жеткілікті / <n> 테스트가 충분한 포함됨 / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Satur pietiekami <n> pārbaudēm / Inhoud voldoende voor "n" testen / Innholder tilstrekkelig til <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Conteúdo suficiente para <n> testes / Conținut suficient pentru <n> teste / Достаточно для <n> тестов(a) / Obsah wystaci na <n> testov / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Innehåller tillräckligt för <n> analyser / <n> test için yeterli miktarda içerir / Вистачить для аналізів: <n> / 足够进行 <n> 次检测



Consult Instructions for Use / Направете справка в инструкциите за употреба / Prostudujte pokyny k použití / Se brugsanvisningen / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Consultar las instrucciones de uso / Lugeda kasutusjuhendit / Consulter la notice d'emploi / Koristi upute za upotrebu / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Пайдалану нұсқаулығымен танысын алыңыз / 사용 지침 참조 / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Skatīt lietošanas pamācību / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consultar as instruções de utilização / Consultati instructiunile de utilizare / См. руководство по эксплуатации / Pozri Pokyny na používání / Pogledajte uputstvo za upotrebu / Se bruksanvisningen / Kullanım Talimatları na başvurun / Див. інструкції з використання / 请参阅使用说明



Do not reuse / Не използвайте отново / Nepoužívejte opakovaně / Ikke til genbrug / Nicht wiederverwenden / Μην επαναχρησιμοποιείτε / No reutilizar / Mitte kasutada korduvalt / Ne pas réutiliser / Ne koristiti ponovo / Egyszer használatos / Non riutilizzare / Пайдаланбаңыз / 재사용 금지 / Tik vienkartiniam naudojimui / Nelietot atkārtoti / Niet opnieuw gebruiken / Kun til engangsbruk / Nie stosować powtórnie / Não reutilize / Nu refolosiți / Nu refolosiți / He использовать повторно / Nepoužívejte opakovane / Ne upotrebljavajte ponovo / Får ej återanvändas / Tekrar kullannamain / Не використовувати повторно / 请勿重复使用



Serial number / Серийн номер / Sériové číslo / Seriennummer / Seriennummer / Σειριακός αριθμός / N° de serie / Seerianumber / Numéro de série / Serijski broj / Sorozatszám / Numero di serie / Топтамалық нөмірі / 일련 번호 / Serijos numeris / Sérijas numurs / Serie nummer / Numer serijny / Número de série / Număr de serie / Серийный номер / Seri numarası / Номер серії / 序列号



For IVD Performance evaluation only / Само за оценка качеството на работа на IVD / Pouze pro vyhodnocení výkonu IVD / Kun til evaluering af IVD ydelse / Nur für IVD-Leistungsbewertungszwecke / Μόνο για αξιολόγηση απόδοσης IVD / Solo para la evaluación del rendimiento en diagnóstico in vitro / Ainult IVD seadme hindamiseks / Réservé à l'évaluation des performances IVD / Samo u znanstvene svrhe za In Vitro Dijagnostiku / Kizárólag in vitro diagnosztikához / Solo per valutazione delle prestazioni IVD / Жасанды жағдайда «пробирка үшін» диагностикада тек жұмысты бағалау үшін / IVD 성능 평가에 대해서만 사용 / Tik IVD prietaisų veikimo charakteristikoms tikrinti / Vientigi IVD darbišas novērtēšanai / Uitsluitend voor doeltreffendheidsonderzoek / Kun for evaluering av IVD-ytelse / Tylko do oceny wydajności IVD / Uso exclusivo para avaliação de IVD / Numai pentru evaluarea performanței IVD / Только для оценки качества диагностики ин витро / Určenie iba na diagnostiku in vitro / Samo za procenu učinka u in vitro dijagnostici / Endast för utvärdering av diagnostisk användning in vitro / Yalnızca IVD Performans değerlendirmesi için / Тільки для оцінювання якості діагностики in vitro / 仅限 IVD 性能评估



Lower limit of temperature / Долен лимит на температурата / Dolní hranice teploty / Nedre temperaturgrænse / Temperaturuntergrenze / Κατώτερο όριο θερμοκρασίας / Limite inferior de temperatura / Alumine temperatuuripiir / Limite inférieure de température / Najnižja dovoljena temperatura / Alsó hőmérsékleti határ / Limite inferiore di temperatura / Температураны төменгі рұқсат шеі / 하한 온도 / Žemiausia laikymo temperatūra / Temperatūras zemākā robeža / Laagste temperatuurlimiet / Nedre temperaturgrænse / Dolna granica temperatury / Limiță minimă de temperatura / Limiță minimă de temperatură / Нижний предел температуры / Spodná hranica teploty / Donja granica temperature / Nedre temperaturgräns / Sıcaklık alt sınırı / Мінімальна температура / 温度下限

	CONTROL	Control / Контроль / Kontrola / Kontrol / Kontrolle / Μέτρησης / Kontroll / Contrôle / Controllo / Бақылау / 컨트롤 / Kontrolé / Kontrolle / Controle / Controllo / Контроль / kontroll / Kontrolle / 对照
	CONTROL+	Positive control / Положительный контроль / Pozitívna kontrola / Positiv kontrol / Positive Kontrolle / Θετικός μέτρησης / Control positivo / Positiivne kontroll / Contrôle positif / Pozitívna kontrola / Pozitív kontrol / Controllo positivo / Оң бақылау / 양성 컨트롤 / Teigiama kontrolė / Pozitívna kontrola / Positieve controle / Kontrola dodatna / Controllo positivo / Control pozitiv / Положительный контроль / Pozitif kontrol / Позитивный контроль / 阳性对照试剂
	CONTROL-	Negative control / Отрицательный контроль / Negatívna kontrola / Negativ kontrol / Negative Kontrolle / Αρνητικός μέτρησης / Control negativo / Negatiivne kontroll / Contrôle négatif / Negatívna kontrola / Negatív kontrol / Controllo negativo / Негативтік бақылау / 음성 컨트롤 / Neigiama kontrolė / Negatívna kontrola / Negatieve controle / Kontrola ujemna / Controllo negativo / Control negativ / Отрицательный контроль / Negatif kontrol / Негативный контроль / 阴性对照试剂
	STERILE EEO	Method of sterilization: ethylene oxide / Метод на стерилизация: етиленов оксид / Způsob sterilizace: etylenoxid / Steriliseringmetode: ethylenoxid / Sterilisationsmethode: ethylenoxid / Μέθοδος αποστείρωσης: αιθυλενοξείδιο / Método de esterilización: óxido de etileno / Steriliseerimismeetod: etüleenoksiid / Méthode de stérilisation: oxyde d'éthylène / Metoda sterilizacije: etilen oksid / Sterilizálás módszere: etilén-oxid / Metodo di sterilizzazione: ossido di etilene / Стерилизация әдісі – этилен тотығы / 소독 방법: 에틸렌옥사이드 / Sterilizavimo būdas: etileno oksidas / Sterilizēšanas metode: etilēnoksīds / Gesteriliseerd met behulp van ethyleenoxide / Steriliseringmetode: etylenoksid / Metoda sterylizacji: tlenek etylu / Método de esterilização: óxido de etileno / Metodă de sterilizare: oxid de etilenă / Метод стерилизации: этиленоксид / Metodá sterilizácie: etýlénoxid / Metoda sterilizacije: etilen oksid / Steriliseringmetod: etenoxid / Sterilizasyon yöntemi: etilen oksit / Метод стерилизації: этиленоксидом / 灭菌方法: 环氧乙烷
	STERILE R	Méthod of sterilization: irradiation / Метод на стерилизация: ирадиация / Způsob sterilizace: záření / Steriliseringmetode: bestråling / Sterilisationsmethode: Bestrahlung / Μέθοδος αποστείρωσης: ακτινοβολία / Método de esterilización: irradiación / Steriliseerimismeetod: kiirgus / Méthode de stérilisation: irradiation / Metoda sterilizacije: zračenje / Sterilizálás módszere: besugárzás / Metodo di sterilizzazione: irradiazione / Sterilizация әдісі – сәулә тәсіры / Sterilizavimo būdas: radiacija / Sterilizēšanas metode: apstarošana / Gesteriliseerd met behulp van bestraling / Steriliseringmetode: bestråling / Metoda sterylizacji: napromienianie / Método de esterilização: irradiação / Metodă de sterilizare: iradiere / Метод стерилизации: облучение / Metodá sterilizácie: ožiarenie / Metoda sterilizacije: ozračavanje / Steriliseringmetod: stråling / Sterilizasyon yöntemi: Irradyasyon / Метод стерилизації: опроміненням / 灭菌方法: 辐照
	Biological Risks	Biological Risks / Биологични рискове / Biologická rizika / Biologisk fare / Biogefährdung / Βιολογικοί κίνδυνοι / Riesgos biológicos / Bioloogiesd riskid / Risques biologiques / Biološki rizik / Biologiallag veszélyes / Rischio biologico / Биологиялык төуөкөлдөр / 생물학적 위험 / Biologinis pavojus / Biologiskie risici / Biologisch risico / Biologisk risiko / Zagrożenia biologiczne / Perigo biológico / Riscuri biologice / Биологическая опасность / Biologické riziko / Biološki rizici / Biologisk risk / Biyolojik Riskler / Биологична небезпека / 生物学风险
	Caution	Caution, consult accompanying documents / Внимание, направте справка в придружаващите документи / Pozor! Prostudujte si přiloženou dokumentaci! / Forsigtig, se ledsagende dokumenter / Achtung, Begleitdokumente beachten / Προσοχή, συμπληρωθείτε τα συνοδευτικά έγγραφα / Precaución, consultar la documentación adjunta / Ettevaatust! Lugeka kaasnevat dokumentatsiooni / Attention, consulter les documents joints / Urozorenje, koristi prateću dokumentaciju / Figyelem! Olvassa el a mellékelt tájékoztatót / Attenzione: consultare la documentazione allegata / Абайлаңыз, тиісті құжаттармен танысыңыз / 주의, 동봉된 설명서 참조 / Demesio, žiūrėkite priedamą dokumentaciją / Piesardzība, skatīt pravadokumentus / Voorzichtig, raadpleeg bijgevoegde documenten / Forsiktig, se vedlagt dokumentasjon / Należy zapoznać się z dołączonymi dokumentami / Cuidado, consulte a documentação fornecida / Atenție, consultați documentele însoțitoare / Внимание: см. прилагаемую документацию / Vystraha, pozri sprievodné dokumenty / Pažnja! Pogledajte priložena dokumenta / Obs! Se medföljande dokumentation / Dikkat, birlikte verilen belgelere başvurun / Увага: див. супутню документацию / 小心, 请参阅附带文档。
	Upper limit of temperature	Upper limit of temperature / Горен лимит на температурата / Horní hranice teploty / Øvre temperaturgrænse / Temperaturobergrenze / Ανώτερο όριο θερμοκρασίας / Limite superior de temperatura / Ülemine temperatuuripiir / Limite supérieure de température / Gornja dozvoljena temperatura / Felső hőmérsékleti határ / Limite superiore di temperatura / Температураның руқсат етілген жоғарғы шегі / 상한 온도 / Aukščiausia laikymo temperatūra / Augšējā temperatūras robeža / Hoogste temperatuurlimiet / Øvre temperaturgrænse / Górná granica temperatury / Limite máximo de temperatura / Limită maximă de temperatură / Верхний предел температуры / Horná hranica teploty / Gornja granica temperature / Øvre temperaturgräns / Sıcaklık üst sınırı / Максимальна температура / 温度上限
	Keep dry	Keep dry / Пазете сухо / Skladujte v suchém prostredí / Orbevares tørt / Trocklagern / Φυλάξτε το στεγνό / Mantener seco / Hoida kuivana / Conserver au sec / Držati na suhom / Száraz helyen tartandó / Tenere all'asciutto / Құрғақ күйінде ұста / 건조 상태 유지 / Laikykite sausiai / Uzglabāt sausu / Droog houden / Holdes tørt / Przechowywać w stanie suchym / Manter seco / A se feri de umezeală / Не допускать попадания влаги / Uchovávejte v suchu / Držite na suvom mestu / Förvaras tørt / Kuru bir şekilde muhafaza edin / Берегти від вологи / 请保持干燥
	Collection time	Collection time / Време на събиране / Čas odběru / Orsamlingsstidspunkt / Entnahmezeit / Ώρα συλλογής / Hora de recogida / Kogumisaeg / Heure de prélèvement / Sati prikupljanja / Mintavétel időpontja / Ora di raccolta / Жинау уақыты / 수집 시간 / Paėmimo laikas / Savākšanas laiks / Verzameltijd / Tid prøvetaking / Godzina pobrania / Hora de coleta / Ora colectării / Время сбора / Doba odboru / Vreme prikupljanja / Uppsamlingsstid / Toplama zamanı / Час забору / 采集时间
	Peel	Peel / Обелете / Otevřete zde / Åbn / Abziehen / Αποκολλήστε / Desprender / Koorida / Décoller / Otvoriti skini / Húzza le / Staccare / Ψητιρί қабатын алып таста / 벗기다 / Pliești ăia / Atfimen / Schillen / Trekk av / Oderwać / Destacar / Se dezipește / Отклеить / Odtrhnite / Oljušiti / Dra isar / Ayırma / Відклеїти / 撕下
	Perforation	Perforation / Перфорация / Perforace / Perforering / Διάτρηση / Perforación / Perforatsioon / Perforacija / Perforálás / Perforazione / Tecik tetsy / 절취선 / Perforacija / Perforăcija / Perforatie / Perforacja / Perforação / Perforare / Перфорация / Perforacia / Perforasyon / Перфорация / 穿孔
	Do not use if package damaged	Do not use if package damaged / Не използвайте, ако опаковката е повредена / Ne pouzívajte, je-li obal poškozený / Må ikke anvendes hvis emballagen er beskadiget / Inhal beschädigter Packung nicht verwenden / Μη χρησιμοποιείτε εάν η συσκευασία έχει υποστεί ζημιό. / No usar si el paquete está dañado / Mitte kasutada, kui pakend on kahjustatud / Ne pas l'utiliser si l'emballage est endommagé / Ne koristiti ako je oštećeno pakiranje / Ne használni, ha a csomagolás sérült / Non usare se la confezione è danneggiata / Erep paket buzyllan bolca, пайдаланба / 패키지가 손상된 경우 사용 금지 / Jei pakuotė pažeista, nenaudoti / Nelietot, ja iepakojums bojāts / Niet gebruiken indien de verpakking beschadigd is / Må ikke brukes hvis pakke er skadet / Nie używać, jeśli opakowanie jest uszkodzone / Não usar se a embalagem estiver danificada / A nu se folosi dacă pachetul este deteriorat / Не использовать при повреждении упаковки / Nepoužívať, ak je obal poškodený / Ne koristite ako je pakovanje oštećeno / Använd ej om förpackningen är skadad / Ambalaj hasar görmüşse kullanmayın / Не використовувати за пошкодженої упаковки / 如果包装破损, 请勿使用
	Keep away from heat	Keep away from heat / Пазете от топлина / Nevystavujte přilišnému teplu / Må ikke udsættes for varme / Vor Wärme schützen / Κρατήστε το μακριά από τη θερμότητα / Mantener alejado de fuentes de calor / Hoida eemal valgusest / Protéger de la chaleur / Držati dalje od izvora topline / Övja a melegtől / Tenere lontano dal calore / Salpın herpede sacğa / 열을 피해야 함 / Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių / Sargat no karstuma / Beschermen tegen warmte / Må ikke utsettes for varme / Przechowywać z dala od źródeł ciepła / Manter ao abrigo do calor / A se feri de căldură / He nagrevate / Uchovávejte mimo zdroja tepla / Držite dalje od toplote / Får ej utsättas för värme / Isidan uzak tutun / Берегти від дрі тепла / 请远离热源
	Cut	Cut / Срежете / Odstrhňte / Klip / Schneiden / Κόψτε / Cortar / Lõigata / Découper / Rezi / Váγια ki / Tagliare / Keciңiz / 잘라내기 / Kirpti / Nogriet / Knippen / Kutt / Odciać / Cortar / Decupar / Отрезать / Odstrhните / Iseći / Klipp / Kesme / Pozřizati / 剪下
	Collection date	Collection date / Дата на събиране / Datum odběru / Orsamlingsdato / Entnahmedatum / Ημερομηνία συλλογής / Fecha de recogida / Kogumiskuupäev / Date de prélèvement / Dani prikupljanja / Mintavétel dátuma / Data di raccolta / Жинаған тізбекіні / 수집 날짜 / Paėmimo data / Savākšanas datums / Verzameldatum / Date prøvetaking / Godzina pobrania / Data de coleta / Data colectării / Время сбора / Doba odboru / Vreme prikupljanja / Uppsamlingsdato / Toplama tarihi / Дата забору / 采集日期
	µL test	µL test / µL тест / µL Test / µL εξέταση / µL prueba / µL tesz / µL 테스트 / мкл/тест / µL tyrimas / µL pārbaude / µL teste / мкл/анализ / µL/检测
	Keep away from light	Keep away from light / Пазете от светлина / Nevystavujte svétlu / Må ikke udsættes for lys / Vor Licht schützen / Κρατήστε το μακριά από το φως / Mantener alejado de la luz / Hoida eemal valgusest / Conserver à l'abri de la lumière / Držati dalje od svetla / Fény nem érheti / Tenere al riparo dalla luce / Қараңғыланған жерде ұста / 빛을 피해야 함 / Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių / Sargat no gaismas / Niet blootstellen aan zonlicht / Må ikke utsettes for lys / Przechowywać z dala od źródeł światła / Manter ao abrigo da luz / Ferți de lumină / Хранить в темноте / Uchovávejte mimo dosahu svetla / Držite dalje od svetlosti / Får ej utsättas för ljus / Išiktan uzak tutun / Берегти від дрі світла / 请远离光线
	H₂ Hydrogen gas generated	Hydrogen gas generated / Образуван е водород газ / Možnost úniku plyného vodíku / Frembringer hydrogengas / Wasserstoffgas erzeugt / Δημιουργία αερίου υδρογόνου / Producción de gas de hidrógeno / Vesinikigaasi tekitatud / Produit de l'hydrogène gazeux / Sadrží hydrogén vodík / Hidrogén gázt felejt / Produzione di gas idrogeno / Газетекес сутери пайда болды / 수소 가스 생성됨 / Išskiria vandenilio dujas / Rodas idejradis / Waterstofgas gegenereerd / Hydrogengas generert / Powoduje powstawanie wodoru / Produção de gás de hidrogénio / Generare gaz de hidrogen / Выделение водорода / Vyrobené použitím vodíka / Oslobađa se vodonik / Genererad vätgas / Açığa çıkan hidrojen gazı / Реакция з виділенням водню / 会产生氢气
	Patient ID number	Patient ID number / ИД номер на пациента / ID pacienta / Patientens ID-nummer / Patienten-ID / Αριθμός αναγνώρισης ασθενούς / Número de ID del paciente / Patsiendi ID / No d'identification du patient / Identifikacijski broj pacijenta / Beteg azonosító száma / Numero ID paziente / Пациенттің идентификациялық нөмірі / 환자 ID 번호 / Paciento identifikavimo numeris / Pacienta ID numurs / Identificatienummer van de patiënt / Patientens ID-nummer / Numer ID pacjenta / Número da ID do doente / Număr ID pacient / Идентификационный номер пациента / Identifikačné číslo pacienta / ID broj pacijenta / Patientnummer / Hasta kimlik numarasi / Идентификатор пациента / 患者标识号
	Fragile	Fragile, Handle with Care / Чупливо, Работете с необходимото внимание. / Křehké. Při manipulaci postupujte opatrně. / Forsiktig, kan gå i stykker. / Zerbrechlich, vorsichtig handhaben. / Ευθραστο. Χειριστείτε το με προσοχή. / Frágil. Manipular con cuidado. / Otn, käsitsesge ettevaatlikult. / Fragile, Manipuler avec précaution. / Lomljivo, rukujte pažljivo. / Törékeny! Óvatosan kezelendő. / Fragile, maneggiare con cura. / Synnysh, abaylan pайдalanьңыз. / 조심 깨지기 쉬운 처리 / Trapu, eliktes atsgariai. / Trausis; rikoltes uzmanigi / Breekbaar, voorzichtig behandelen. / Ømtålig, håndter forsigtig. / Krucha zawartość, przenosić ostrożnie. / Frágil, Manuseie con Cuidado. / Frágil, manipulat si atenție. / Хрупкое! Обращаться с осторожностью. / Křehké, vyžaduje sa opatrná manipulácia. / Lomljivo - rukujte pažljivo. / Bräckligt. Hantera försiktigt. / Kolay Kırılır, Dikkatli Taşıyın. / Тендітна, звертатися з обережністю / 易碎, 小心轻放

 bd.com/e-labeling



Assistenza e supporto tecnico: rivolgersi al rappresentante locale BD o visitare il sito bd.com.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, Maryland 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

Australian Sponsor:

Becton Dickinson Pty Ltd.
66 Waterloo Road
Macquarie Park NSW 2113
Australia

New Zealand Sponsor:

Becton Dickinson Limited
14B George Bourke Drive
Mt. Wellington Auckland 1060
New Zealand

BD, the BD Logo, BBL, MAX, MGIT, and MycoPrep are trademarks of Becton, Dickinson and Company or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. © 2020 BD. All rights reserved.