

Za *in vitro* dijagnostiku

Za upotrebu sa sustavom BD MAX™ System

P0228(10)

2020-11

Hrvatski

**NAMJENA**

BD MAX™ Multi Drug Resistant Tuberculosis (MDR-TB) assay (analiza za tuberkulozu rezistentnu na više vrsta lijekova (MDR-TB) BD MAX), koja se izvodi u sustavu BD MAX, automatizirani je kvalitativni *in vitro* dijagnostički test za izravno otkrivanje DNK-a kompleksa *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) u neobrađenom sputumu ili u koncentriranim sedimentima sputuma koji su pripremljeni od induciranog ili iskašljanog sputuma. U uzorcima u kojima se DNK MTBC-a otkrije, analiza BD MAX MDR-TB otkriva i mutacije na genu *rpoB* koji je povezan s rezistencijom na rifampicin, kao i mutacije na genu *katG* te u promotorskoj regiji *inhA*, koji su povezani s rezistencijom na izoniazid.

Test koristi lančanu reakciju polimerazom (PCR) u stvarnom vremenu za umnožavanje određenih ciljeva DNK i fluorogeničnih hibridizacijskih proba specifičnih za cilj za otkrivanje DNK MTBC-a, kao i DNK povezanog s mutacijama na genima *rpoB* i *katG* te u promotorskoj regiji *inhA*, koji su povezani s tuberkulozom rezistentnom na više vrsta lijekova.

Analiza BD MAX MDR-TB namijenjena je za upotrebu s uzorcima pacijenata za koje postoji klinička sumnja na tuberkulozu (TB) i koji nisu primili terapiju protiv tuberkuloze ili su je primali manje od tri dana tijekom proteklih šest mjeseci. Taj test je namijenjen pomoći u dijagnostici plućne tuberkuloze kada se koristi zajedno s kliničkim i drugim laboratorijskim nalazima.

SAŽETAK I OBJAŠNJENJE POSTUPKA

Tuberkuloza (TB) je infektivna bolest koju uzrokuju vrste kompleksa *M. tuberculosis* (MTBC) i ostaje vodeći svjetski zdravstveni problem koji prema procjenama uzrokuje 10,4 milijuna slučajeva zaraze i 1,7 milijuna slučajeva smrti godišnje.¹ TB otporan na više vrsta lijekova (MDR-TB) stalna je prijetnja i još složeniji oblik bolesti zbog toga što je MTBC rezistentan i na rifampicin (RIF) i na izoniazid (INH).¹ 2016. godine bilo je 600.000 novih slučajeva s rezistencijom na rifampicin (RRTB), najučinkovitiji lijek prvog izbora, od kojih je 490.000 imalo TB rezistentan na više vrsta lijekova (MDR-TB).¹ 2016. godine Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) objavila je nove smjernice za testiranje na tuberkulozu koje zahtijevaju brze molekularne testove za otkrivanje MDR-TB-a.² Brzo i točno otkrivanje MTBC-a i njegovih oblika koji su rezistentni na lijekove važno je za točno prepoznavanje i liječenje zaraženih pacijenata kako bi se smanjila stopa smrtnosti i zaustavilo širenje TB-a.³

Analiza BD MAX MDR-TB pruža integrirani rezultat za MTBC (ciljni genomi s više kopija IS6110 i IS1081, kao i ciljni genom s jednom kopijom), rezistenciju na RIF (kodoni RRDR 507 – 533) i INH (promotorska regija *inhA* i kodon 315 gena *katG*) te automatizira postupak testiranja i smanjuje potrebu za intervencijama rukovatelja od trenutka kada se uzorak postavi u sustav BD MAX do trenutka kada rezultati postanu dostupni. Analiza BD MAX MDR-TB koja se provodi u sustavu BD MAX može dati rezultate za 24 uzorka za manje od 4 sata, u usporedbi s tradicionalnim metodama kulture i testovima rezistencije na lijekove koji mogu trajati tjednima.

NAČELA POSTUPKA

Neobrađeni sputum ili koncentrirani sedimenti sputuma pripremljeni od induciranog ili iskašljanog sputuma prikupljaju se od pacijenata te se prenose u laboratorij u nepropusnom spremniku za prikupljanje uzoraka. Razrjeđivanje uzorka priprema se u spremniku za prikupljanje uzoraka s otopinom BD MAX STR, na način da konačni omjer STR-a i uzorka bude 2 : 1. Spremnik za prikupljanje uzoraka zatim se protrese 10 puta, inkubira na sobnoj temperaturi 5 minuta, pa se zatim ponovno snažno protrese 10 puta. Uzorak tretiran otopinom BD MAX STR zatim se inkubira na sobnoj temperaturi 25 minuta. Pomoću pipete za prijenos BD MAX Transfer Pipet, 2,5 ml uzorka tretiranog otopinom STR prenosi se u označenu epruvetu uzorka BD MAX MDR-TB Sample Tube. Epruveta uzorka BD MAX MDR-TB zatvara se opnastim čepom i prenosi u sustav BD MAX. Nakon što se radni popis generira, a uzorak stavi u instrument BD MAX, zajedno s unificiranom trakom reagensa BD MAX MDR-TB Unitized Reagent Strip i uloškom PCR Cartridge, obrada se pokreće te nije potrebna nikakva daljnja intervencija rukovatelja. Sustav BD MAX automatizira pripremu uzorka, uključujući liziranje ciljnog organizma, izdvajanje i koncentriranje DNK, rehidraciju reagensa te umnožavanje i otkrivanje ciljne sekvence nukleinske kiseline pomoću PCR-a u stvarnom vremenu. Sustav BD MAX automatski obavlja tumačenje signala. Analiza uključuje i kontrolu obrade uzoraka koja se nalazi u epruveti za ekstrakciju i podvrgava se koracima ekstrakcije, koncentriranja i umnožavanja. Kontrola obrade uzoraka prati prisutnost potencijalnih inhibitornih tvari, kao i pogrešaka u sustavu ili reagensima.

Sustav BD MAX upotrebljava kombinaciju reagensa i topline za izvođenje liziranja stanica i ekstrakciju DNK. Opuštene nukleinske kiseline zadržavaju se na magnetskim prijanjajućim kuglicama. Kuglice na koje su vezane nukleinske kiseline ispiru se, a nukleinske se kiseline eluiraju toplinom u puferu za eluciju. Eluirani DNK neutralizira se i prenosi u epruvete s glavnom mješavinom kako bi se rehidratizirali reagensi za PCR. Nakon rehidratizacije, sustav BD MAX u uložak za PCR BD MAX ulijeva fiksnu količinu otopine spremne za PCR. Sustav pečati mikroventile uložka za PCR BD MAX prije pokretanja PCR postupka da bi se mješavina za umnožavanje zadržala unutra i time spriječilo isparavanje i kontaminacija amplikonima.

Umnoženi ciljevi DNK otkrivaju se pomoću proba (TaqMan®) za hidrolizu koje su označene fluorescentnom bojom (fluorofor) na jednom kraju i prigušujućom skupinom na drugom kraju. Probe označene različitim fluoroforima upotrebljavaju se za otkrivanje DNK kompleksa *M. tuberculosis*, rezistencije na rifampicin, rezistencije na izoniazid i amplikona za kontrolu obrade uzoraka u pet različitim optičkih kanala sustava BD MAX. Otkrivanje rezistencije na rifampicin upotrebljava topljenje otkrivajući mutacije u području 81 para baza RRDR-a gena *rpoB*, a otkrivanje otpornosti na izoniazid određuje se otkrivanjem mutacija u promotorskoj regiji *inhA* i genu *katG*. Sustav BD MAX prati te signale u svakom ciklusu i tumači podatke na kraju programa kako bi izvijestio o krajnjim rezultatima.

REAGENSI I MATERIJALI

KAT. BR.	Sadržaj	Količina
443878	BD MAX™ MDR-TB Master Mix (E6) (glavna mješavina) <i>Sušena glavna mješavina za PCR koja sadrži nukleotide, molekularne probe (0,006 % t/v) i primere (0,01 % t/v) za cilj i enzim za PCR (3E-14 % t/v).</i>	24 testa (2 x 12 epruveta)
	BD MAX™ MDR-TB Master Mix (E5) (glavna mješavina) <i>Sušena glavna mješavina za PCR koja sadrži nukleotide, molekularne probe (0,006 % t/v) i primere (0,008 % t/v) za cilj i kontrolu obrade uzoraka i enzim za PCR (3E-14 % t/v).</i>	24 testa (2 x 12 epruveta)
	BD MAX™ MDR-TB Reagent Strips (trake reagensa) <i>Unificirane trake reagensa koje sadrže pufer za ispiranje s 0,1 % v/v reagensa Tween® 20 i 3,8 % v/v reagensa Tween 80 (0,75 ml), pufer za eluciju (0,75 ml), pufer za neutralizaciju s 0,02 % v/v reagensa Tween 20 (0,75 ml) i otopinu za povezivanje s 5 % v/v reagensa Triton® X-100 (0,75 ml) te jednokratne vrhove pipeta potrebne za obradu uzoraka i ekstrakciju DNK.</i>	24 testa
	BD MAX™ MDR-TB Extraction Tubes (E7) (epruvete za ekstrakciju) <i>Suhi reagens za ekstrakciju koji sadrži magnetske prijanjuće kuglice za DNK (6,4 % t/v), proteazne reagense (6,7 % t/v) i kontrolu obrade uzoraka.</i>	24 testa (2 x 12 epruveta)
	BD MAX™ MDR-TB Sample Tube (epruveta uzorka)	24 testa (2 x 12 epruveta)
	BD MAX™ Transfer Pipets (pipete za prijenos)	25
	Opnasti čepovi	25

POTREBNA OPREMA I MATERIJALI KOJI SE NABAVLJAJU ZASEBNO:

- BD MAX™ STR (Sample Treatment Reagent) (reagens za obradu uzoraka) (BD kat. br. 443806)
- BD MAX™ PCR Cartridges (ulošci za PCR) (BD kat. br. 437519)
- vanjske kontrole
- laboratorijska kuta i rukavice za jednokratnu uporabu bez pudera
- spremnici za biomedicinski otpad
- štoperica ili brojač vremena.

Za prikupljanje neobrađenog sputuma:

- suhi i čisti nepropusni spremnici za prikupljanje uzoraka sputuma.

PREPORUČENI MATERIJALI KOJI SE NABAVLJAJU ZASEBNO

- nefelometar
- sterilne epruvete
- sterilne staklene kuglice veličine 3 – 5 mm
- hranjive podloge (bujon MGIT™ ili bujon 7H9)
- dodatak Middlebrook OADC
- ploče s agarom 7H10/7H11
- fiziološka otopina s fosfatnim puferom
- razmazivači
- miješalice
- reagens BD BBL™ MycoPrep™

UPOZORENJA I MJERE OPREZA

Opasnost



H312 Štetno u dodiru s kožom.

H314 Uzrokuje teške opekline kože i ozljede oka.

H315 Nadražuje kožu.

H317 Može izazvati alergijsku reakciju na koži.

H319 Uzrokuje jako nadraživanje oka.

H334 Ako se udiše može izazvati simptome alergije ili astme ili poteškoće s disanjem.

H335 Može nadražiti dišni sustav.

H411 Otrovno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima.

H412 Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima.

P260 Ne udisati prašinu/dim/plin/maglu/pare/aerosol.

P261 Izbjegavati udisanje prašine/dima/plina/magle/pare/aerosola.

P264 Nakon uporabe temeljito oprati.

P272 Zagađena radna odjeća ne smije se iznositi izvan radnog prostora.

P273 Izbjegavati ispuštanje u okoliš.

P280 Nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice.

P285 U slučaju nedovoljnog prozračivanja nositi sredstva za zaštitu dišnog sustava.

P301+P330+P331 AKO SE PROGUTA: isprati usta. NE izazivati povraćanje.

P312 U slučaju zdravstvenih tegoba nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA ili liječnika.

P303+P361+P353 U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM (ili kosom): odmah ukloniti/skinuti svu zagađenu odjeću. Isprati kožu vodom/tuširanjem.

P363 Oprati zagađenu odjeću prije ponovne uporabe.

P321 Potrebna je posebna liječnička obrada (vidi na ovoj naljepnici).

P304+P340 AKO SE UDIŠE: premjestiti unesrećenog na svjež zrak, umiriti ga i postaviti u položaj koji olakšava disanje.

P310 Odmah nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA ili liječnika.

P305+P351+P338 U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispiranje.

P302+P352 U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM: oprati velikom količinom sapuna i vode.

P333+P313 U slučaju nadražaja ili osipa na koži: zatražiti savjet/pomoć liječnika.

P337 + P313 Ako nadražaj oka ne prestaje: zatražiti savjet/pomoć liječnika.

P391 Sakupiti proliveno/rasuto.

P405 Skladištiti pod ključem.

P403 + P233 Skladištiti na dobro prozračenom mjestu. Čuvati u dobro zatvorenom spremniku.

P501 Odložiti sadržaj/spremnik u skladu s lokalnim/regionalnim/nacionalnim međunarodnim propisima.

- Analiza BD MAX MDR-TB služi za *in vitro* dijagnostiku.
- Za postizanje najboljih rezultata, analiza BD MAX MDR-TB treba se izvršiti unutar laboratorijskih temperaturnih granica od 18 °C do 28 °C i granica relativne vlažnosti u laboratoriju od 20 do 80 %.
- Analiza BD MAX MDR-TB služi za testiranje neobrađenog sputuma ili koncentriranih sedimenata sputuma pripremljenih od induciranog ili iskašljanog sputuma.
- Ne upotrebljavajte reagense i/ili materijale kojima je istekao rok trajanja.
- Komplet nemojte upotrebljavati ako je naljepnica za zatvaranje vanjske kutije slomljena prilikom dostave.
- Reagense nemojte upotrebljavati ako su zaštitne vrećice otvorene ili oštećene prilikom dostave.
- Ne koristite reagense ako u vrećicama reagensa nema upijača vlage ili ako je slomljen.
- Ne uklanjajte upijač vlage iz vrećica reagensa.
- Brzo zatvorite zaštitne vrećice s reagensima patentnim zatvaračem nakon svake upotrebe. Uklonite sav višak zraka iz vrećica prije zatvaranja.
- Zaštitite reagense od topline i vlage. Duža izloženost vlazi može utjecati na učinak proizvoda.
- Ne koristite reagense ako je folija potrgana ili oštećena.
- Nemojte miješati reagense iz različitih vrećica i/ili kompleta i/ili serija.

- Čepove nemojte zamjenjivati ni ponovno upotrebljavati nakon što ih upotrijebite na epruvetama koje sadrže uzorke tretirane otopinom STR jer može doći do kontaminacije koja može ugroziti rezultate testa.
- Epruvete uzoraka BD MAX ne smiju se ponovno upotrebljavati.
- Provjerite jesu li unificirane trake reagensa ispravno napunjene tekućinom (provjerite nalaze li se tekućine na dnu spremnika reagensa) (pogledajte sliku 1).
- Provjerite sadrže li unificirane trake reagensa sve vrške pipeta (pogledajte sliku 1).
- Pri korištenju kemijskih otopina postupajte oprezno jer se čitljivost crtičnih kodova glavne mješavine i epruvete za ekstrakciju može smanjiti.
- Dobra laboratorijska tehnika ključna je za odgovarajuću izvedbu ovog testa. Zbog visoke analitičke osjetljivosti ovog testa potrebno je biti krajnje pažljiv kako bi se očuvala čistoća svih materijala i reagensa.
- U slučaju da se drugi PCR testovi obavljaju u istom prostoru unutar laboratorija, potreban je oprez kako se komplet BD MAX MDR-TB, ostali reagensi potrebni za testiranje i sustav BD MAX ne bi kontaminirali. Uvijek izbjegavajte kontaminaciju reagensa mikrobima i deoksiribonukleazom (DNaza). Obavezno promijenite rukavice prije rukovanja reagensima i ulošcima.
- Da bi se izbjegla kontaminacija okoliša amplikonima, ne otvarajte uloške za PCR BD MAX nakon korištenja. Sigurnosni pečati na ulošcima za PCR BD MAX osmišljeni su za sprječavanje kontaminacije.
- >Laboratorij mora obavljati rutinsko praćenje okoliša kako bi se smanjila opasnost od križne kontaminacije.
- Provođenje analize BD MAX MDR-TB izvan preporučenih vremenskih i temperaturnih okvira za transport i pohranu uzoraka može dati pogrešne rezultate. Analize koje se ne provedu u određenim vremenskim i temperaturnim okvirima potrebno je ponoviti.
- Mogu se testirati dodatne kontrole u skladu sa smjernicama ili zahtjevima lokalnih, državnih, pokrajinskih i/ili saveznih propisa ili akreditirajućih ustanova.
- Uvijek rukujte uzorcima kao da su infektivni i u skladu sa sigurnosnim postupcima u laboratoriju, kao što su oni opisani u dokumentu CLSI Document M29⁴ i dokumentu Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.⁵
- Za vrijeme rukovanja reagensima nosite zaštitnu odjeću i rukavice za jednokratnu upotrebu.
- Nakon obavljanja testa temeljito operite ruke.
- Ne pipetirajte ustima.
- Nemojte pušiti, piti, žvakati ili jesti u područjima u kojima se rukuje uzorcima ili reagensima kompleta.
- Neiskorištene reagense i otpad odložite u skladu s lokalnim, državnim, pokrajinskim i/ili saveznim propisima.
- Dodatna upozorenja, mjere opreza i postupke potražite u Korisničkom priručniku sustava BD MAX.⁸

POHRANA I STABILNOST

Prikupljene uzorke neobrađenog sputuma treba čuvati tijekom prijevoza na temperaturi između 2 °C i 35 °C, do najviše 3 dana. Zaštite ih od izlaganja prevelikoj toplini.

Neobrađeni sputum: uzorak se može pohraniti dodatnih 168 sati (7 dana) na temperaturi između 2 °C i 8 °C prije tretiranja otopinom STR.

Sediment sputuma: uzorak se može pohraniti do 168 sati (7 dana) na temperaturi između 2 °C i 8 °C prije tretiranja otopinom STR.

Uzorci tretirani otopinom BD MAX STR mogu se pohraniti na temperaturi između 2 °C i 28 °C najviše 72 sata.

Pripremljene epruvete uzoraka BD MAX MDR-TB mogu se pohraniti na temperaturi od 2 °C do 28 °C najviše 72 sata nakon obrade otopinom STR.

Komponente testova BD MAX MDR-TB stabilne su na temperaturi 2 °C – 28 °C do navedenog roka trajanja. Ne koristite komponente kojima je istekao rok trajanja.

Glavna mješavina i epruvete za ekstrakciju kompleta BD MAX MDR-TB Master Mix isporučuju se u zapečaćenim vrećicama.

Radi zaštite proizvoda od vlage, zatvorite vrećicu odmah nakon otvaranja. Epruvete reagensa stabilne su do 14 dana pri temperaturama 2 °C – 28 °C nakon prvog otvaranja i ponovnog zatvaranja vrećice.

UPUTE ZA UPOTREBU

Prikupljanje/transport uzoraka

Kako bi se dobio odgovarajući uzorak, mora se točno slijediti postupak prikupljanja uzoraka. Sve uzorke treba prikupljati i transportirati prema preporukama centara za kontrolu i sprječavanje bolesti (CDC),⁵ uputama priručnika *Clinical Microbiology Procedures Handbook*,⁶ ili priručnika s postupcima vaše ustanove. Pacijenti trebaju sjediti ili stajati prilikom prikupljanja neobrađenog sputuma. Pacijenti trebaju ispirati usta i očistiti potencijalne čestice zaostale hrane prije prikupljanja sputuma.

Neobrađeni sputum ili koncentrirani sedimenti sputuma pripremljeni od induciranog ili iskašljanog sputuma prikupljaju se prema sljedećem postupku:

NAPOMENA: uzorke s tragovima hrane ili drugim krutim česticama ne uzimajte u obradu.

1. Neobrađeni sputum: prikupite najmanje 1 ml sputuma u nepropusni spremnik za prikupljanje uzoraka. Spremnik označite i transportirajte u laboratorij (pogledajte odjeljak Pohrana i stabilnost).
2. Sediment sputuma: dekontaminirajte uzorak sputuma otopinom NALC/NaOH prema metodi Kenta i Kubice.⁷ Ponovno suspendirajte sediment u najviše 2 ml 67 mM pufera fosfata/vode. Spremnik označite i transportirajte u laboratorij (pogledajte odjeljak Pohrana i stabilnost). Potrebno je najmanje 1 ml za testiranje analizom BD MAX MDR-TB.

Priprema uzorka

NAPOMENA: analiza BD MAX MDR-TB može se upotrebljavati samo s kompletom BD MAX STR. Korake za obradu sputuma i sedimenata sputuma možete pronaći na letku u paketu BD MAX STR.

NAPOMENA: jedna (1) epruveta BD MAX STR, jedna (1) epruveta za prijenos, jedna (1) epruveta uzorka, jedan (1) opnasti čep, dvije (2) epruvete glavne mješavine (jedna [E6] i jedna [E5]), jedna (1) epruveta za ekstrakciju [E7] i jedna (1) unificirana traka reagensa potrebne su za svaki uzorak i svaku vanjsku kontrolu koju treba testirati. Izvadite potrebnu količinu materijala iz zaštitnih vrećica ili kutija i pripremite ih. Da biste pohranili otvorene vrećice glavne mješavine ili epruveta za ekstrakciju, uklonite višak zraka iz vrećica i zatvorite ih patentnim zatvaračem.

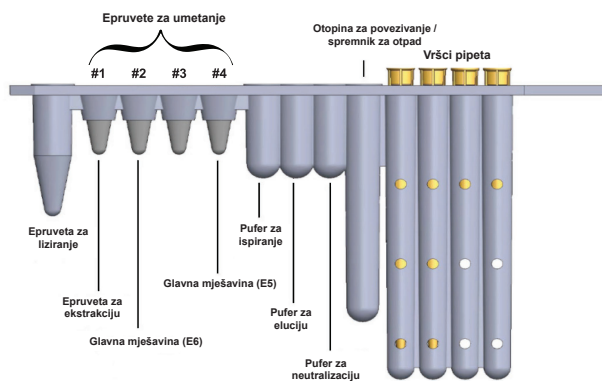
1. Na epruvetu uzorka BD MAX MDR-TB s crtičnim kodom (proziran čep) zalijepite oznaku s odgovarajućim identifikacijskim podacima uzorka. Ne zaklanjajte 2-D crtične kodove, ne pišete i ne postavljajte naljepnice preko njih.
Za svaki uzorak neobrađenog sputuma ili sedimenta sputuma: (Koraci od 2. do 7. opisuju upotrebu otopine BD MAX STR [Nije priložena.]. Dodatne informacije potražite na letku paketa BD MAX STR.)
2. Pustite da se uzorak uravnoteži na sobnoj temperaturi.
3. Pažljivo otvorite poklopac nepropusnog spremnika za prikupljanje uzoraka sputuma pazeći da ne dođe do prolijevanja.
4. Pažljivo otvorite epruvetu BD MAX STR i dodajte željenu količinu tako da konačni omjer STR-a i uzorka bude 2 : 1.
5. Zatvorite posudu za prikupljanje i snažno protresite (ne miješajte) otopinu 10 puta (pomicanje gore, a zatim dolje je 1 put).
6. Inkubirajte na sobnoj temperaturi 5 minuta pa ponovno snažno protresite 10 puta.
7. Uzorak tretiran otopinom BD MAX STR inkubirajte na sobnoj temperaturi 25 minuta.
8. Skinite čep s epruvete uzorka BD MAX MDR-TB i zadržite tvrdi čep u slučaju pohrane uzorka.
9. Pomoću isporučene pipete za prijenos prenesite 2,5 ml uzorka sputuma tretiranog otopinom STR u označenu epruvetu uzorka BD MAX MDR-TB. Dobro provjerite da ID uzorka na epruveti uzorka BD MAX MDR-TB odgovara naljepnici na spremniku za prikupljanje uzoraka.
10. Epruvetu uzorka BD MAX MDR-TB zatvorite plavim opnastim čepom.
11. Sve dodatne uzorke za ispitivanje pripremite ponavljanjem koraka od 1 do 10, prije rukovanja dodatnim uzorcima.
12. Za obavljanje testiranja BD MAX MDR-TB u sustavu BD MAX prijedite na poglavlje Rad sustava BD MAX.

Rad sustava BD MAX

NAPOMENA: detaljne upute potražite u Korisničkom priručniku sustava BD MAX⁸ (pogledajte odjeljak Rad sustava).

NAPOMENA: testiranje kompleta BD MAX MDR-TB mora se provesti odmah nakon gore opisanog prijenosa uzorka tretiranog otopinom STR u epruvetu uzorka (pogledajte odjeljak „Priprema uzorka”, 9. korak).

1. Uključite sustav BD MAX (ako već niste) i prijavite se tako da unesete <user name> (korisničko ime) i <password> (lozinku).
2. Obavezno promijenite rukavice prije rukovanja reagensima i ulošcima.
3. Izvadite potreban broj unificiranih traka reagensa iz kompleta BD MAX MDR-TB. Nježno tapkajte svakom unificiranom trakom reagensa o tvrdu površinu da biste sve tekućine doveli na dno epruveta.
4. Izvadite potreban broj epruveta za ekstrakciju i epruveta s glavnom mješavinom iz zaštitnih vrećica kompleta BD MAX MDR-TB.
5. Uklonite sav višak zraka iz vrećica i zatvorite ih patentnim zatvaračem.
6. Za testiranje svakog uzorka postavite jednu (1) unificiranu traku reagensa na stalak sustava BD MAX, počevši od položaja 1 stalka A.
7. Utisnite jednu (1) epruvetu za ekstrakciju (E7) (bijela folija) u svaku od unificiranih traka reagensa u položaj 1, kao što je prikazano na slici 1.
8. Utisnite jednu (1) epruvetu s glavnom mješavinom BD MAX MDR-TB (E6) (zelena folija) u svaku od unificiranih traka reagensa u položaju 2, kao što je prikazano na slici 1.
9. Utisnite jednu (1) epruvetu s glavnom mješavinom BD MAX MDR-TB (E5) (plava folija) u svaku od unificiranih traka reagensa u položaju 4, kao što je prikazano na slici 1.



Slika 1: utiskivanje epruveta za ekstrakciju BD MAX MDR-TB i epruveta s glavnom mješavinom BD MAX MDR-TB u unificirane trake reagensa.

10. Kliknite ikonu Run (Obrada), a zatim Inventory (Inventar). Unesite serijski broj kompleta za test BD MAX MDR-TB (radi praćenja serije) skenirajući crtični kôd skenerom ili ga unesite ručno (nalazi se na vanjskoj kutiji).

NAPOMENA: ponovite 10. korak svaki puta kada počnete koristiti novu seriju kompleta.

11. Otiđite do kartice Worklist (Radni popis). Pomoću padajućeg izbornika odaberite **<BD MAX MDR TB 70>**.
12. U radni popis unesite ID epruvete uzorka BD MAX MDR-TB, ID pacijenta i pristupni broj (ako je primjenjivo) skeniranjem crtičnog kôda skenerom ili ručnim unošenjem.
13. Na padajućem izborniku odaberite odgovarajući broj serije kompleta (koji se nalazi na vanjskoj kutiji kompleta BD MAX MDR-TB).
14. Ponovite korake od 11. do 13. za sve preostale epruvete uzoraka.
15. Postavite epruvete uzoraka na stalke sustava BD MAX u skladu s unificiranim trakama reagensa koje ste složili u koracima od 6. do 9.

NAPOMENA: epruvete za uzorke postavite na stalak za uzorke tako da naljepnice s 1D crtičnim kodovima budu okrenute prema van (to će vam olakšati skeniranje epruveta za uzorke prilikom prijave uzoraka).

16. Stavite potreban broj uložaka za PCR BD MAX u sustav BD MAX (pogledajte sliku 2):
 - U svaki od uložaka za PCR BD MAX može stati do 12 uzoraka.
 - Sustav BD MAX automatski će odabrati položaj i red na ulošku za PCR BD MAX za svaku obradu. Uložak za PCR BD MAX može se koristiti više puta, sve dok se ne iskoriste svi utori.
 - Da biste maksimalno iskoristili uloške za PCR BD MAX, koristeći 2000 Sample Mode (način rada za 2000 uzoraka), odaberite Run Wizard (Čarobnjak za obradu) za dodjelu utora na kartici Worklist (Radni popis).
 - Više informacija potražite u Korisničkom priručniku za sustav BD MAX.⁸



Slika 2: umetanje uložaka za PCR BD MAX

17. Umetnite stalke u sustav BD MAX (pogledajte sliku 3).



Strana A Strana B
Slika 3: umetanje stalaka u sustav BD MAX

18. Zatvorite poklopac sustava BD MAX i kliknite **<Start>** (Pokreni) da biste pokrenuli obradu.

19. Na kraju postupka odmah provjerite rezultate ili spremite epruvete za uzorke na temperaturi između 2 °C i 28 °C do 72 sata nakon obrade otopinom STR dok se rezultati ne provjere.

NAPOMENA: prije pohranjivanja uzorka opnasti čep zamijenite tvrdim čepom.

NAPOMENA: pripremljene epruvete za uzorke BD MAX MDR-TB mogu se pohraniti pri temperaturi 2 °C – 28 °C maksimalno 72 sata. Kada dobijete rezultat koji je neodređen (IND), neriješen (UNR) ili nepotpun (INC) ili ako dođe do pogreške vanjskih kontrola, potrebno je izvršiti ponovno testiranje iz pripremljenih epruveta uzoraka u ovom vremenskom okviru (pogledajte odjeljak Ponavljanje postupka testiranja)

NAPOMENA: ako vanjska kontrola ne uspije, ponovite ispitivanje svih uzoraka upotrebom svježe pripremljenih vanjskih kontrola (pogledajte odjeljak Kontrola kvalitete).

KONTROLA KVALITETE

Postupci kontrole kvalitete nadziru izvedbu analize. Laboratoriji su dužni odrediti broj, vrstu i učestalost testiranja kontrolnih materijala u skladu sa smjernicama ili zahtjevima lokalnih, pokrajinskih, državnih, saveznih i/ili nacionalnih propisa ili akreditirajućih ustanova u svrhu nadzora učinkovitosti cijelog analitičkog postupka. Za općenite smjernice u vezi s kontrolom kvalitete korisnik može pogledati dokumente CLSI MM3⁹ i EP12.¹⁰

1. BD ne isporučuje vanjske kontrolne materijale. Vanjske pozitivne i negativne kontrole ne koriste se u softveru sustava BD MAX u svrhu interpretacije rezultata testnih uzoraka. Vanjske kontrole tretiraju se kao da su uzorci pacijenata. Za pripremu vanjskih kontrola potrebna je otopina BD MAX STR. (Za interpretaciju rezultata analize vanjskih kontrola pogledajte tablicu u odjeljku Interpretacija rezultata.)
2. Barem jednom dnevno potrebno je provesti jednu vanjsku pozitivnu kontrolu i jednu vanjsku negativnu kontrolu dok se ne postigne zadovoljavajuća potvrda procesa u sustavu BD MAX u svakom od laboratorijskih okruženja. Smanjivanje učestalosti kontrolnog testiranja treba se provesti u skladu s primjenjivim propisima.
3. Vanjska pozitivna kontrola namijenjena je nadzoru velikih pogrešaka reagensa. Vanjska negativna kontrola upotrebljava se za otkrivanje kontaminacije (ili prijenosa) reagensa ili okoliša ciljnim nukleinskim kiselinama.
4. Kontrolne sojeve potrebno je testirati u skladu sa smjernicama ili zahtjevima lokalnih, državnih i/ili saveznih propisa ili akreditirajućih ustanova u svrhu nadzora učinkovitosti cijelog analitičkog postupka.
5. Preporučuje se provođenje različitih vanjskih kontrola da bi se korisniku omogućio odabir one koja je najprikladnija za program kvalitete u njihovom laboratoriju.
 - a. Vanjske negativne kontrole moraju sadržavati 2,5 ml otopine STR (2 dijela STR-a: 1 dio deionizirane vode).
 - b. Vanjska pozitivna kontrola: suspenzija bilo kojeg potvrđenog kompleksa organizma *M. tuberculosis* stečenog komercijalnim putem, dobivenog postupcima izolacije kulture ili putem prethodno okarakteriziranog uzorka za koji se zna da je pozitivan.

Ako se upotrebljavaju kontrolni organizmi

- a. Uzgojite organizam u bujonu 7H9 ili bujonu MGIT, dopunjenom OADC-om na 37 °C. Uzgojite ga na zamućenost od otprilike ≥ 0,5 McFarlanda (obično je potrebno 7 do 10 dana, no moguće je i više, ovisno o soju).
- b. Tekuću kulturu uklonite centrifugiranjem 10 minuta na 3.000 g.
- c. Organizam ponovno otopite u fiziološkoj otopini fosfatnog pufera (PBS).
- d. Premjestite suspenziju u sterilnu epruvetu koja sadrži do deset (10) kuglica veličine 3 – 5 mm. Miješajte kulturu otprilike 30 sekundi.
- e. Ostavite suspenziju da se slegne otprilike 5 minuta kako bi veće čestice mogle doći na dno epruvete.
- f. Premjestite suspenziju u novu sterilnu epruvetu izbjegavajući grudice na dnu epruvete te se pobrinite da zamućenost ostane ≥ 0,5 McFarlanda.
 - 1) Dimenzije epruveta trebaju biti specifične za nefelometar.

- g. Provedite serijska razrjeđivanja i nasađite organizam u posudu s agarom (agar 7H10 ili 7H11) za kvantifikaciju. Inkubirajte posude na temperaturi od 37 °C 2 do 4 tjedna.
 - h. Prilikom kvantifikacije organizma, razrijedite organizam na koncentraciju od 1×10^5 CFU/ml u PBS-u.
 - 1) Suspenzija se može pripremiti u konačnu otopinu, podijeliti u alikvotne od 300 µl, zamrznuti i upotrebljavati za rutinsko testiranje.
 - i. Dodajte 2,25 ml otopine STR (2 dijela STR-a: 1 dio deionizirane vode) u epruvetu uzorka.
 - j. Dodajte 250 µl konačnog razrjeđenja u epruvetu uzorka BD MAX MDR-TB te zatvorite epruvetu plavim opnastim čepom.
 - k. Obradite vanjsku kontrolu kao da je uzorak pacijenta, u skladu s postupkom navedenim u odjeljku Rad sustava BD MAX.
6. Sve vanjske kontrole trebaju dati očekivane rezultate (pozitivne za vanjske pozitivne kontrole i negativne za vanjske negativne kontrole) i ne smije biti neuspješnih vanjskih kontrola (neriješeni ili neodređeni rezultati). U donjoj tablici pogledajte prihvatljive rezultate za vanjsku pozitivnu kontrolu:

M. tuberculosis organizam ili okarakterizirani uzorak	Rezultat analize
osjetljivo na RIF i osjetljivo na INH	otkriven MTB, rezistentnost na RIF NIJE otkrivena, rezistentnost na INH NIJE otkrivena
osjetljivo na RIF / rezistentno na INH	otkriven MTB, rezistentnost na RIF NIJE otkrivena, rezistentnost na INH otkrivena
rezistentno na RIF / osjetljivo na INH	otkriven MTB, rezistentnost na RIF otkrivena, rezistentnost na INH NIJE otkrivena
rezistentno na RIF / rezistentno na INH	otkriven MTB, rezistentnost na RIF otkrivena, rezistentnost na INH otkrivena

- a. Vanjska negativna kontrola koja daje pozitivan rezultat testa ukazuje na neodgovarajuće rukovanje uzorkom i/ili kontaminaciju. Razmotrite tehniku rukovanja uzorkom radi izbjegavanja miješanja i/ili kontaminacije. Vanjska pozitivna kontrola koja daje negativan rezultat ukazuje na neodgovarajuće rukovanje uzorkom / probleme prilikom pripreme. Pogledajte tehniku rukovanja uzorkom / pripreme uzorka.
- b. Vanjska kontrola koja daje neriješeni, neodređeni ili nepotpuni rezultat testa ukazuje na pogrešku reagensa ili sustava BD MAX. Provjerite pojavljuju li se poruke o pogreškama na zaslonu sustava BD MAX. Kako interpretirati kodove upozorenja i pogrešaka potražite u odjeljku Rješavanje problema u Korisničkom priručniku sustava BD MAX.⁸ Ako se problem ne ukloni, upotrijebite reagense iz neotvorene vrećice ili novi komplet BD MAX MDR-TB.
- c. Svaka epruveta za ekstrakciju BD MAX MDR-TB sadrži kontrolu obrade uzoraka, odnosno plazmid sa sintetičkom ciljnom DNK sekvencom. Kontrola obrade uzoraka izdvaja se, ispire i uvećava zajedno sa svim ciljnim DNK molekulama u obrađenom uzorku. Kontrola obrade uzoraka nadgleda učinkovitost hvatanja, pranja i ispiranja DNK tijekom obrade uzoraka, kao i učinkovitost uvećavanja i otkrivanja ciljnog DNK tijekom PCR analize. Ako rezultat kontrole obrade uzorka ne ispunjava kriterije prihvatljivosti, rezultat uzorka bit će prijavljen kao neriješen. Međutim, svi će se pozitivni MTBC rezultati („MTB otkriven“) zabilježiti. Ponovite postupak za svaki uzorak prijavljen kao neriješen kako je opisano u poglavlju „Ponavljanje postupka testiranja“.

INTERPRETACIJA REZULTATA

Rezultati su dostupni na kartici <Results> (Rezultati) u prozoru <Results> (Rezultati) na zaslonu sustava BD MAX. Softver sustava BD MAX automatski tumači rezultate testa. Rezultati se prijavljuju za svaki od analita i za kontrolu obrade uzoraka. Rezultat testa može se navesti kao MTB Detected (MTB otkriven), MTB Low POS (MTB nisko pozitivan), MTB NOT Detected (MTB NIJE otkriven), RIF Resistance Detected (otkrivena rezistencija na RIF), RIF Resistance NOT Detected (rezistencija na RIF NIJE otkrivena), RIF Resistance UNREPORTABLE (rezistencija na RIF NEPRIJAVLJIVA), INH Resistance Detected (otkrivena rezistencija na INH) (*mutacija gena katG nije otkrivena, mutacija gena katG otkrivena, mutacija gena inhA NIJE otkrivena, mutacija gena inhA otkrivena također prijavljeno*), INH Resistance NOT Detected (rezistencija na INH NIJE otkrivena), INH Resistance UNREPORTABLE (rezistencija na INH NEPRIJAVLJIVA) ili je UNR (unresolved) UNR (neriješeno) na temelju amplifikacijskog statusa cilja i kontrole obrade uzoraka. Rezultati IND (neodređeni) ili INC (nepotpuni) posljedica su pogreške u sustavu BD MAX. Tumačenje rezultata analize BD MAX MDR-TB opisano je u tablici 1 u nastavku.

Tablica 1: tumačenje rezultata analize BD MAX MDR-TB

PRIJAVLJENI REZULTATI ANALIZE	INTERPRETACIJA REZULTATA
MTB otkriven	Otkriven je DNK <i>Mycobacterium tuberculosis</i> kompleksa
MTB nisko POS	Otkriven je DNK <i>Mycobacterium tuberculosis</i> kompleksa, a vrijednosti rezistencije ne mogu se izmjeriti; ≥ 2 RRDR ^a , <i>katG</i> ili <i>inhA</i> promotorske probe nisu dale signal, ukazuje na malu količinu bakterija
MTB NIJE otkriven	Nije otkriven DNK <i>Mycobacterium tuberculosis</i> kompleksa, a kontrola obrade uzorka je otkrivena
Otkrivena rezistencija na RIF	Otkrivene su mutacije RRDR ^a
Rezistentnost na RIF NIJE otkrivena	Nisu otkrivene mutacije RRDR ^a
rezistencija na RIF NEPRIJAVLJIVA	Otkriven je DNK <i>Mycobacterium tuberculosis</i> kompleksa, ali vrijednosti rezistencije na RIF ne mogu se izmjeriti; jedna proba <i>rpoB</i> nije dala signal, a signali ostalih proba <i>rpoB</i> daju signale divljeg tipa

Otkrivena rezistencija na INH^c	Mutacije gena <i>katG</i> nisu otkrivene	Otkriven je DNK rezistentnosti na INH, a mutacije na cilju za analizu gena <i>katG</i> nisu otkrivene
	Otkrivene mutacije gena <i>katG</i>	DNK rezistentnosti na INH je otkriven i otkrivene su mutacije u cilju za analizu gena <i>katG</i>
	Mutacija gena <i>inhApr^b</i> NIJE otkrivena	DNK rezistentnosti na INH je otkriven, a mutacije u cilju za analizu promotora <i>inhA</i> nisu otkrivene
	Otkrivena mutacija gena <i>inhApr^b</i>	DNK rezistentnosti na INH je otkriven i otkrivene su mutacije u cilju za analizu promotora <i>inhA</i>
Rezistentnost na INH NIJE otkrivena		Mutacije u ciljevima za analizu promotora <i>katG</i> i <i>inhA</i> nisu otkrivene
Rezistencija na INH NEPRIJAVLJIVA		DNK kompleksa <i>Mycobacterium tuberculosis</i> je otkriven, no vrijednosti rezistencije na INH ne mogu se izmjeriti. Jedna od promotorskih proba <i>katG</i> ili <i>inhA</i> nije dala signal, dok druge daju signale divljeg tipa.
MTB neriješen (MTB UNR)		Nije otkriven DNK <i>Mycobacterium tuberculosis</i> kompleksa niti kontrola obrade uzorka (ukazuje na inhibicijski uzorak ili pogrešku reagensa)
Neodređen (IND)		Neodređen rezultat zbog pogreške u sustavu BD MAX (s kodom upozorenja ili pogreške ^d)
Nepotpun (INC)		Nepotpuna obrada (s kodom upozorenja ili pogreške ^d)

^a RRDR = regija određivanja rezistencije na rifampicin (regija 81 bp gena *rpoB* kodoni 507 – 533)

^b *inhApr* = *inhA* promotorska regija

^c Ako rezistencija na *katG* ili *inhApr* (Mut NIJE otkrivena ili Mut otkrivena) nije prijavljena u rezultatu otkrivanja rezistencije na INH, taj se cilj ne može prijaviti. Sonda za analizu za taj cilj nije uspjela dati signal.

^d Kako interpretirati kodove upozorenja i pogrešaka potražite u odjeljku Rješavanje problema u Korisničkom priručniku sustava BD MAX.⁸

PONAVLANJE POSTUPKA TESTIRANJA

NAPOMENA: epruveta uzorka BD MAX MDR-TB sadrži dovoljnu količinu za jedno ponavljanje testiranja. Za pripremljene epruvete uzoraka BD MAX MDR-TB pohranjene na temperaturi od 2 °C – 28 °C potrebno je izvršiti testiranje u roku od 72 sata nakon prve obrade uzorka otopinom BD MAX STR. Preostali uzorak sputuma obrađenog STR-om također se može upotrijebiti za ponovno testiranje u roku od 72 sata ako je pohranjen na temperaturi 2 °C – 28 °C.

NAPOMENA: novi uzorci mogu se testirati u istom ciklusu s ponovljenim uzorcima.

MTB nisko pozitivan rezultat

Rezultati MTB Low POS (MTB nisko pozitivan) dobivaju se u slučaju da su uzorci MTB pozitivni te da postoji gubitak signala za ≥ 2 ciljne sonde rezistencije, što ukazuje na nakupljanje bakterija između granica otkrivanja MTB-a i analiza za određivanje rezistencije.

Test se može ponoviti prema prethodno opisanom postupku, no postoji mogućnost da se rezultati rezistencije neće prijaviti jer količina bakterija u uzorku može biti ispod granica otkrivanja za analize za RIF i/ili INH.

Uzorci se mogu ponoviti iz odgovarajućih epruveta uzoraka u prethodno definiranim vremenskim rasponima. Ponovno krenite od odjeljka „Rad sustava BD MAX“. Preostali uzorak sputuma također se može upotrijebiti za ponovno testiranje uz pripremu nove epruvete uzorka unutar prethodno definiranih vremenskih raspona. Ponovno krenite od odjeljka Priprema uzoraka.

Neprijavljiv rezultat rezistencije na RIF ili INH

Neprijavljivi rezultati rezistencije mogu se dobiti u slučaju gubitka signala za jednu od ciljnih sonda rezistencije. Test se treba ponoviti prema prethodno opisanom postupku.

Uzorci se mogu ponoviti iz odgovarajućih epruveta uzoraka u prethodno definiranim vremenskim rasponima. Ponovno krenite od odjeljka „Rad sustava BD MAX“. Preostali uzorak sputuma također se može upotrijebiti za ponovno testiranje uz pripremu nove epruvete uzorka unutar prethodno definiranih vremenskih raspona. Ponovno krenite od odjeljka Priprema uzoraka.

MTB neriješen rezultat

Neriješeni rezultati za MTB mogu se dobiti u slučaju da inhibicija vezana uz uzorak ili pogreška reagensa spriječe točno umnožavanje cilja i/ili kontrole obrade uzoraka. Ako se kontrola obrade uzoraka ne pojača, uzorak će se prijaviti kao MTB UNR (neriješen). Test se treba ponoviti prema prethodno opisanom postupku.

Uzorci se mogu ponoviti iz odgovarajućih epruveta uzoraka u prethodno definiranim vremenskim rasponima. Ponovno krenite od odjeljka „Rad sustava BD MAX“. Preostali uzorak obrađen otopinom STR također se može upotrijebiti za ponovno testiranje uz pripremu nove epruvete uzorka unutar prethodno definiranih vremenskih raspona. Ponovno krenite od odjeljka Priprema uzoraka.

Neodređeni rezultat

Neodređeni rezultat može se dobiti u slučaju kvara sustava. Uzorci se mogu ponoviti iz odgovarajućih epruveta uzoraka u prethodno definiranim vremenskim rasponima. Krenite iznova prateći odjeljak „Rad sustava BD MAX“. Preostali uzorak obrađen otopinom STR, pripremljen u novoj epruveti uzorka, također se može upotrijebiti za ponovno testiranje unutar prethodno definiranog vremenskog raspona. Ponovno krenite od odjeljka Priprema uzoraka. Za tumačenje kodova upozorenja ili pogrešaka konzultirajte Korisnički priručnik sustava BD MAX⁸ (odjeljak Rješavanje problema).

Nepotpuni rezultat

Do nepotpunih rezultata može doći u slučaju da se ne dovrši priprema uzorka ili PCR. Uzorci se mogu ponoviti iz odgovarajućih epruveta uzoraka u prethodno definiranim vremenskim rasponima. Krenite iznova prateći odjeljak „Rad sustava BD MAX”. Preostali uzorak obrađen otopinom STR, pripremljen u novoj epruveti uzorka, također se može upotrijebiti za ponovno testiranje u prethodno definiranom vremenskom rasponu. Ponovno krenite od odjeljka Priprema uzoraka. Za tumačenje kodova upozorenja ili pogrešaka konzultirajte Korisnički priručnik sustava BD MAX⁸ (Rješavanje problema).

Pogreška vanjske kontrole

Vanjske kontrole trebale bi prilikom testiranja dati očekivani rezultat. Ako se uzorci moraju ponoviti zbog netočnog rezultata vanjske kontrole, treba ih ponoviti iz istih epruveta uzoraka zajedno sa svježim pripremljenim vanjskim kontrolama u prethodno definiranim vremenskim rasponima. Krenite iznova prateći odjeljak „Rad sustava BD MAX”.

OGRAIČENJA POSTUPKA

- Ovaj proizvod treba koristiti obučeno laboratorijsko osoblje samo sa sustavom BD MAX.
- Ovaj proizvod namijenjen je za uporabu samo s neobrađenim sputumom ili koncentriranim sedimentima sputuma pripremljenim od inducirano ili iskašljanog sputuma i tretiranim otopinom BD MAX STR.
- Pogrešni rezultati mogu se javiti zbog nepravilnog prikupljanja uzorka, rukovanja ili pohranjivanja, zbog tehničkih pogrešaka, pomiješanih uzoraka ili zbog toga što je broj organizama u uzorku manji od analitičke osjetljivosti testa.
- Ako je rezultat analize BD MAX MDR-TB IND (neodređen), INC (nepotpun) ili UNR (neriješen), treba ponoviti analizu.
- Interferencija s analizom BD MAX MDR-TB primijećena je u prisutnosti sluzi pri razinama iznad 1,5 % t/v (tablica 24 u odjeljku Karakteristike svojstava).
- Pozitivan rezultat testa BD MAX MDR-TB ne ukazuje nužno na prisutnost održivih organizama. Međutim, upućuje na prisutnost ciljnog DNK.
- Mutacije ili polimorfizmi u veznim područjima primera ili probe mogu utjecati na otkrivanje novih ili nepoznatih ciljnih varijanti, što dovodi do netočnog rezultata analize BD MAX MDR-TB.
- Kao i kod svih testova baziranih na PCR-u, moguće je detektirati iznimno niske razine ciljane tvari ispod granice opažanje analize, ali rezultate možda neće biti moguće ponoviti.
- Lažno negativni rezultati mogu se pojaviti zbog gubitka nukleinske kiseline uslijed neprikladnog prikupljanja, transporta ili pohrane uzoraka ili zbog neodgovarajućeg liziranja bakterija. Kontrola obrade uzoraka dodana je testu da bi pomogla u identifikaciji uzoraka koji sadrže inhibitore umnožavanja PCR-a i poslužila kao kontrola integriteta reagensa i sustava analize u cijelosti. Kontrola obrade uzoraka ne pokazuje je li do gubitka nukleinske kiseline došlo zbog neprikladnog prikupljanja, transporta ili pohrane uzoraka ili zato što bakterijske stanice nisu ispravno lizirane.
- Na rezultate analize BD MAX MDR-TB može i ne mora utjecati istovremena medicinska terapija, zbog koje može doći do smanjenja prisutnih ciljnih organizama.
- Ovo je kvalitativni test i ne daje kvantitativne vrijednosti, niti pokazuje u kojoj su količini organizmi prisutni.
- Učinak analize BD MAX MDR-TB nije procijenjen za uzorke pedijatrijskih pacijenata.

OČEKIVANE VRIJEDNOSTI

Stopa pozitivnosti uzoraka koji su pozitivni na *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), otpornost na rifampicin (RIF) i otpornost na izoniazid (INH) (poznat i kao izonikotil hidrazid) ovisi o populaciji pacijenata. Faktori uključuju zemlju podrijetla. Tijekom kliničkog ispitivanja analize BD MAX MDR-TB (ožujak 2016. – kolovoz 2017.) prikupljen je 761 uzorak iz zemalja koje su poznate po visokoj učestalosti slučajeva TB-a i MDR TB-a koji su zatim zamrznuti. Svaki je uzorak sputuma bio podijeljen na dva (2) dijela. Jedan se dio trebao razgraditi metodom razgradnje NALC/NaOH⁷ (obrađen), a drugi je dio bio neobrađeni uzorak (bez razgradnje). Analiza BD MAX MDR-TB izvršena je na oba dijela. Stopa pozitivnosti za MTB izračunata je na 635 uzoraka neobrađenog sputuma i 674 uzorka obrađenog sputuma koji su bili sukladni s uzorkom i razinama analize BD MAX MDR-TB s rezultatom koji se mogao prijaviti (tablica 2). Stopa pozitivnosti za RIF izračunata je na 316 uzoraka neobrađenog sputuma i 334 uzorka obrađenog sputuma koji su bili sukladni s uzorkom i razinama analize BD MAX MDR-TB s rezultatom koji se mogao prijaviti za RIF. Stopa pozitivnosti za INH izračunata je na 327 uzoraka neobrađenog sputuma i 338 uzoraka obrađenog sputuma koji su sukladni s uzorkom i razinama analize BD MAX MDR-TB s rezultatom koji se mogao prijaviti za INH. Ti uzorci dobiveni su iz šest zemalja.

Tablica 2: pozitivnost BD MAX MDR-TB na zamrznutim uzorcima po zemlji podrijetla sputuma

Zemlja prikupljanja uzorka	Vrsta uzorka	Stopa pozitivnosti MAX		
		MTB	RIF	INH
Mali	Neobrađeni sputum	43,0 % (92/214)	4,2 % (3/72)	8,3 % (6/72)
	Obrađeni sputum	41,0 % (87/212)	5,6 % (4/71)	9,6 % (7/73)
Meksiko	Neobrađeni sputum	100 % (5/5)	0,0 % (0/5)	0,0 % (0/5)
	Obrađeni sputum	75,0 % (6/8)	0,0 % (0/6)	0,0 % (0/6)
Republika Moldavija	Neobrađeni sputum	94,3 % (82/87)	28,2 % (20/71)	43,9 % (36/82)
	Obrađeni sputum	96,6 % (84/87)	33,3 % (25/75)	43,0 % (34/79)
Rusija	Neobrađeni sputum	87,5 % (14/16)	50,0 % (5/10)	36,4 % (4/11)
	Obrađeni sputum	81,3 % (13/16)	33,3 % (3/9)	40,0 % (4/10)
Južna Afrika	Neobrađeni sputum	69,2 % (72/104)	0,0 % (0/65)	1,6 % (1/64)
	Obrađeni sputum	67,3 % (70/104)	1,5 % (1/68)	1,6 % (1/64)
Uganda	Neobrađeni sputum	51,9 % (107/206)	1,1 % (1/91)	3,3 % (3/91)
	Obrađeni sputum	53,7 % (131/244)	0,0 % (0/103)	2,9 % (3/104)
Nepoznato	Neobrađeni sputum	66,7 % (2/3)	0,0 % (0/2)	0,0 % (0/2)
	Obrađeni sputum	66,7 % (2/3)	0,0 % (0/2)	0,0 % (0/2)
Ukupno	Neobrađeni sputum	58,9 % (374/635)	9,2 % (29/316)	15,3 % (50/327)
	Obrađeni sputum	58,3 % (393/674)	9,9 % (33/334)	14,5 % (49/338)

U drugom kliničkom ispitivanju analizom BD MAX MDR-TB (svibanj 2017. – ožujak 2018.) prikupljeno je ukupno 1.063 uzorka sukladnog sputuma u zemljama koje su poznate po visokoj učestalosti slučajeva TB-a i MDR-TB-a. Svaki je svježi uzorak sputuma bio podijeljen na dva (2) dijela. Jedan se dio trebao razgraditi metodom razgradnje NALC/NaOH⁷ (obrađen), a drugi je dio bio neobrađeni uzorak (bez razgradnje). Analiza BD MAX MDR-TB izvršena je na oba dijela. Stopa pozitivnosti za MTB izračunata je na 953 uzorka neobrađenog sputuma i 965 uzoraka obrađenog sputuma koji su bili sukladni s uzorkom i razinama BD MAX MDR-TB s rezultatom za prijavu (tablica 3). Stopa pozitivnosti za RIF izračunata je na 255 uzoraka neobrađenog sputuma i 236 uzoraka obrađenog sputuma koji su bili sukladni s uzorkom i razinama analize BD MAX MDR-TB s rezultatom za prijavu za RIF. Stopa pozitivnosti za INH izračunata je na 256 uzoraka neobrađenog sputuma i 233 uzorka obrađenog sputuma koji su sukladni s uzorkom i razinama analize BD MAX MDR-TB s rezultatom za prijavu za INH. Ti uzorci dobiveni su iz četiri zemlje.

Tablica 3: pozitivnost analize BD MAX MDR-TB na svježim uzorcima po zemlji podrijetla sputuma

Zemlja prikupljanja uzorka	Vrsta uzorka	Stopa pozitivnosti MAX		
		MTBC	RIF	INH
Indija	Neobrađeni sputum	42,3 % (52/123)	4,4 % (2/45)	9,3 % (4/43)
	Obrađeni sputum	43,5 % (54/124)	2,5 % (1/40)	10,0 % (4/40)
Peru	Neobrađeni sputum	49,6 % (125/252)	13,1 % (16/122)	15,4 % (19/123)
	Obrađeni sputum	49,0 % (124/253)	14,5 % (17/117)	14,2 % (16/113)
Južna Afrika	Neobrađeni sputum	10,4 % (33/318)	0,0 % (0/22)	0,0 % (0/23)
	Obrađeni sputum	12,1 % (39/322)	4,5 % (1/22)	5,0 % (1/20)
Uganda	Neobrađeni sputum	28,8 % (75/260)	3,0 % (2/66)	4,5 % (3/67)
	Obrađeni sputum	26,7 % (71/266)	3,5 % (2/57)	5,0 % (3/60)
Ukupno	Neobrađeni sputum	29,9 % (285/953)	7,8 % (20/255)	10,2 % (26/256)
	Obrađeni sputum	29,8 % (288/965)	8,9 % (21/236)	10,3 % (24/233)

Hipotetska pozitivna prediktivna vrijednost (PPV) i negativna prediktivna vrijednost (NPV) izračunate su i predstavljene u tablicama 4 – 6 za MTB, otpornost na RIF i otpornost na INH tim redom. Ti izračuni temelje se na hipotetskoj učestalosti i sveukupnoj osjetljivosti i specifičnosti koje su dobivene u usporedbi s referentnim metodama istraživanja.

Tablica 4: Hipotetske pozitivne i negativne prediktivne vrijednosti za *M. tuberculosis* prema vrsti sputuma, na svježim uzorcima

MTBC				PPV		NPV	
Vrsta uzorka MAX	Prevalencija	Ukupna osjetljivost	Ukupna specifičnost	Procjena	95 % IP	Procjena	95 % IP
Neobrađeni sputum	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 %)
Obrađeni sputum	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 %)

Tablica 5: Hipotetska pozitivna i negativna prediktivna vrijednost za otpornost bakterije *M. tuberculosis* na rifampicin (RIF) prema vrsti sputuma, na svježim uzorcima

RIF				PPV		NPV	
Vrsta uzorka MAX	Prevalencija	Ukupna osjetljivost	Ukupna specifičnost	Procjena	95 % IP	Procjena	95 % IP
Neobrađeni sputum	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 %)
Obrađeni sputum	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 %)

Tablica 6: Hipotetska pozitivna i negativna prediktivna vrijednost za rezistentnost bakterije *M. tuberculosis* na izoniazid (INH) prema vrsti sputuma, na svježim uzorcima

Vrsta uzorka MAX	INH			PPV		NPV	
	Prevalencija	Ukupna osjetljivost	Ukupna specifičnost	Procjena	95 % IP	Procjena	95 % IP
Neobrađeni sputum	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 %)
Obradeni sputum	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 %)

KARAKTERISTIKE SVOJSTAVA

Klinička svojstva

Karakteristike kliničkih svojstava analize BD MAX MDR-TB utvrđene su u istraživačkoj studiji na više lokacija. Studija je upotrebljavala prospektivno prikupljene i zamrznute uzorke dobivene od 761 pacijenta iz šest zemalja koje su poznate po visokoj incidenciji slučajeva TB-a i MDR-TB-a. Sudionici studije obuhvaćeni su ako se smatralo da imaju tuberkulozu (TB), ako su imali najmanje 18 godina te ako nisu primali terapiju protiv tuberkuloze ili ako su je primali manje od tri (3) dana tijekom proteklih šest (6) mjeseci. Zamrznuti uzorci poslani su u BD gdje su nasumice podijeljeni i poslani na dvije (2) lokacije, na kojima je svaki uzorak sputuma podijeljen na dva (2) dijela: jedan se dio razgradio metodom razgradnje NALC/NaOH⁷ (obrađeni), a drugi je dio bio neobrađeni uzorak (bez razgradnje). Ukupno su tri (3) lokacije provele referentnu metodu (RM) na obrađenom sputumu. Referentna metoda uključivala je fluorescentnu mikroskopiju (samo u svrhu stratifikacije), tekuću kulturu nakon koje slijedi testiranje osjetljivosti na lijekove (DST) te testiranje metodom umnožavanja nukleinskih kiselina (NAAT) Cepheid® Xpert MTB/RIF. Za MTB i RIF, kultura/DST ili test NAAT trebali su biti pozitivni da bi RM bio pozitivan. Obje metode trebale su biti negativne za dobivanje negativnog RM-a. Za INH je samo postupak kultura/DST bio RM. Dvije (2) druge lokacije provele su analizu BD MAX MDR-TB na obrađenim i neobrađenim dijelovima uzoraka. Ukupno je 761 pacijent dao uzorak sputuma. Uzorci su isključeni iz studije zbog neispravnog rukovanja uzorkom i nepravilne obrade, neprimjerene količine primljenog uzorka, izostanka odgovarajućih rezultata BD MAX te količine sputuma manje od 1,5 ml. Ukupno 643 uzorka neobrađenog sputuma i 678 uzoraka obrađenog sputuma prikupljenih od 686 pacijenata bilo je sukladno na razini analize BD MAX MDR-TB. Od tog broja, 596 uzoraka neobrađenog sputuma i 635 uzoraka obrađenog sputuma prikupljenih od 645 pacijenata imalo je sukladnu referentnu metodu te su bili uključeni u izračune karakteristika svojstava. U karakteristike svojstava uključeno je bilo ukupno 384 muškarca, 256 žena i 5 osoba čiji spol nije zabilježen. Uzorci koji su dali nesukladan ili nedostajući rezultat za RM ili nedostajući rezultat za BD MAX uklonjeni su iz izračuna kliničkih podataka. Svi su početni neprijavljeni rezultati za BD MAX ponovljeni.

Tablica 7 prikazuje sažetak osjetljivosti i specifičnosti prema vrsti uzorka i stanju razmaza za MTB. Tablice 8 i 9 prikazuju sažetke osjetljivosti i specifičnosti prema vrsti uzorka za otpornost na RIF i INH.

Tablica 7: osjetljivost i specifičnost za MTB na zamrznutim uzorcima u usporedbi s kompozitnim RM-om (kultura plus test NAAT)

	Neobrađeni sputum	Obrađeni sputum
Osjetljivost	98,3 %	99,2 %
Pozitivan razmaz	(229/233)	(245/247)
	(95,7 %, 99,3 %)	(97,1 %, 99,8 %)
Osjetljivost	88,5 %	90,3 %
Negativan razmaz	(131/148)	(139/154)
	(82,4 %, 92,7 %)	(84,6 %, 94,0 %)
Ukupna osjetljivost	94,5 %	95,8 %
	(360/381)	(384/401)
	(91,7 %, 96,4 %)	(93,3 %, 97,3 %)
Ukupna specifičnost	94,9 %	97,0 %
	(204/215)	(227/234)
	(91,1 %, 97,1 %)	(94,0 %, 98,5 %)

Od 360 stvarno pozitivnih rezultata na MTB dobivenih na neobrađenom sputumu, na njih 106 referentnu metodu za RIF nije bilo moguće procijeniti. Od 254 uzorka stvarno pozitivnih na MTB s RM-om za RIF pogodnim za procjenu, 15 uzoraka imalo je početni rezultat MTB nisko pozitivan, a njih 13 imalo je neprijavljivu rezistenciju na RIF. Nakon valjanog ponavljanja, 7 je uzoraka i dalje imalo rezultat MTB nisko pozitivan, a 4 su uzorka imala neprijavljivu rezistenciju na RIF.

Od 384 stvarno pozitivnih rezultata na MTB dobivenih na obrađenom sputumu, na njih 118 referentnu metodu za RIF nije bilo moguće procijeniti. Od 266 uzoraka stvarno pozitivnih na MTB s RM-om za RIF pogodnim za procjenu, 24 uzorka imala su početni rezultat MTB nisko pozitivan, a njih 11 imalo je neprijavljivu rezistenciju na RIF. Nakon valjanog ponavljanja, 11 je uzoraka i dalje imalo rezultat MTB nisko pozitivan, a 2 su uzorka imala neprijavljivu rezistenciju na RIF.

Tablica 8: ukupne karakteristike za RIF na zamrznutim uzorcima u usporedbi s kompozitnim RM-om (kultura/DST plus NAAT).

	Neobrađeni sputum	Obrađeni sputum
Ukupna osjetljivost	100 %	100 %
	(26/26)	(30/30)
	(87,1 %, 100 %)	(88,6 %, 100 %)
Ukupna specifičnost	100 %	99,1 %
	(206/206)	(214/216)
	(98,2 %, 100 %)	(96,7 %, 99,7 %)

Od 360 stvarno pozitivnih rezultata na MTB dobivenih na neobrađenom sputumu, na njih 107 referentnu metodu za INH nije bilo moguće procijeniti. Od 253 uzorka sa stvarno pozitivnim rezultatom za MTB i s RM-om za INH pogodnim za procjenu, 14 uzoraka imalo je početni rezultat MTB nisko pozitivan, a 2 su uzorka imala neprijavljivu rezistenciju na INH. Nakon valjanog ponavljanja, 7 je uzoraka i dalje imalo rezultat MTB nisko pozitivan, a 0 je uzoraka imalo neprijavljivu rezistenciju na INH.

Od 384 stvarno pozitivnih rezultata na MTB dobivenih na obrađenom sputumu, na njih 115 referentnu metodu za INH nije bilo moguće procijeniti. Od 269 uzoraka sa stvarno pozitivnim rezultatom za MTB i s RM-om za INH pogodnim za procjenu, 29 uzoraka imalo je početni rezultat MTB nisko pozitivan, a 3 su uzorka imala neprijavljivu rezistenciju na INH. Nakon valjanog ponavljanja, 15 je uzoraka i dalje imalo rezultat MTB nisko pozitivan, a 2 su uzorka imala neprijavljivu rezistenciju na INH.

Tablica 9: ukupne karakteristike za INH na zamrznutim uzorcima u usporedbi s RM-om (kultura/DST)

	Neobrađeni sputum	Obrađeni sputum
Ukupna osjetljivost	100 %	100 %
	(43/43)	(41/41)
	(91,8 %, 100 %)	(91,4 %, 100 %)
Ukupna specifičnost	100 %	100 %
	(199/199)	(209/209)
	(98,1 %, 100 %)	(98,2 %, 100 %)

Ukupno 643 uzorka neobrađenog sputuma i 678 uzoraka obrađenog sputuma temeljilo se na sukladnim uzorcima sputuma i rezultatima analize BD MAX MDR-TB. Početni su neprijavljivi rezultati analize BD MAX MDR-TB ponovljeni. Tablica 10 sažima stope neriješenih, neodređenih i nepotpunih MTB rezultata prema vrsti uzorka.

Tablica 10: stope za MTB UNR, IND, INC i kombinirane neprijavljive stope prema vrsti sputuma, na zamrznutim uzorcima

	MTB neriješen (UNR)		Neodređen (IND)		Nepotpun (INC)		Ukupan broj neprijavljivih uzoraka (UNR+IND+INC)	
Vrsta uzorka	Inicijalni (95 % IP)	Valjano ponavljanje (95 % IP)	Inicijalni (95 % IP)	Valjano ponavljanje (95 % IP)	Inicijalni (95 % IP)	Valjano ponavljanje (95 % IP)	Inicijalni (95 % IP)	Valjano ponavljanje (95 % IP)
Neobrađeni sputum	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 %)
Obrađeni sputum	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 %)

Karakteristike kliničkih svojstava testa BD MAX MDR-TB određene su drugom istraživačkom studijom na više lokacija. U studiji su upotrijebljeni prospektivno prikupljeni svježi uzorci iz četiri zemlje za koje se zna da imaju visoku incidenciju slučajeva TB-a i MDR-TB-a. Sudionici studije sudjelovali su u skupini za otkrivanje slučajeva ako se smatralo da imaju tuberkulozu (TB), ako su imali najmanje 18 godina te ako nisu primili terapiju protiv tuberkuloze ili ako su je primali manje od tri (3) dana tijekom proteklih šest (6) mjeseci. Sudionici studije sudjelovali su u skupini TB-a otpornog na lijekove ako se smatralo da imaju tuberkulozu (TB), ako su imali najmanje 18 godina te ako su zadovoljavali najmanje jedan od sljedećih kriterija: i) poznata plućna tuberkuloza sa sumnjom na neuspješno liječenje, ii) povijest TB-a otpornog na lijekove i terapija protiv TB-a tijekom tri mjeseca ili više, iii) mikrobiološki potvrđena plućna tuberkuloza sa zabilježenom rezistencijom na RIF i primanjem terapije protiv TB-a 31 dan ili manje.

Karakteristike svojstava za MTB određene su samo na temelju populacije skupine za otkrivanje slučajeva. Za određivanje karakteristika svojstava rezistencije na RIF i INH kombinirale su se obje populacije. Svaki svježi uzorak sputuma podijeljen je na dva (2) dijela: jedan se dio razgradio metodom razgradnje NALC/NaOH⁷ (obrađeni), a drugi je dio bio neobrađeni uzorak (bez razgradnje). Svaka od četiri (4) lokacije provela je analizu BD MAX MDR-TB na uzorcima obrađenog i neobrađenog sputuma i referentnu metodu (RM) na obrađenom sputumu. Referentna metoda uključivala je tekuću kulturu nakon koje slijedi testiranje osjetljivosti na lijekove (DST) te testiranje metodom umnožavanja nukleinskih kiselina (NAAT) Cepheid Xpert MTB/RIF. BD je proveo dvosmjerno sekvencioniranje regije gena *rpoB* radi potvrđivanja rezultata otkrivanja rezistencije na RIF dobivenih testom NAAT. Za MTB, kultura ili test NAAT trebali su biti pozitivni da bi RM bio pozitivan. Obje metode trebale su biti negativne za dobivanje negativnog RM-a. Za otpornost na RIF, DST ili test NAAT nakon kojeg je slijedilo dvosmjerno sekvencioniranje trebali su biti pozitivni da bi RM bio pozitivan. Obje metode trebale su biti negativne za dobivanje negativnog RM-a. Za INH je samo postupak kultura/DST bio RM. Neobrađeni i obrađeni uzorci obojeni su metodom Ziehl-Neelsen i bojom auramin O.

U studiji je sudjelovala 1.091 osoba u skupini za otkrivanje slučajeva, a 11 osoba u skupini za TB otporan na lijekove. Od ukupnog broja, prema kriterijima protokola, njih 1.076 bilo je sukladno u skupini za otkrivanje slučajeva, a njih 10 u skupini TB-a otpornog na lijekove. U skupini za otkrivanje slučajeva 1.053 pacijenta dalo je sukladan uzorak sputuma, a u skupini TB-a otpornog na lijekove njih 10. Uzorci su isključeni iz studije zbog neispravnog rukovanja uzorkom i njegove obrade, nedovoljne količine primljenog uzorka, izostanka odgovarajućih rezultata BD MAX te zbog toga što je uzorak bio prestar za testiranje. Ukupno 1.033 uzorka neobrađenog sputuma i 1.034 uzorka obrađenog sputuma bili su sukladni na razini analize BD MAX MDR-TB. Od tog broja, 889 uzorka neobrađenog sputuma i 899 uzorka obrađenog sputuma prikupljenih od 911 pacijenata bilo je uključeno u izračune karakteristika svojstava. U karakteristike svojstava uključeno je bilo četristo osamdeset i devet (489) muškaraca i četristo dvadeset i dvije (422) žene. Uzorci koji su dali nesukladan ili nedostajući rezultat za RM ili nedostajući rezultat za BD MAX uklonjeni su iz izračuna kliničkih podataka. Svi su početni neprijavljivi rezultati za BD MAX ponovljeni.

Tablica 11 sažima učestalost dobivenu za svaki cilj prema zemlji.

Tablica 11: učestalost MTB-a i rezistencije na RIF i INH u svježim uzorcima prema zemlji

Zemlja prikupljanja uzorka	Učestalost RM-a					
	MTB	RIF	INH	Otporno samo na RIF (osjetljivo na INH) ^a	Otporno samo na INH (osjetljivo na RIF) ^a	Otporno na RIF i otporno na INH ^a
Indija	43,6 % (58/133)	4,9 % (2/41)	14,0 % (7/50)	0,0 % (0/41)	9,8 % (4/41)	4,9 % (2/41)
Peru	56,6 % (151/267)	11,5 % (15/130)	15,6 % (22/141)	3,1 % (4/129)	7,8 % (10/129)	7,8 % (10/129)
Južna Afrika	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)
Ukupno	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 Nazivnik su svi uzorci koji imaju prijavljiv POS/NEG rezultat kako za kompozitni RM za RIF (kultura/DST plus test NAAT i dvosmjerno sekvencioniranje), tako i za RM za INH (kultura/DST).

Tablice 12 i 13 sažimaju karakteristike MTB-a stratificiranog metodama bojenja bojom auramin O i Ziehl-Neelsen, kada je ta metoda provedena na neobrađenom i obrađenom sputumu.

Tablica 12: Osjetljivost na MTB u svježim uzorcima stratificiranim metodama bojenja bojom auramin O i Ziehl-Neelsen, provedeno na neobrađenom sputumu

Metode bojenja izvršene na neobrađenom sputumu	Metoda bojenja bojom auramin O ^a		Metoda Ziehl-Neelsen ^b	
	Analiza BD MAX MDR-TB izvršena je na		Analiza BD MAX MDR-TB izvršena je na	
	Neobrađeni sputum	Obrađeni sputum	Neobrađeni sputum	Obrađeni sputum
	Postotak (95 % IP)	Postotak (95 % IP)	Postotak (95 % IP)	Postotak (95 % IP)
Osjetljivost razmaza pozitivna	100 % (178/178) (97,9 %, 100 %)	100 % (176/176) (97,9 %, 100 %)	100 % (149/149) (97,5 %, 100 %)	100 % (147/147) (97,5 %, 100 %)
Osjetljivost razmaza negativna	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 %)

^aRezultati razmaza nisu bili dostupni za 3 uzorka s negativnom referentnom metodom.

^bRezultati razmaza nisu bili dostupni za 2 uzorka s negativnom referentnom metodom.

Tablica 13: Osjetljivost na MTB u svježim uzorcima stratificiranim metodama bojenja bojom auramin O i Ziehl-Neelsen, provedeno na obrađenom sputumu

Metode bojenja izvršene na obrađenom sputumu	Metoda bojenja bojom auramin O ^a		Metoda Ziehl-Neelsen ^b	
	Analiza BD MAX MDR-TB izvršena je na		Analiza BD MAX MDR-TB izvršena je na	
	Neobrađeni sputum	Obrađeni sputum	Neobrađeni sputum	Obrađeni sputum
	Postotak (95 % IP)	Postotak (95 % IP)	Postotak (95 % IP)	Postotak (95 % IP)
Osjetljivost razmaza pozitivna	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 %)
Osjetljivost razmaza negativna	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 %)

^aRezultati razmaza nisu bili dostupni za 2 uzorka s negativnom referentnom metodom.

^bRezultati razmaza nisu bili dostupni za 3 uzorka s negativnom referentnom metodom.

Tablica 14 sažima osjetljivost i specifičnost prema vrsti uzorka i mjestima prikupljanja uzoraka za MTB. Tablice 15 i 16 prikazuju sažetke osjetljivosti i specifičnosti prema vrsti uzorka za otpornost na RIF i INH.

Tablica 14: Osjetljivost i specifičnost za MTB na svježim uzorcima u usporedbi s kompozitnim RM-om (kultura plus test NAAT)

Lokacija	Neobrađeni sputum		Obrađeni sputum	
	Osjetljivost	Specifičnost	Osjetljivost	Specifičnost
	Postotak (95 % IP)	Postotak (95 % IP)	Postotak (95 % IP)	Postotak (95 % IP)
Južna Afrika	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 %)
Indija	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 %)
Peru	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 %)
Ukupno	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 %)

Od 275 plus 3 stvarno pozitivna rezultata na MTB na uzorcima neobrađenog sputuma iz skupine za otkrivanje slučajeva i rezistentne skupine, 44 uzorka imala su kompozitnu referentnu metodu koju nije moguće procijeniti. Od 234 uzorka stvarno pozitivna na MTB i s RM-om za RIF pogodnim za procjenu, 16 je uzoraka imalo početni rezultat MTB nisko pozitivan, a 3 su uzorka imala neprijavljivu otpornost na RIF. Nakon valjanog ponavljanja, 9 je uzoraka i dalje imalo rezultat MTB nisko pozitivan, a 2 su uzorka imala neprijavljivu rezistenciju na RIF.

Od 263 plus 3 stvarno pozitivna rezultata na MTB na uzorcima obrađenog sputuma iz skupine za otkrivanje slučajeva i rezistentne skupine, za 36 uzoraka kompozitnu referentnu metodu nije bilo moguće procijeniti. Od 230 uzoraka stvarno pozitivnih na MTB i s RM-om za RIF pogodnim za procjenu, 28 je uzoraka imalo početni rezultat MTB nisko pozitivan, a 4 su uzorka imala neprijavljivu otpornost na RIF. Nakon valjanog ponavljanja, 13 je uzoraka i dalje imalo rezultat MTB nisko pozitivan, a 1 je uzorak imao neprijavljivu rezistenciju na RIF.

Tablica 15: Ukupne karakteristike za RIF na svježim uzorcima u usporedbi s kompozitnim RM-om, kultura/DST plus test NAAT i dvosmjerno sekvencioniranje

	Neobrađeni sputum	Obrađeni sputum
Ukupna osjetljivost	94,1 % (16/17) ^a (73 %, 99 %)	93,8 % (15/16) ^b (71,7 %, 98,9 %)
Ukupna specifičnost	98,5 % (202/205) (95,8 %, 99,5 %)	97,4 % (191/196) (94,2 %, 98,9 %)

^aOd 17 uzoraka rezistentnih na RIF, 7 je bilo osjetljivo na DST RIF ili ih nije bilo moguće procijeniti, no kod metode Xpert MTB/RIF otkrivena je rezistencija na RIF, a dvosmjerno sekvencioniranje potvrdilo je rezistenciju. Otkrivene rezistencije bile su L511P, D516Y, D516F, H526N i L533P.

^bOd 16 uzoraka rezistentnih na RIF, 6 je uzoraka bilo osjetljivo na DST RIF, no kod metode Xpert MTB/RIF otkrivena je rezistencija na RIF, a dvosmjerno sekvencioniranje potvrdilo je rezistenciju. Otkrivene rezistencije bile su L511P, D516Y, D516F i L533P.

Od 275 plus 3 stvarno pozitivna rezultata na MTBC na uzorcima neobrađenog sputuma iz skupine za otkrivanje slučajeva i rezistentne skupine, 26 uzoraka imalo je referentnu metodu za INH koju nije moguće procijeniti. Od 252 uzorka stvarno pozitivna na MTBC i s RM-om za INH pogodnim za procjenu, 22 uzorka imala su početni rezultat MTBC nisko pozitivan, a 8 je uzoraka imalo neprijavljivu rezistenciju na INH. Nakon valjanog ponavljanja, 17 je uzoraka i dalje imalo rezultat MTBC nisko pozitivan, a 2 su uzorka imala neprijavljivu rezistenciju na INH.

Od 263 plus 3 stvarno pozitivna rezultata na MTB na uzorcima obrađenog sputuma iz skupine za otkrivanje slučajeva i rezistentne skupine, 23 uzorka imala su referentnu metodu za INH koju nije moguće procijeniti. Od 243 uzorka stvarno pozitivna na MTB i s RM-om za INH pogodnim za procjenu, 35 uzoraka imalo je početni rezultat MTB nisko pozitivan, a 12 je uzoraka imalo neprijavljivu rezistenciju na INH. Nakon valjanog ponavljanja, 19 je uzoraka i dalje imalo rezultat MTB nisko pozitivan, a 10 je uzoraka imalo neprijavljivu rezistenciju na INH.

Tablica 16: Ukupne karakteristike za INH na svježim uzorcima u usporedbi s RM-om (kultura/DST)

	Neobrađeni sputum	Obrađeni sputum
Ukupna osjetljivost	81,5 % (22/27) (63,3 %, 91,8 %)	84 % (21/25) (65,3 %, 93,6 %)
Ukupna specifičnost	100 % (205/205) (98,2 %, 100 %)	100 % (188/188) (98 %, 100 %)

Ukupno 1.033 uzorka neobrađenog sputuma i 1.034 uzorka obrađenog sputuma temeljilo se na sukladnim uzorcima sputuma i rezultatima analize BD MAX MDR-TB. Početni su neprijavljivi rezultati analize BD MAX MDR-TB ponovljeni. Tablica 17 sažima stope neriješenih, neodređenih i nepotpunih MTB rezultata prema vrsti uzorka.

Tablica 17: Stope za MTB UNR, IND, INC i ukupna stopa neprijavljivih rezultata prema vrsti sputuma na svježim uzorcima

	MTB neriješen (UNR)		Neodređen (IND)		Nepotpun (INC)		Ukupan broj neprijavljivih uzoraka (UNR+IND+INC)	
Vrsta uzorka	Inicijalni (95 % IP)	Valjano ponavljanje (95 % IP)	Inicijalni (95 % IP)	Valjano ponavljanje (95 % IP)	Inicijalni (95 % IP)	Valjano ponavljanje (95 % IP)	Inicijalni (95 % IP)	Valjano ponavljanje (95 % IP)
Neobrađeni sputum	3,8 % (39/1033) (2,8 %, 5,1 %)	1,0 % (10/1020) (0,5 %, 1,8 %)	2,8 % (29/1033) (2,0 %, 4,0 %)	0,6 % (6/1020) (0,3 %, 1,3 %)	0,6 % (6/1033) (0,3 %, 1,3 %)	0,6 % (6/1020) (0,3 %, 1,3 %)	7,2 % (74/1033) (5,7 %, 8,9 %)	2,2 % (22/1020) (1,4 %, 3,2 %)
Obrađeni sputum	2,7 % (28/1034) (1,9 %, 3,9 %)	0,3 % (3/1022) (0,1 %, 0,9 %)	1,3 % (13/1034) (0,7 %, 2,1 %)	0,1 % (1/1022) (0,0 %, 0,6 %)	0,7 % (7/1034) (0,3 %, 1,4 %)	0,4 % (4/1022) (0,2 %, 1,0 %)	4,6 % (48/1034) (3,5 %, 6,1 %)	0,8 % (8/1022) (0,4 %, 1,5 %)

Analitička uključenost

U ovo ispitivanje uključene su različite vrste ciljnih sojeva za analizu BD MAX TB-MDR. Kriteriji za odabir sojeva uključivali su izolate osjetljive i rezistentne na rifampicin i izoniazid iz različitih geografskih lokacija. U ovu studiju uključena je kombinacija kvantificiranih organizama, staničnih lizata izdvojenih termalnim liziranjem (pribavljenih iz javne zbirke Belgian Coordinated Collections of Microorganisms (Belgijska koordinirana zbirka mikroorganizama) / Institute of Tropical Medicine (Institut za tropsku medicinu) (BCCM/ITM)) i genomske DNK. Na četrdeset četiri (44) dobro okarakterizirana soja *M. tuberculosis* testirana je rezistencija na RIF/INH analizom BD MAX MDR-TB (tablica 18 i 19). Sojevi testirani na inkluziju vrste kompleksa *M. tuberculosis* su: *M. africanum*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. cannetti*, *M. microti*, *M. pinnipedii* (tablica 20).

Tablica 18: Testiranje rezistencije analizom BD MAX MDR-TB sa staničnim lizatima izdvojenim termalnim liziranjem

ID soja	Podrijetlo	Rezistencija na rifampicin ^a		Rezistencija na izoniazid ^b			Rezultat analize BD MAX MDR-TB
		R/S (rez./osjet.)	Kodon RRDR	R/S (rez./osjet.)	kodon katG	inhApr nukleotid	
041679	Nepal	R	Ser512Gly Ser531Trp	R	Ser315Thr	WT	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene
971524	Bangladeš	R	Met515Ile Asp516Tyr	S	WT	WT	Otkrivena rezistencija na RIF
980166	Bangladeš	R	Ser509Arg His526Arg	S	WT	WT	Otkrivena rezistencija na RIF
970472	Bangladeš	S	WT	R	Ser315Ile	WT	Otkrivena rezistencija na INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene
041204	Južna Koreja	R	Asp516Val	R	WT	C-15T	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Mutacije gena <i>katG</i> NISU otkrivene Otkrivene mutacije gena <i>inhApr</i>
041207	Južna Koreja	R	Ser531Leu	R	WT	G-9A	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Mutacije gena <i>katG</i> NISU otkrivene Otkrivene mutacije gena <i>inhApr</i>
041226	Južna Koreja	R	Leu511 Pro	R	Ser315Thr	WT	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> <i>inhApr</i> NIJE otkriven
041203	Južna Koreja	S	WT	R	Ser315Thr	WT	Otkrivena rezistencija na INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> <i>inhApr</i> NIJE otkriven
042763	Filipini	R	Ser531Leu	R	WT	C-15T	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Mutacije gena <i>katG</i> NISU otkrivene Otkrivene mutacije gena <i>inhApr</i>
000440	Kazahstan	R	Ser531Trp	R	Ser315Thr	WT	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> <i>inhApr</i> NIJE otkriven
020115	Gruzija	S	WT	R	WT	C-15T	Otkrivena rezistencija na INH Mutacije gena <i>katG</i> NISU otkrivene Otkrivene mutacije gena <i>inhApr</i>
042928	Španjolska	S	WT	R	Ser315Asn	WT	Otkrivena rezistencija na INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene
041668	Njemačka	S	WT	R	Ser315Thr	C-15T	Otkrivena rezistencija na INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Otkrivene mutacije gena <i>inhApr</i>
992092	Francuska	R	Ser531Leu	R	Ser315Thr	WT	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene
041655	Bolivija	R	Ser531Leu	R	Ser315Asn	WT	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene
041290	Brazil	S	WT	R	Ser315Thr	WT	Otkrivena rezistencija na INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene

ID soja	Podrijetlo	Rezistencija na rifampicin ^a		Rezistencija na izoniazid ^b			Rezultat analize BD MAX MDR-TB
		R/S (rez./osjet.)	Kodon RRDR	R/S (rez./osjet.)	kodon katG	inhApr nukleotid	
041281	Brazil	R	Asp516Val	S	Ser315Ser	WT	Otkrivena rezistencija na RIF i INH ^c Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene
041289	Brazil	R	His526Arg	R	Ser315Thr	C-15T	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Otkrivene mutacije gena <i>inhApr</i>
042611	Peru	R	His526Arg	R	Ser315Asn	WT	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene
040850	Južna Afrika	R	Leu533Pro	R	Ser315Thr	T-8G	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Otkrivene mutacije gena <i>inhApr</i>
041086	Ruanda	R	Ser531Leu	R	Ser315Thr	C-15T	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Otkrivene mutacije gena <i>inhApr</i>
991451	Kongo	R	Asp516Tyr	R	Ser315Thr	WT	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene
021555	Burundi	S	WT	R	Ser315Thr	WT	Otkrivena rezistencija na INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene

^a R = rezistentan na rifampicin, S = osjetljiv na rifampicin, WT = divlji tip, bez zamjene nukleotida ili kodona

^b R = rezistentan na izoniazid, S = osjetljiv na izoniazid, WT = divlji tip, bez zamjene nukleotida ili kodona

^c Fenotipskom metodom utvrđena osjetljivost na INH, no sekvenciranjem DNK i analizom BD MAX MDR-TB utvrđena rezistencija na INH

Tablica 19: Testiranje rezistencije analizom BD MAXTM MDR-TB s izolatima repozitorija soja vrste *Mycobacterium* tvrtke BD

ID soja	Rezistencija na rifampicin		Rezistencija na izoniazid			Rezultat analize BD MAX MDR-TB
	R/S (rez./osjet.)	Kodon RRDR	R/S (rez./osjet.)	Kodon <i>katG</i>	<i>inhApr</i> nukleotid	
TB006	R	Gln513Lys	R	WT	C-15T	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Mutacije gena <i>katG</i> NISU otkrivene Otkrivene mutacije gena <i>inhApr</i>
TB007	R	Gln513Lys	R	WT	C-15T	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Mutacije gena <i>katG</i> NISU otkrivene Otkrivene mutacije gena <i>inhApr</i>
TB009	R	Gln513Lys	S	WT	WT	Otkrivena rezistencija na RIF
TB010	R	Ser531Leu	R	Ser315Thr	WT	Otkrivena rezistencija na RIF ^c i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene
TB012 ^a	R	His526Tyr	R	Ser315Thr	WT	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene
TB022	R	His526Tyr	S	WT	WT	Otkrivena rezistencija na RIF
TB023	R	Asp516Tyr	R	Ser315Thr	WT	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene
TB028	R	His526Tyr	R	Ser315Thr	C-15T	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Otkrivene mutacije gena <i>inhApr</i>
TB037	R	Asp516Val	R	Ser315Thr	WT	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene
TB041	R	His526Asp	S	WT	WT	Otkrivena rezistencija na RIF
TB047	R	brisanje kodona 519 (AAC)	S	WT	WT	Otkrivena rezistencija na RIF

ID soja	Rezistencija na rifampicin		Rezistencija na izoniazid			Rezultat analize BD MAX MDR-TB
	R/S (rez./osjet.)	Kodon RRDR	R/S (rez./osjet.)	Kodon <i>katG</i>	<i>inhApr</i> nukleotid	
TB049	R	Asp516Val	S	WT	WT	Otkrivena rezistencija na RIF, neprijavljiva rezistencija na INH ^b
TB053	R	Ser531Leu	R	Ser315Thr	WT	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene
TB058	R	Asp516Val	R	Ser315Thr	WT	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene
TB059	R	His526Asp	R	Ser315Thr	WT	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene
TB062	R	His526Arg	S	WT	WT	Otkrivena rezistencija na RIF
TB063	R	Gln513Glu	R	Ser315Thr	WT	Otkrivena rezistencija na RIF i INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene
TB094	R	Leu511Pro Ser512Thr	S	WT	WT	Otkrivena rezistencija na RIF
TB112	R	His526Leu	R	Ser315Thr	WT	Otkrivena rezistencija na RIF Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene
TB121	S	WT	R	Ser315Asn	C-15T	Otkrivena rezistencija na INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Otkrivene mutacije gena <i>inhApr</i>
TB123	S	WT	R	Ser315Thr	WT	Otkrivena rezistencija na INH Otkrivene mutacije gena <i>katG</i> Mutacije gena <i>inhApr</i> NISU otkrivene

^a Genomska DNK

^b Fenotipskom metodom utvrđena osjetljivost na INH, no sekvenciranjem DNK i analizom BD MAX MDR-TB utvrđena je neprijavljiva rezistencija na INH

^c 20 % ponovljenih testova imali su neprijavljiv rezultat za RIF za izolat TB010 pri testiranoj koncentraciji. Mutacija Ser531Leu uspješno je otkrivena u izolatu TB053, pa stoga TB010 nije testiran pri višim koncentracijama.

Tablica 20: Uključivost vrste *M. tuberculosis*

Organizam MTB kompleksa	ID soja
<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

^a Stanični lizat izdvojen termalnim liziranjem

^b Genomska DNK

Analitička osjetljivost

Analitička osjetljivost (granica otkrivanja ili LoD) za analizu BD MAX MDR-TB utvrđena je na sljedeći način: Izolati organizma BCG (Bacillus Calmette-Guérin) vrste *M. tuberculosis* i *M. bovis* pripremljeni su i kvantificirani prije uključenja u ovu studiju. Organizmi su preneseni u epruvetu s uzorkom koja je već sadržavala sputum obrađen otopinom STR ili talog sputuma koji je unaprijed određen kao negativan za sve ciljeve utvrđene pomoću analize BD MAX MDR-TB. Procijenjena je općeprihvaćena granica detekcije (LoD) za svaki ispitani organizam s minimalno 36 replika po vrsti uzorka (sputum ili talog sputuma), pomoću 3 različite proizvodne serije analize BD MAX MDR-TB. Granica opažanja (LoD) za određene organizme potvrđena je ispitivanjem najmanje 20 dodatnih replika pri određenoj koncentraciji za granicu opažanja (LoD). Analitička osjetljivost (LoD) definirana kao najniža koncentracija pri kojoj se očekuje da će 95 % ili više svih replika dati pozitivan rezultat testa (pogledajte tablicu 21).

Tablica 21: Granica detekcije analize BD MAX MDR-TB

Mikroorganizam (soj)	Utvrđena granica detekcije (LoD)	Sputum (CFU/ml)	Talog sputuma (CFU/ml)
<i>M. bovis</i> (BCG)	MTBC	0,5	20
	Rezistencija	3,75	
<i>M. tuberculosis</i> (H37Rv)	MTBC	0,25	
	Rezistencija	6,0	

Analitička specifičnost (križna reaktivnost i ekskluzivnost)

Analiza BD MAX MDR-TB izvedena je na uzorcima koji su sadržavali filogenetski povezane vrste i druge organizme (bakterije, viruse i kvasac) za koje postoji velika vjerojatnost da se pronađu u uzorcima sputuma. Bakterijske stanice i gljivice testirane su u epruveti s puferom za uzorak pri $\geq 1 \times 10^6$ stanica/ml ili CFU/ml, a *Chlamydia* pri $>1 \times 10^6$ EB/ml, u ljudskom sputumu tretiranom otopinom STR. Vrste virusa, bakterija ili kvasaca koje nije lako prikupiti podvrgnute su analizi *in silico* sa svakim ciljnim sojem analize MDR-TB. Ukupno je ispitano 114 organizama koji su navedeni u tablici 22. Organizmi podvrgnuti analizi *in silico* navedeni su u tablici 23. Svi ispitani bakterijski sojevi i kvasci dali su negativne rezultate analize BD MAX MDR-TB.

Tablica 22: rezultati specifičnosti analize BD MAX MDR-TB (bakterije, gljivice i virusi)

Organizam		
<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Escherichia coli</i> koji proizvodi 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 gastrii</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 malmoeense</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>

Organizam	
<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>

Tablica 23: Analiza *in-silico* BD MAX MDR-TB

Organizam	
Adenovirus	<i>Moraxella catarrhalis</i>
Virus humane imunodeficijencije	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Ljudski virus influence (tip A)	<i>Mycobacterium abscessus</i>
Ljudski virus influence (tip B)	<i>Mycobacterium flavescens</i>
Humani metapneumovirus	<i>Mycobacterium kumamotoense</i>
Ljudski virus parainfluence tipa 1	<i>Mycobacterium leprae</i>
Ljudski virus parainfluence tipa 2	<i>Mycobacterium obuense</i> ^a
Ljudski virus parainfluence tipa 3	<i>M. shimoidei</i> ^a
Ljudski virus parainfluence tipa 4	<i>Nocardia farcinica</i>
Virus mumpsa	<i>Nocardia brasiliensis</i>
Respiratorni sincicijski virus	<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>
Rinovirus	<i>Penicillium</i> spp.
Virus rubeole	<i>Rhizopus</i> spp.
Virus rubeole	<i>Scedosporium</i> spp.
Varicella Zoster virus	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Streptomyces anulatus</i>
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	<i>Tsukamurella</i> spp.
<i>Histoplasma capsulatum</i>	

^aPrimeri potrebni za amplifikaciju ciljane DNK u vrstama *M. obuense* i *M. shimoidei* također imaju nekoliko neslaganja baznih parova, smanjujući tako učinkovitost amplifikacije tih ciljeva.

Tvari koje interferiraju

Trideset četiri (34) biološke i kemijske tvari koje mogu povremeno biti prisutne u ljudskom sputumu procijenjene su zbog moguće interferencije s analizom BD MAX MDR-TB. Tvari su testirane pri razinama opisanim u tablici 24 u nastavku, u prisutnosti i odsutnosti organizma BCG vrste *M. bovis* pri 2x MTBC LoD. Od 34 testirane tvari, samo je jedna tvar, 5-postotni mucin, pokazala inhibiciju analize. Kada je mucin razrijeđen na koncentraciju od 1,5 %, inhibicija više nije primijećena. Na rezultatima ostalih testiranih tvari nije zamijećena nikakva druga prijavljiva interferencija (pogledajte tablicu 24).

Tablica 24: Endogene i egzogene tvari testirane analizom BD MAX MDR-TB

Tvar	Rezultat	Tvar	Rezultat
Lidokain (12 µg/ml)	NI	Fenilefrin (50 % v/v)	NI
Mupirocin (5 % w/v)	NI	Oksimetazolin (20 % v/v)	NI
Streptomycin (25 µg/ml)	NI	Natrijev klorid u spreju za nos (100 %)	NI
Zanamivir (10 mg/ml)	NI	NaCl (5 % w/v)	NI
Ljudska krv (40 % v/v)	NI	Benzokain (5 % w/v)	NI
Želučana kiselina (100 %)	NI	Gvaifenezin (5 mg/ml)	NI
Ljudska DNK (1,0E+6 stanica/ml)	NI	Cetilpiridinijev klorid (0,5 %)	NI
Ljudski leukociti (100-postotni leukocitno-trombocitni međusloj)	NI	Nikotin (4 µg/ml)	NI
Mucin (5 %)	I ^a	Tobramicin (24 µg/ml)	NI
Listerin (20 % v/v)	NI	Amoksisilin (75,2 µg/ml)	NI
Epinefrin (1 mg/ml)	NI	Levofloksacin (5 mg/ml)	NI

Tvar	Rezultat	Tvar	Rezultat
Ulje čajevca (1 % v/v)	NI	Pentamidin (300 ng/ml)	NI
Kanadska žutika (100 %)	NI	Izoniazid (50 µg/ml)	NI
Albuterol sulfat (100 µg/ml)	NI	Rifampicin (120 µg/ml)	NI
Budezonid (12,8 µg/ml)	NI	Pirazinamid (500 µg/ml)	NI
Flutikazon (5 µg/ml)	NI	Etambutol (60 µg/ml)	NI
Zicam (1 vatirani štapić / 1,67 ml uzorka sputuma)	NI	Streptomycin (25 µg/ml)	NI

NI: nema prijavljive interferencije s analizom BD MAX MDR-TB.

I: prijavljiva interferencija s analizom BD MAX MDR-TB.

^a1,5 % w/v je maksimalna koncentracija gdje interferencija nije zamijećena.

Kombinirana infektivno-kompetitivna interferencija

Ispitivanje kombinirane infektivne/kompetitivne interferencije osmišljeno je da ocijeni sposobnost analize BD MAX MDR-TB da otkrije nisko pozitivne rezultate u prisutnosti organizama netuberkulozne mikobakterije (NTM) koji mogu biti prisutni u ljudskom sputumu. Četiri (4) organizma testirana su u visokoj koncentraciji (1×10^8 stanica/ml sputuma) pomiješanoj s organizmom BCG vrste *M. bovis* pri 2x MTBC LoD. Testirani organizmi su *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii* i *M. malmoeense*. MTBC uspješno je otkriven analizom BD MAX MDR-TB kada je kombiniran sa simuliranim pripravcima kombiniranih infekcija u visokoj ciljanoj koncentraciji.

Preciznost

Preciznost unutar laboratorija procijenjena je za analizu BD MAX MDR-TB na jednoj (1) lokaciji. Testiranje je provedeno tijekom 12 dana s 2 testa svakoga dana (2 rukovatelja po jedan test), za ukupno 24 testa. Svaki je panel sadržavao divlji tip soja *M. tuberculosis* (osjetljiv na RIF i INH) i bio je pripremljen u neobrađenoj matrici sputuma. Sljedeće su koncentracije korištene kao vršne razine za ciljni organizam sadržan u svakom od uzoraka panela:

- umjereno pozitivna rezistencija (UP): ≥ 2 i ≤ 3 x LoD
- umjereno pozitivan MTB (UP): ≥ 2 i ≤ 3 x LoD
- nisko pozitivna rezistencija (NP): ≥ 1 i < 2 x LoD
- nisko pozitivan MTB (NP): ≥ 1 i < 2 x LoD
- stvarno negativno (SN): negativni uzorak (nema cilja).

Rezultati ispitivanja preciznosti za uzorke s rezultatima TN (stvarno negativno), Resistance MP (umjereno pozitivna rezistencija), MTB MP (umjereno pozitivan MTB) i Resistance MP (umjereno pozitivna rezistencija) pokazali su 100-postotno slaganje (tablica 25). Rezultati ispitivanja preciznosti za uzorke s rezultatom NP rezistencija pokazali su slaganje od 98,6 %. Svi početno neprijavljivi rezultati, osim jednoga, ponovljeni su u skladu s uputama na letku u pakiranju. Uzorci koji su početno davali rezultat <MTB Low POS> (nisko pozitivan MTB) nakon ponavljanja dali su očekivani rezultat.

Tablica 25: rezultati ispitivanja preciznosti upotrebom jedne serije analize BD MAX MDR-TB

Kategorija	Slaganje s očekivanim rezultatima	
	<i>M. tuberculosis</i> (95 % IP)	Rezistencija (95 % IP)
UP	100 % 72/72 (94,9 – 100,0)	100 % 72/72 (94,9 – 100,0)
NP	100 % 72/72 (94,9 – 100,0)	98,6 % 70/71 (92,4 – 99,8)
SN ^a	100 % 72/72 (94,9 – 100,0)	100 % 72/72 (94,9 – 100,0)

^a Za kategoriju stvarno negativni (SN) prijavljeno podudaranje pokazuje postotak negativnih rezultata.

Ponovljivost

Ispitivanje ponovljivosti između instrumenata provedeno je pomoću istih prethodno opisanih panela za ispitivanje preciznosti.

Uzorci u svakoj kategoriji trostruko su testirani tijekom pet (5) različitih dana, pri čemu su dva (2) različita tehnologa vršila testiranje na tri (3) različita instrumenta koristeći (jednu) 1 seriju reagensa.

Za ponovljivost između instrumenata ukupan postotak slaganja iznosio je 100 % za rezultate UP MTB, NP MTB, UP rezistencija i SN. Za rezultat NP rezistencija ukupan postotak slaganja iznosio je 97,8 % (tablica 26). Kvantitativna ponovljivost po lokacijama i kategorijama uzoraka predstavljena je u nastavku, u tablici 27.

Tablica 26: rezultati ispitivanja ponovljivosti između instrumenata upotrebom jedne serije analize BD MAX MDR-TB

Kategorija	1. instrument	2. instrument	3. instrument	Ukupno	
				Slaganje	95 % IP
SN	100 % (30/30)	100 % (30/30)	100 % (30/30)	100 % (90/90)	(95,9 – 100,0)
NP MTB	100 % (30/30)	100 % (30/30)	100 % (30/30)	100 % (90/90)	(95,9 – 100,0)
NP rezistencija	100 % (30/30)	96,6 % (28/29)	96,7 % (29/30)	97,8 % (87/89)	(92,2 – 99,4)
UP MTB	100 % (30/30)	100 % (30/30)	100 % (30/30)	100 % (90/90)	(95,9 – 100,0)
UP rezistencija	100 % (30/30)	100 % (30/30)	100 % (30/30)	100 % (90/90)	(95,9 – 100,0)

Tablica 27: ukupni rezultati numeričke vrijednosti praga ciklusa (CT) na kojoj se temelji ispitivanje ponovljivosti između instrumenata

Varijabla	Kategorija	Slaganje/ N	Srednja vrijed- nost	U jednoj obradi		Između obrada u jednom danu		Između dana		Između instrumenata		Ukupno	
				SD	% KV	SD	%KV	SD	%KV	SD	% KV	SD	% KV
Vrijednost praga ciklusa (MTB1)	UP	59/90	38,6	0,81	2,1	0,00	0,0	0,21	0,6	0,00	0,0	0,84	2,2
	NP	52/90	38,5	0,88	2,3	0,38	1,0	0,00	0,0	0,18	0,5	0,98	2,5
Vrijednost praga ciklusa (MTB2)	UP	90/90	35,8	0,70	1,9	0,00	0,0	0,00	0,0	0,12	0,3	0,71	2,0
	NP	90/90	36,1	0,74	2,1	0,00	0,0	0,06	0,2	0,29	0,8	0,80	2,2

NAPOMENA: prikazane vrijednosti dobivene su za cilj u uzorcima čiji je rezultat bio MTB Detected (otkriven MTB).

Za ispitivanje ponovljivosti između serija, u svakoj kategoriji uzoraka testirane su tri replike iz tri serije reagensa na jednom instrumentu, pri čemu je tijekom pet različitih dana provedeno 2 testa po danu. Upotrijebljeni paneli isti su kao oni opisani u prethodnom odjeljku

Preciznost. Rezultati dobiveni za 5 dana ispitivanja između instrumenata obuhvaćeni su u podacima za jednu seriju reagensa u ispitivanju ponovljivosti između serija. Za ponovljivost između serija ukupan postotak slaganja redom je iznosio 98,9 % za rezultate UP MTB, NP MTB i UP rezistencija, 96,6 % za NP rezistencija i 100 % za SN (tablica 28).

Tablica 28: rezultati ispitivanja ponovljivosti između serija upotrebom tri serije analize BD MAX MDR-TB

Kategorija	Serija 1	Serija 2	Serija 3	Ukupno	
				Slaganje	95 % IP
SN	100 % (30/30)	100 % (30/30)	100 % (30/30)	100 % (90/90)	(95,9 %, 100 %)
NP MTB	100 % (30/30)	100 % (30/30)	96,7 % (29/30)	98,9 % (89/90)	(94,0 %, 99,8 %)
NP rezistencija	96,6 % (28/29)	96,7 % (29/30)	96,7 % (29/30)	96,6 % (86/89)	(90,6 %, 98,8 %)
UP MTB	100 % (30/30)	100 % (30/30)	96,7 % (29/30)	98,9 % (89/90)	(94,0 %, 99,8 %)
UP rezistencija	100 % (30/30)	96,7 % (29/30)	100 % (30/30)	98,9 % (89/90)	(94,0 %, 99,8 %)

Prijenos i križna kontaminacija

Provedeno je ispitivanje radi utvrđivanja prenosivosti unutar i između testova tijekom obrade uzoraka visoke koncentracije bakterije MTBC u analizi BD MAX MDR-TB. Pozitivni panel sastojao se od organizma MTBC dodanog u sputum tretiran otopinom STR pri koncentraciji od 1×10^6 CFU/ml. Negativni članovi panela nisu sadržavali nijedan organizam MTBC. Testirano je dvanaest (12) replika visoko pozitivnog člana panela i 12 replika negativnog člana panela u svakom ciklusu testa uz izmjenu negativnih i pozitivnih uzoraka. Ukupno 9 ciklusa testova od kojih svaki sadrži 24 uzorka provedeno je na više instrumenata. Od 108 negativnih uzoraka koji su bili testirani u ovom ispitivanju, jedan je uzorak dao pozitivan rezultat.

REFERENCE

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).

Povijest izmjena

Revizija	Datum	Sažetak izmjena
(08)	2019-06	Ažuriran R/S za ID soja TB112 u tablici 19. Ažurirana granica otkrivanja za sputum (CFU/ml) za <i>M. tuberculosis</i> (H37Rv) MTBC u tablici 21.
(09)	2020-05	Tiskane upute za uporabu pretvorene su u elektronički oblik i dodani su im pristupni podaci za dohvaćanje dokumenta s web-mjesta bd.com/e-labeling. Namjena je pojašnjena. Dodane su dodatne informacije u odjeljku Reagensi i materijali. Ažurirane su slike 1, 2 i 3. Dodana su ograničenja koja se odnose na pedijatrijske pacijente. Ažuriran je i objašnjen odjeljak Karakteristike svojstava. Ažurirane su adrese australskih i novozelandskih pokrovitelja.
(10)	2020-11	Ažurirane su informacije sustava GHS u odjeljku Upozorenja i mjere opreza. Tablice performansi izmijenjene su nakon poboljšanja u otkrivanju rezistencije na RIF primijenjenih u softveru. Zbog tih izmjena ažurirani su iznosi za otkrivanje RIF-a u tablicama 2, 3, 5, 8, 9, 15, 16, 19, 25, 26 i 28 i povezanom tekstu.

Neki simboli navedeni u nastavku možda se ne odnose na ovaj proizvod.



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



Use by / Исползвайте до / Spottebujte do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / 사용 기한 / Upotrijebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дейин пайдалануға / Naudokite iki / Izlietot līdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Исползовать до / Použít do / Upotrebiti do / Använd före / Son kulanma tarihi / Використати до / 使用截止日期

YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)
ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца)
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce)
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)
ЖОЖОЖ-АА-КК / ЖОЖОЖ-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)
ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-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 / Katalogusszám / Numero di catalogo / Kataron nómipi / 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 i Det Europæiske Fællesskaber / Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Voilatusd esindaja Euroopa Nõukogus / Représentant autorisé pour la Communauté européenne / Autorizuirani predstavnik u Europskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségekben / 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 repræsentant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo we Wspólnocie Europejskiej / Reprezentante autorizado na Comunidade Europeia / Reprezentantul autorizat pentru Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Autorizovano predstavništvo u Europskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen / Автура Топлулуğu Yetkili Temsilcisi / Уповноважений представник у країнах ЄС / 歐洲共同體授權代表



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 meditsininiaparatuur / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinska romagala za In Vitro Dijagnostiku / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica in vitro / Жасанды жағдайда жұриетін медициналық диагностика аспабы / In Vitro Diagnostic 의료 기기 / In vitro diagnostikos prietaisais / Medicinas 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 romôcka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / In Vitro Dijagnostik Tibbi Cihaz / Медицинский пристрій для діагностики in vitro / 体外诊断医疗设备



Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperaturu piirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Температураны шектеу / 온도 제한 / Laikymo temperatūra / Temperatūras ierobežojumi / Temperaturlimit / Temperaturbegrensnng / Organizacione temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Організаційне температури / Ograničenje toploty / 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 kood / Numéro de lot / Lot (kod) / Tétel száma (Lot) / Codice batch (lotto) / Тонтама коды / 배치 코드(로트) / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot nummer / Batch-kode (parti) / Kod partii (serie) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (nor) / Kód série (šarža) / Kod serije / Partinummer (Lot) / Parti Kodu (Lot) / Код партії / 批号 (亚批)



Contains sufficient for <n> tests / Содержанието е достатъчно за <n> теста / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt 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> testhez elegendő / Contenido suficiente per <n> test / <n> тесттері үшін жеткілікті / <n> 테스트가 충분히 포함됨 / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Satur pietiekami <n> pārbaudēm / Inhoud voldoende voor "n" testen / Innholder tilstrækkelig 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 vystačí 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 / Lugeada kasutusjuhendit / Consulter la notice d'emploi / Koristi upute za upotrebu / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Пайдалану нұсқаулығымен танысып 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 instrucțiunile de utilizare / См. руководство по эксплуатации / Pozri Pokyny na používanie / 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 refolositi / Не использовать повторно / Nepoužívejte opakovane / Ne upotrebljavajte ponovo / Får ej återanvändas / Tekrar kullanmayın / Не використовувати повторно / 请勿重复使用



Serial number / Серийн номер / Sériové číslo / Seriennummer / Seriennummer / Σειράς 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 / Sólo 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 / Kizárlag in vitro diagnosztikához / Solo per valutazione delle prestazioni IVD / Жасанды жағдайда «пробирка ішінде» диагностикада тек жұмысты бағалау үшін / IVD 성능 평가에 대해서만 사용 / Tik IVD prietaisų veikimo charakteristikoms tikrinti / Vienigi IVD darbības novērtēšanai / Uitsluitend voor doeltreffendheidsonderzoek / Kun for evaluering af IVD-ydelse / Tylko do oceny wydajności IVD / Uso exclusivo para avaliação de IVD / Numai pentru evaluarea performanței IVD / Только для оценки качества диагностики ин витро / Určene iba na diagnostiku in vitro / Samo za procenu učinka u in vitro dijagnostici / Endast för utvärdering av diagnostisk användning in vitro / Yalnızca IVD Performans değerlendirilmesi için / Тільки для оцінювання якості діагностики in vitro / 仅限 IVD 性能评估

For US: "For Investigational Use Only"



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 / Najniža dozvoljena temperatura / Alsó hőmérsékleti határ / Limite inferiore di temperatura / Температураның төменгі рұқсат шегі / 하한 온도 / Žemiausia laikymo temperatūra / Temperatūras zemākā robeža / Laagste temperatuurlimit / Nedre temperaturgrænse / Dolna granica temperatura / Limită minimă de temperatură / Нижний предел температуры / Spodná hranica teploty / Donja granica temperatura / Nedre temperaturgräns / Sıcaklık alt sınırı / Мінімальна температура / 温度下限

	Control / Контролно / Kontrola / Kontrol / Kontrolle / Μάρτυρας / Kontroll / Contrôle / Controllo / Бақылау / 컨트롤 / Kontrolé / Kontrole / Controle / Controllo / Контроль / kontroll / Контроль / 对照
	Positive control / Положителен контрол / Pozitivni kontrola / Positiv kontrol / Positive Kontrolle / Θετικός μάρτυρας / Control positivo / Positiivne kontroll / Contrôle positif / Pozitívna kontrola / Pozitív kontroll / Controllo positivo / Оң бақылау / 양성 컨트롤 / Teigijama kontrolé / Pozitívá kontrole / Positieve controle / Kontrola dodatnia / Controllo positivo / Control pozitiv / Положительный контроль / Pozitif kontrol / Позитивний контроль / 阳性对照试剂
	Negative control / Отрицателен контрол / Negativní kontrola / Negativ kontrol / Negative Kontrolle / Αρνητικός μάρτυρας / Control negativo / Negatiivne kontroll / Contrôle négatif / Negatívna kontrola / Negatív kontroll / Controllo negativo / Негативтік бақылау / 음성 컨트롤 / Neigijama kontrolé / Negatívá kontrole / Negatieve controle / Kontrola ujemna / Controllo negativo / Control negativ / Отрицательный контроль / Negatif kontrol / Негативний контроль / 阴性对照试剂
	Method of sterilization: ethylene oxide / Метод на стерилизация: етиленов оксид / Způsob sterilizace: etylenoxid / Steriliseringsmetode: ethylenoxid / Sterilisationsmethode: Ethylenoxid / Μέθοδος αποστείρωσης: αιθυλενοξείδιο / Método de esterilización: óxido de etileno / Sterilisieringsmeetod: 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 / Steriliseringsmetode: etylenoksid / Metoda sterylizacji: tlenek etylu / Método de esterilização: óxido de etileno / Metodă de sterilizare: oxid de etilenă / Метод стерилизации: этиленоксид / Metóda sterilizácie: etýlénoxid / Metoda sterilizacije: etilen oksid / Steriliseringsmetod: etenoxid / Sterilizasyon yöntemi: etilen oksit / Метод стерилизації: етиленоксидом / 灭菌方法: 环氧乙烷
	Method of sterilization: irradiation / Метод на стерилизация: ирадиация / Způsob sterilizace: záření / Steriliseringsmetode: bestråling / Sterilisationsmethode: Bestrahlung / Μέθοδος αποστείρωσης: ακτινοβολία / Método de esterilización: irradiación / Sterilisieringsmeetod: kiirgus / Méthode de stérilisation : irradiation / Metoda sterilizacije: zračenje / Sterilizálás módszere: besugárzás / Metodo di sterilizzazione: irradiazione / Стерилизация әдісі – сәуле түсіру / 소독 방법: 방사 / Sterilizavimo būdas: radiacija / Sterilizēšanas metode: apstarošana / Gesteriliseerd met behulp van bestraling / Steriliseringsmetode: bestraling / Metoda sterylizacji: napromienianie / Método de esterilização: radiação / Výstřaha, pozí Metodă de sterilizare: iradiere / Метод стерилизации: облучение / Metóda sterilizácie: ožiarenie / Metoda sterilizacije: ozračevanje / Steriliseringsmetod: strålning / Sterilizasyon yöntemi: irradyasyon / Метод стерилизації: опроміненням / 灭菌方法: 辐射
	Biological Risks / Биологични рискове / Biologická rizika / Biologisk fare / Biogefährdung / Βιολογικοί κίνδυνοι / Riesgos biológicos / Biologilised riskid / Risques biologiques / Biološki rizik / Biológiallag veszélyes / Rischio biologico / Биологичлык төуекелдер / 생물학적 위험 / Biologinis pavojus / Biologiskie riski / Biologisch risico / Biologisk risiko / Zagrożenia biologiczne / Perigo biológico / Riscuri biologice / Биологическая опасность / Biologické riziko / Biološki rizici / Biologisk risk / Biolojisk Riskler / Биологична небезпека / 生物学风险
	Caution, consult accompanying documents / Внимание, направте справка в придружаващите документи / Pozor! Prostudujte si příloženou dokumentaci! / Forsigtig, se ledsagende dokumenter / Achtung, Begleitdokumente beachten / Προσοχή, συμβουλευτείτε τα συνοδευτικά έγγραφα / Precaución, consultar la documentación adjunta / Ettevaatust! Lugeka kaasnevat dokumentatsiooni / Attention, consulter les documents joints / Upozorenje, koristí prateću dokumentaciju / Figyelem! Olvassa el a mellékelt tájékoztatót / Attenzione: consultare la documentazione allegata / Абайлаңыз, тиісті құжаттармен танысыңыз / 주의, 동봉된 설명서 참조 / Dămesio, ziurêkîte priedadumus dokumentum / Piesardzība, skatīt pavaddokumentus / 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 / Výstřaha, pozí sprievoďné dokumenty / Paźnij! 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 / 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 ықпал етілген жоғарғы шегі / 상한 온도 / Aukščiausia laikymo temperatūra / Augšējā temperatūras robeža / Hoogste temperatuurlimiet / Øvre temperaturgrense / Górná granica temperatury / Limite máximo de temperatura / Limită maximă de temperatură / Верхний предел температуры / Horná hranica teploty / Gornja granica temperature / Øvre temperaturgräns / Sicaklık üst sınırı / Максимальная температура / 温度上限
	Keep dry / Пазете сухо / Skladujte v suchém prostredí / Opbevares tørt / Trocklaggen / Φυλάξτε το στεγνό / Mantener seco / Hoida kuivas / Conserver au sec / Držati na suhom / Százás helyen tartandó / Tenere all'asciutto / Құрғақ күйінде ұста / 건조 상태 유지 / Laikykite sausiai / Uzglabāt sausu / Droog houden / Hoides tørt / Przechowywać w stanie suchym / Manter seco / A se feri de umezeală / Не допускать попадания влаги / Uchovávejte v suchu / Držite na suvorn mestu / Förvaras tørt / Kuru bir şekilde muhafaza edin / Берегти від вологи / 请保持干燥
	Collection time / Време на събиране / Čas odběru / Opsamlingsstidspunkt / Entnahmeuhrzeit / Ώρα συλλογής / Hora de recogida / Kogumisaeg / Heure de prélèvement / Sati prikupljanja / Mintavétel időpontja / Ora di raccolta / Жынау 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 zamani / Час забору / 采集时间
	Peel / Обелете / Otevřete zde / Åbn / Abziehen / Αποκολλήστε / Desprender / Koorid / Décoller / Otvoriti skini / Húzza le / Staccare / Ξεστήρι қабатын алып таста / 벗기다 / Plēšti čia / Atīmēt / Schillen / Trek av / Oderwać / Destacar / Se dezlipеște / Отклеить / Odrhните / Oljušiti / Dra isär / Ayırma / Відклеїти / 撕下
	Perforation / Перфорация / Perforace / Perforering / Διήτρηση / Perforación / Perforatsioon / Perforacija / Perforálás / Perforazione / Текіс тесу / 절취선 / Perforacija / Perforância / Perforatie / Perforacja / Perfuração / Perforare / Перфорация / Perforácia / Perforasyon / Перфорация / 穿孔
	Do not use if package damaged / Не используйте, ако опаковката е повредена / Nepoužívejte, je-li obal poškozený / Må ikke anvendes hvis emballagen er beskadiget / Inhal beschädigter Packungnicht 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 használnia, ha a csomagolás sérült / Non usare se la confezione è danneggiata / Erep paket бузылган болса, 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 / 如果包裝破損, 請勿使用
	Keep away from heat / Пазете от топлина / Nevstavujte přílišnému 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 / Салпын жерде сақта / 열을 피해야 함 / Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių / Sargāt 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 / Не нагревать / Uchovávejte mimo zdroja tepla / Držite dalje od toplote / Får ej utsättas för värme / Isidan uzak tutun / Берегти від дії тепла / 请远离热源
	Cut / Срежете / Odstřihněte / Klip / Schneiden / Κόψτε / Cortar / Lõigata / Découper / Rezi / Vágja ki / Tagliare / Keciңіз / 잘라내기 / Kirpti / Nogriez / Knippen / Kutt / Odciąć / Cortar / Decupați / Отрезать / Odstřihněte / Iseći / Klipp / Kesme / Rozpízati / 剪下
	Collection date / Дата на събиране / Datum odběru / Opsamlingsdato / Entnahmedatum / Ημερομηνία συλλογής / Fecha de recogida / Kogumiskuupäev / Date de prélèvement / Dani prikupljanja / Mintavétel dátuma / Data di raccolta / Жынаған тізбекүні / 수집 날짜 / Paėmimo data / Savākšanas datums / Verzameldatum / Data prøvetaking / Data pobrania / Data de coleta / Data colectării / Дата сбора / Doba odboru / Datum prikupljanja / Uppsamlingsdatum / Toplama tarihi / Дата забору / 采集日期
	µL/test / µL/тест / µL/Test / µL/εξέταση / µL/prueba / µL/teszt / µL/테스트 / мкл/тест / µL/tyrimas / µL/pārbaude / µL/teste / мкл/анализ / µL/檢測
	Keep away from light / Пазете от светлина / Nevstavujte světlu / Må ikke udsættes for lys / Vor Licht schützen / Κρατήστε το μακριά από το φως / Mantener alejado de fuentes de calor / Hoida eemal valgusest / Conserver à l'abri de la lumière / Držati dalje od svetla / Fény nem érheti / Tenere al riparo dalla luce / Қаранғыланған жерде ұста / 빛을 피해야 함 / Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių / Sargāt no gaismas / Niet blootstellen aan zonlicht / Må ikke utsettes for lys / Przechowywać z dala od źródeł światła / Manter ao abrigo da luz / Feriti de lumină / Хранить в темноте / Uchovávejte mimo dosahu svetla / Držite dalje od svetlosti / Får ej utsättas för ljus / Işıktan uzak tutun / Берегти від дії світла / 请远离光线
	Hydrogen gas generated / Образуван е водород газ / Možnost úniku plynného vodíku / Frembringer hydrogengas erzeugt / Δημιουργία αερίου υδρογόνου / Producción de gas de hidrógeno / Vesinikgaasi tekitatud / Produit de l'hydrogène gazeux / Sadrž hidrogen vodik / Hidrogén gázt fejleszt / Produzione di gas idrogeno / Газтекес сытери пайда болды / 수소 가스 생성됨 / Išskiria vandenilio dujas / Rodas deŋradis / Waterstofgas gegenereerd / Hydrogengass generert / Powoduje powstawanie wodoru / Produção de gás de hidrogénio / Generare gaz de hidrogen / Выделение водорода / Vyrobené použitím vodíka / Oslobada se vodonik / Genererad vätgas / Açığa çıkan hidrojen gazı / Реакция з виділенням водню / 会产生氢气
	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 / Nummer ID paciența / Número da ID do doente / Număr ID pacient / Идентификационный номер пациента / Identifikačné číslo pacienta / ID broj pacijenta / Patientnummer / Hasta kimlik numarası / Идентифікатор пацієнта / 患者标识号



Fragile, Handle with Care / Чупливо, Работете с необходимото внимание. / Křehké. Při manipulaci postupujte opatrně. / Forsigtig, kan gå i stykker. / Zerbrechlich, vorsichtig handhaben. / Εύθραστο. Χειριστείτε το με προσοχή. / Frágil. Manipular con cuidado. / Örn, kásitsege ettevaatlikult. / Fragile. Manipuler avec précaution. / Lomijivo, rukujte pažljivo. / Törékeny! Óvatosan kezelendő. / Fragile, maneggiare con cura. / Сынгыш, абайлап пайдаланыңыз. / 조심 깨지기 쉬운 처리 / Trapu, elkités atsargiai. / Trausls; rīkoties uzmanīgi / Breekbaar, voorzichtig behandelen. / Ömtålig, händter försiktigt. / Krucha zawartość, przenosić ostrożnie. / Frágil, Manuseie com Cuidado. / Frágil, manipulați cu atenție. / Хрупкое! Обращаться с осторожностью. / Křehké, vyžaduje sa opatrná manipulácia. / Lomijivo - rukujte pažljivo. / Bräckligt. Hantera försiktigt. / Kolay Kırılır, Dikkatli Taşıyın. / Тендітна, звертатися з обережністю / 易碎, 小心轻放



bd.com/e-labeling



Tehnički servis i podrška: obratite se lokalnom predstavniku tvrtke BD ili posjetite 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.