

За употреба при *инвитро* диагностика
За употреба със система BD MAX™



ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Анализът BD MAX™ Multi Drug Resistant Tuberculosis (BD MAX за туберкулоза с множествена лекарствена резистентност, MDR-TB), извършван от системата BD MAX, е автоматичен качествен *инвитро* диагностичен тест за директно засичане на ДНК от комплекс *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) в необработени храчки или концентрирани седименти от храчки, приготвени от индуцирани или експекторирани храчки. При материали, в които се засича MTBC ДНК, BD MAX MDR-TB също така засича мутации на гена *rpoB*, свързан с резистентност към рифампин, както и мутации в гена *katG* и промоторния регион *inhA*, и двата от които са свързани с резистентност към изониазид.

Тестът използва полимеразна верижна реакция (PCR) в реално време за амплификацията на специфични ДНК таргети и флуорогенни, таргет-специфични хибридизационни сонди за засичане на ДНК на MTBC, както и ДНК, свързана с мутации в гените *rpoB* и *katG* и промоторния регион *inhA*, свързани с TB с множествена лекарствена резистентност.

Анализът BD MAX MDR-TB е предназначен за употреба с материали от пациенти, за които има клинична suspекция за туберкулоза (TB) и които не са приемали антитуберкулозна терапия или са приемали по-малко от три дни терапия през последните шест месеца. Този тест е предназначен да помогне в предполагаемата диагноза на белодробна туберкулоза при употреба заедно с клинични и лабораторни находки.

ОБЩО ОПИСАНИЕ И ОБЯСНЕНИЕ НА ПРОЦЕДУРАТА

Туберкулозата (TB) е инфекциозно заболяване, причинено от видове от комплекса *M. tuberculosis* (MTBC) и остава основен глобален проблем за здравето, причиняващ приблизително 10,4 милиона случая и 1,7 милиона смъртни случая годишно.¹ TB с множествена лекарствена резистентност (MDR-TB) е продължителна заплаха и по-сложна форма на заболяването, тъй като MTBC е резистентна както към рифампин (RIF), така и към изониазид (INH).¹ През 2016 г. е имало 600 000 нови случая с резистентност към рифампин (RRTB), най-ефективният медикамент от първа линия, от които 490 000 са страдали от туберкулоза с множествена лекарствена резистентност (MDR-TB).¹ През 2016 г. СЗО предостави нови насоки за изследване за TB, призовавайки за бързи молекулярни тестове за засичане на MDR-TB.² Бързото и точно засичане на MTBC и формите ѝ на лекарствена резистентност е важно, за да се разпознаят и лекуват правилно пациентите, страдащи от заболяването, за да се подпомогне снижаването на смъртността и да се спре разпространението на TB.³

Анализът BD MAX MDR-TB предоставя интегриран резултат за MTBC (геномни таргети с много копия IS6110 и IS1081, както и геномна таргет с едно копие), резистентност към RIF (RRDR кодони 507-533) и INH (*inhA* промоторен регион и *katG* кодон 315) и автоматизира процеса на изследване и снижава до минимум намесата от страна на оператор от поставянето на пробата на системата BD MAX до момента, когато резултатите са налични. Анализът BD MAX MDR-TB, извършен на системата BD MAX, може да предостави резултати за 24°материала за по-малко от 4 часа, в сравнение с традиционните методи с култури и изследвания за лекарствена резистентност, които могат да отнемат седмици.

ПРИНЦИПИ НА ПРОЦЕДУРАТА

Необработени храчки или концентрирани седименти от храчки, приготвени от индуцирани или експекторирани храчки, се събират от пациенти и се транспортират до лабораторията в непроницаем контейнер за събиране. Разреждането на материала се приготвя в контейнера за събиране с BD MAX STR, така че крайното съотношение STR:материал да е 2:1. Контейнерът за събиране след това се разклаща 10 пъти, инкубира се на стайна температура за 5 минути и се разклаща интензивно отново 10 пъти. Пробата, третирана с BD MAX STR, след това се инкубира на стайна температура за 25 минути. Използвайки пипета за трансфер BD MAX, 2,5 ml от пробата, третирана с STR, се трансферира към етикетирания BD MAX MDR-TB Sample Tube (епруветка за проба BD MAX MDR-TB). Епруветката за проба BD MAX MDR-TB се затваря с капачка с мембрана и се трансферира към системата BD MAX. След като се генерира работният списък и материалът се зареди на инструмента BD MAX заедно с BD MAX MDR-TB Unitized Reagent Strip (индивидуална лента с реагент BD MAX MDR-TB) и касета за PCR, се стартира изпълнението и вече не е необходима намеса от страна на оператор. Системата BD MAX автоматизира приготвянето на материали, включително лизиса на таргетния организъм, екстракцията и концентрацията на ДНК, повторната хидратация с реагенти, амплификацията на таргетни секвенции нуклеинови киселини и засичането чрез PCR в реално време. Интерпретирането на сигнала се извършва автоматично от системата BD MAX. Анализът също така включва контрол за обработка на проби, която е предоставена в епруветката за екстракция и се подлага на стъпки за екстракция, концентрация и амплификация. Контролата за обработка на проби мониторира за наличието на потенциално инхибиращи субстанции, както и за проблеми със системата или с реагенти.

Системата BD MAX използва комбинация от реагенти и топлина, за да извърши лизис на клетки и екстракция на ДНК. Освободените нуклеинови киселини се захващат от топчета с магнитен афинитет. Топчетата заедно със свързаните нуклеинови киселини се промиват и нуклеиновите киселини се елюират чрез топлина в елюционния буфер. Елюираната ДНК се неутрализира и се трансферира до епруветките Master Mix, за да се хидратируют повторно PCR реагентите. След повторната хидратация системата BD MAX диспергира фиксиран обем от разтвор, готов за PCR, в BD MAX PCR Cartridge (касета BD MAX PCR). Микроклапи в касетата BD MAX PCR са запечатани от системата преди инициализирането на PCR, за да се задържи сместа за амплификация, като по този начин се предотвратява замърсяване на ампликоните.

Амплифицираните ДНК таргети се засичат чрез сонди за хидролиза (TaqMan®), отбелязани в единия край с флуоресцентно багрило за отчитане (флуорофор), а в другия край с гасителна половина. Сондите, белязани с различни флуорофори, се използват за засичане на ДНК на комплекса *M. tuberculosis*, резистентност към рифампин, резистентност към изониазид и ампликони на контролата за обработка на проби в пет различни оптични канала на системата BD MAX. Засичането на резистентност към рифампин използва химия на топенето, като се засичат мутации в зоната от 81 чифта бази на RRDR на гена *rpoB*, а засичането на резистентност към изониазид се определя от засичане на мутации в промоторния регион на гените *inhA* и *katG*. Системата BD MAX мониторира тези сигнали по време на всеки цикъл и интерпретира данните в края на програмата, за да докладва финалните резултати.

РЕАГЕНТИ И МАТЕРИАЛИ

REF	Съдържание	Количество
443878	BD MAX™ MDR-TB Master Mix (E6) Изсушен PCR Master Mix, съдържащ нуклеотиди, молекулярни сонди (0,006% w/v) и праймери (0,01% w/v) на таргета и PCR ензим (3E-14 % w/v).	24 теста (2 x 12 епруветки)
	BD MAX™ MDR-TB Master Mix (E5) Изсушен PCR Master Mix, съдържащ нуклеотиди, молекулярни сонди (0,006% w/v) и праймери (0,008% w/v) на таргета и на контрола за обработка на проба и PCR ензим (3E-14 % w/v).	24 теста (2 x 12 епруветки)
	BD MAX™ MDR-TB Reagent Strips Индивидуални ленти с реагенти, съдържащи буфер за промиване с 0,1% v/v от Туин® 20 и 3,8% v/v от Туин 80 (0,75 ml), буфер за елюиране (0,75 ml), буфер за неутрализиране 0,02% v/v от Туин 20 (0,75 ml) и разтвор за свързване с 5% v/v от Тритон® X-100 (0,75 ml) и върхове на пипети за еднократна употреба, необходими за обработка на материали и екстракция на ДНК.	24 теста
	Епруветки за екстракция BD MAX™ MDR-TB (E7) Изсушен реагент за екстракция, съдържащ топчета с магнитен афинитет към ДНК (6.4% w/v), протеазни реагенти (6.7% w/v) и контрола за обработване на пробата.	24 теста (2 x 12 епруветки)
	BD MAX™ MDR-TB Sample Tube	24 теста (2 x 12 епруветки)
	Пипети за трансфериране BD MAX™	25
	Капачки с мембрана	25

НЕОБХОДИМИ, НО НЕПРЕДОСТАВЕНИ ОБОРУДВАНЕ И МАТЕРИАЛИ:

- BD MAX™ STR (Sample Treatment Reagent) (BD Кат. № 443806)
- BD MAX™ PCR Cartridges (Касети BD MAX PCR) (BD Кат. № 437519)
- Външни контроли
- Престилка и ръкавици за еднократна употреба без талк
- Контейнери за биомедицински отпадъци
- Хронометър или таймер

За събиране на необработени храчки:

- Сухи, чисти, непропускливи контейнери за събиране на храчки

ПРЕПОРЪЧИТЕЛНИ, НО НЕПРЕДОСТАВЕНИ МАТЕРИАЛИ В КОМПЛЕКТА

- Нефелометър
- Стерилни епруветки
- Стерилни стъклени топчета 3 – 5 mm
- Среда за култура (бульон MGIT™ или бульон 7H9)
- Middlebrook OADC
- Петрита с агар 7H10/7H11
- Физиологичен разтвор с фосфатен буфер
- Шпатули за петри
- Разклащаш смесител
- BD BBL™ MycoPrep™

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

Опасно



H312 Вреден при контакт с кожата.

H314 Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите.

H315 Предизвиква дразнене на кожата.

H317 Може да причини алергична кожна реакция.

H319 Предизвиква сериозно дразнене на очите.

H334 Може да причини алергични или астматични симптоми или затруднения в дишането при вдишване.

H335 Може да предизвика дразнене на дихателните пътища.

H411 Токсичен за водните организми, с дълготраен ефект.

H412 Вреден за водните организми, с дълготраен ефект.

P260 Не вдишвайте прах/пушек/газ/дим/изпарения/аерозоли.

P261 Избягвайте вдишване на прах/пушек/газ/дим/изпарения/аерозоли.

P264 Да се измие старателно след употреба.

P272 Да не се изнася замърсено работно облекло извън работното помещение.

P273 Да се избягва изпускане в околната среда.

P280 Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.

P285 В случай на недостатъчна вентилация носете респираторни предпазни средства.

P301+P330+P331 ПРИ ПОГЛЪЩАНЕ: Изплакнете устата. НЕ предизвиквайте повръщане.

P312 При неразположение се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ/лекар.

P303+P361+P353 ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА (или косата): Незабавно свалете цялото замърсено облекло. Облейте кожата с вода [или вземете душ].

P363 Изперете замърсеното облекло преди повторна употреба.

P321 Специализирано лечение (вж на този етикет).

P304+P340 ПРИ ВДИШВАНЕ: Изведете лицето на чист въздух и го поставете в позиция, улесняваща дишането.

P310 Незабавно се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ/на лекар.

P305+P351+P338 ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: Промивайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Отстранете контактните лещи, ако носите такива и ако е лесно осъществимо. Продължете да промивате.

P302+P352 ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА: Измийте обилно с вода/...

P333+P313 При поява на кожно дразнене или обрив на кожата: Потърсете медицински съвет/помощ.

P337+P313 При продължително дразнене на очите: Потърсете медицински съвет/помощ.

P391 Съберете разлятото

P405 Да се съхранява под ключ.

P403+P233 Да се съхранява на добре проветриво място. Съдът да се съхранява плътно затворен.

P501 Изхвърлете съдържанието/контейнера в подходящо място за третиране и изхвърляне съгласно приложимите закони и регулации и характеристиките на продукта към момента на изхвърлянето.

- Анализът BD MAX MDR-TB е за употреба при *инвитро* диагностика.
- За оптимална производителност трябва да се работи с анализа BD MAX MDR-TB в лабораторните граници на средата от 18°C до 28°C и лабораторна относителна влажност от 20 до 80%.
- Анализът BD MAX MDR-TB се използва за изследване на необработени храчки или концентрирани седименти от храчки, приготвени от индуцирани или експекторирани храчки.
- Не използвайте реагенти и/или материали след датата им на годност.
- Не използвайте комплекта, ако етикетът, който запечатва външната кутия, е скъсан при пристигане.
- Не използвайте реагенти, ако защитните пликове са отворени или разкъсани при пристигане.
- Не използвайте реагенти, ако абсорбиращият влагата препарат не е наличен или е счупен в пликовете на реагентите.
- Да не се премахва абсорбиращият влагата препарат от пликовете на реагентите.
- Затворете защитните пликове на реагента плътно с ципа след всяка употреба. Премахнете излишния въздух от пликовете преди запечатване.
- Пазете реагентите от топлина и влага. Продължителното излагане към влага може да повлияе върху работата на продукта.
- Не използвайте реагенти, ако фолиото е било скъсано или повредено.

- Не смесвайте реагенти от различни пликове, комплекти и/или партии.
- Не разменяйте или използвайте повторно капачките, използвани на епруветка, съдържаща проби, третирани с STR, поради вероятно замърсяване и компрометиране на резултатите от изследването.
- Не използвайте повторно епруветка за проба BD MAX.
- Проверете индивидуалните ленти с реагенти за правилно напълване с течност (уверете се, че течностите са в дъното на резервоарите за реагенти) (вижте Фигура 1).
- Проверете индивидуалните ленти с реагенти, за да се уверите, че всички върхове на пипети са налични (вижте фигура 1).
- Работете с внимание, когато използвате химични разтвори, тъй като четливостта на баркодовете на Master Mix и на епруветката за екстракция може да е засегната.
- Добрата лабораторна техника е съществена за правилната работа на този анализ. Поради високата аналитична чувствителност на този тест трябва да се предприемат изключителни грижи, за да се запази чистотата на всички материали и реагенти.
- В случай че се извършват други PCR тестове в същата обща област на лабораторията, трябва да се предприемат мерки, за да не се замърси комплектът BD MAX MDR-TB, други допълнителни реагенти, необходими за изследване, и системата BD MAX. Избягвайте микробиологично и дезоксирибонуклеазно (DNase) замърсяване на реагентите по всяко време. Ръкавиците трябва да се сменят преди работа с реагенти и касета.
- За да избегнете замърсяване на средата с ампликони, не отваряйте касетата BD MAX PCR след употреба. Печатите в касетите BD MAX PCR са предназначени да предотвратяват замърсяване.
- Лабораторията трябва рутинно да извършва мониторинг на средата, за да сведе до минимум риска от кръстосано замърсяване.
- Работата с BD MAX MDR-TB извън препоръчаните диапазони за време и температура, препоръчани за транспорт и съхранение на материала, може да доведе до невалидни резултати. Анализите, които не са извършени в определените диапазони за време и температура, трябва да се повторят.
- Допълнителните контроли трябва да се тестват съгласно указанията или изискванията на местните, държавните, областните и/или федералните разпоредби или акредитиращи организации.
- Винаги боравете с проби, сякаш са инфекциозни и в съответствие с лабораторните процедури за безопасност, като тези, описани в CLSI Document M29⁴ и в Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.⁵
- Носете защитно облекло и ръкавици за еднократна употреба, докато боравите с всички реагенти.
- Измивайте ръцете си старателно след извършване на теста.
- Не пипетирайте през устата.
- Не пушете, не дъвчете, не консумирайте храни или напитки в областта на работа с пробите или реагентите от комплекта.
- Изхвърляйте неизползваните реагенти и отпадъците в съответствие с местните, националните, областните и/или федералните нормативни актове.
- За справка вижте BD MAX System User's Manual⁸ за допълнителни предупреждения, предпазни мерки и процедури.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

Събраните материали от необработени храчки трябва да се съхраняват между 2°C и 35°C по време на транспорт до 3 дни. Пазете от излагане на прекомерна топлина.

Необработени храчки: материалът може да се съхранява до допълнителни 168 часа (7 дни) на 2°C – 8°C преди третиране с STR.

Седимент от храчки: материалът може да се съхранява до 168 часа (7 дни) на 2°C – 8°C преди третиране с STR.

Пробите, третирани с BD MAD STR, могат да се съхраняват на 2°C – 28°C за максимум 72 часа.

Приготвените епруветки за проби BD MAS MDR-TB могат да се съхраняват на 2°C – 28°C за максимум 72 часа след третирането с STR.

Компонентите BD MAX MDR-TB са годни при 2°C – 28°C до посочената дата на изтичане на срока на годност. Не използвайте компоненти след датата им на годност.

Предоставени са реагенти BD MAX MDR-TB Master Mix и Extraction Tubes в запечатани пликове. За да защитите продукта от влага, незабавно запечатайте повторно след отваряне. Епруветките с реагенти са годни до 14 дни на 2°C – 28°C след първоначалното отваряне и повторното запечатване на плика.

ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

Взимане на проба/Транспортиране

За получаване на добър материал процедурата за събиране на материал трябва да се следва внимателно. Всички проби трябва да бъдат взети и транспортирани както е препоръчано от Центровете за контрол и профилактика на заболяванията (CDC),⁵ *Clinical Microbiology Procedures Handbook*,⁶ или ръководството за лабораторни процедури на вашата институция. Пациентите трябва да са седнали или прави за събиране на необработени храчки. Пациентите трябва да изплакнат устата си, за да премахнат потенциални частици храна или остатъци преди събирането на храчки.

Необработени храчки или концентрирани седименти от храчки, приготвени от индуцирани или експекторирани храчки, се събират в съответствие със следната процедура:

ЗАБЕЛЕЖКА: Откажете проби с очевидни частици от храна или други твърди частици.

1. Необработени храни: Използвайте непропусклив контейнер за събиране, съберете поне 1 ml храни. Етикетирайте контейнера и го транспортирайте до лабораторията (вижте раздел „Съхранение и стабилност“).
2. Седимент от храни: Обеззаразете пробата от храни с NALC/NaOH според метода на Kent и Kubica.⁷ Ресуспендирайте седимента в до 2 ml 67 mM фосфатен/воден буфер. Етикетирайте контейнера и го транспортирайте до лабораторията (вижте раздел „Съхранение и стабилност“). Необходим е минимум 1 ml за изследване с BD MAX MDR-TB.

Подготовка на материали за изследване

ЗАБЕЛЕЖКА: Анализът BD MAX MDR-TB може да се използва само с комплекта BD MAX STR. Стъпките за обработване на храни и седименти от храни могат да бъдат открити в листовката на опаковката на BD MAX STR.

ЗАБЕЛЕЖКА: Необходими са една (1) епруетка BD MAX STR, една (1) пипета за прехвърляне, една (1) епруетка за проба, една (1) капачка с мембрана, две (2) епруетки Master Mix (една [E6] и една [E5]), една (1) епруетка за екстракция [E7] и една (1) индивидуална лента с реагент за всеки материал и за всяка външна контрола, които ще бъдат изследвани. Оставете настрана необходимия брой материали, извадени от техните защитни пликове или кутии. За да съхраните отворени пликове от епруетки Master Mix или епруетки за екстракция, прогонете излишния въздух и затворете с ципа.

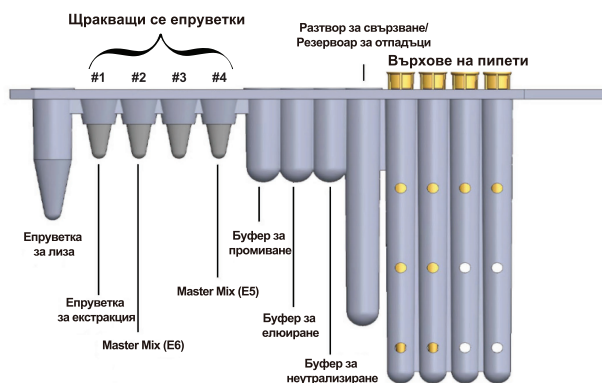
1. Етикетирайте епруетка за проба BD MAX MDR-TB (прозрачна капачка) с подходящата идентификация за материала. Не закривайте, не пишете и не залепвайте етикет върху 2D баркода.
За всеки материал от необработени храни или седимент от храни: (Стъпки 2 до 7 описват употребата на BD MAX STR [Не е предоставен]. За повече информация вижте листовката, приложена в опаковката на BD MAX STR.)
2. Оставете пробата да се изравни със стайната температура.
3. Внимателно отворете капака на непропускливия контейнер за събиране на храни, без да го разливате.
4. Внимателно отворете епруетката BD MAX STR и добавете необходимия обем, така че крайното съотношение STR:материал да е 2:1.
5. Сложете капачка на контейнера за събиране и разклатете (не разбърквайте на вортекс) разтвора енергично 10 пъти (нагоре и надолу е равно на 1 път).
6. Инкубирайте на стайна температура за 5 минути и разклатете интензивно отново 10 пъти.
7. Инкубирайте пробата, третирана с BD MAX STR, на стайна температура за 25 минути.
8. Махнете капачката от епруетката за проба BD MAX MDR-TB и запазете твърдата капачка, ако ще съхранявате проба.
9. Използвайте предоставената пипета за прехвърляне, прехвърлете 2,5 ml от пробата от храна, третирана с STR, към етикетирания епруетка за проба BD MAX MDR-TB. Проверете двукратно дали идентификационния номер на пробата на епруетката за проба BD MAX MDR-TB съпада с етикета на контейнера за събиране.
10. Затворете епруетката за проба BD MAX MDR-TB със синя капачка с мембрана
11. Пригответе допълнителни материали за изследване, като повторите стъпките от 1 до 10, преди да боравите с допълнителни материали.
12. Преминете към раздела „Работа със системата BD MAX“, за да извършите изследване на BD MAX MDR-TB на системата BD MAX.

Работа със системата BD MAX

ЗАБЕЛЕЖКА: Направете справка с BD MAX System User's Manual⁸ (Ръководство за потребителя за системата BD MAX) за подробни инструкции (вижте раздел „Работа със системата“).

ЗАБЕЛЕЖКА: Тестването на комплекта BD MAX MDR-TB трябва да се извърши незабавно след трансфер на проба, третирана с STR, към епруетката за проба по-горе (направете справка в „Подготовка на пробата“, стъпка 9).

1. Включете системата BD MAX (ако вече не сте) и се впишете, като въведете <user name> (потребителско име) и <password> (парола).
2. Ръкавиците трябва да се сменят преди работа с реагенти и касети.
3. Извадете необходимия брой индивидуални ленти с реагенти от комплекта BD MAX MDR-TB. Леко потупайте всяка индивидуална лента с реагент върху твърда повърхност, за да сте сигурни, че всички течности са на дъното на епруетките.
4. Извадете от защитните пликове необходимия брой епруетки за екстракция и епруетки Master Mix от комплекта BD MAX MDR-TB.
5. Премахнете излишния въздух и затворете пликовете с ципа.
6. За всяка проба, която ще бъде изследвана, поставете една (1) индивидуална лента с реагент върху статива на системата BD MAX, започвайки с позиция 1 на статив A.
7. Щракнете една (1) епруетка за екстракция (E7) (бяло фолио) във всяка индивидуална лента с реагент в Позиция 1, както е показано на фигура 1.
8. Щракнете една (1) епруетка BD MAX MDR-TB Master Mix (E6) (зелено фолио) във всяка индивидуална лента с реагент в Позиция 2, както е показано на фигура 1.
9. Щракнете една (1) епруетка BD MAX MDR-TB Master Mix (E5) (синьо фолио) във всяка индивидуална лента с реагент в Позиция 4, както е показано на фигура 1.



Фигура 1: Щракнете епруветки за екстракция BD MAX MDR-TB и епруветки BD MAX MDR-TB в индивидуални ленти с реагенти

10. Щракнете върху иконата Run (Изпълнение), след това Inventory (Отчет). Въведете партидния номер на комплекта BD MAX MDR-TB (за проследяване на партидата), като сканирате баркода със скенера или като въведете ръчно (върху външната кутия).

ЗАБЕЛЕЖКА: Повторете стъпка 10 всеки път, когато се използва нова партида на комплект.

11. Отидете до работния списък. Като използвате падащото меню, изберете <BD MAX MDR TB 70>.
12. Въведете ID на епруветката за проба BD MAX MDR-TB, ID на пациент и номер за достъп (ако е приложимо) в работния списък чрез сканиране на баркода със скенера или чрез ръчно въвеждане.
13. Изберете подходящия партиден номер на комплект (намиращ се на външната кутия на комплекта BD MAX MDR-TB) от падащото меню.
14. Повторете стъпки 11 до 13 за всички останали епруветки за проби.
15. Поставете епруветките за проби в статива/ите на системата BD MAX, съответстващи на събраните индивидуални ленти с реагенти в стъпки 6 до 9.

ЗАБЕЛЕЖКА: Поставете епруветките за проби в статива за проби, като етикетите с баркод 1D сочат навън (така се улеснява сканирането на епруветки по време на вписване на проба).

16. Поставете необходимия брой касети BD MAX PCR в системата BD MAX (направете справка с фигура 2):
 - Всяка касета BD MAX PCR служи за 1 изпълнение на до 12 проби.
 - Системата BD MAX автоматично ще избере позицията и реда на касетата BD MAX PCR за всяко изпълнение. Касетите BD MAX PCR могат да се използват многократно, докато всички пътеки бъдат използвани.
 - За да използвате максимално касети BD MAX PCR, използвайте 2000 Sample Mode (Режим 2000 проби), изберете Run Wizard (Изпълнение на съветник) под раздела Worklist (Работен списък) за задаване на места за пътеките.
 - Направете справка с BD MAX System User's Manual⁸ за повече подробности.



Фигура 2: Зареждане на касети BD MAX PCR

17. Заредете статив(и) в системата BD MAX (вижте фигура 3).



Фигура 3: Заредете статив(и) в системата BD MAX

18. Затворете капака на системата BD MAX и щракнете върху <Start>, за да започнете обработване.

19. В края на изпълнението проверете резултатите незабавно или съхранете епруветките за проби на 2°C – 28°C за до 72 часа след третиране с STR, докато резултатите не бъдат проверени.

ЗАБЕЛЕЖКА: Сменете капачката с мембрана с твърда капачка, преди да съхраните пробата.

ЗАБЕЛЕЖКА: Пригответе епруветки за проби BD MAS MDR-TB могат да се съхраняват на 2°C – 28°C за максимум 72 часа. Когато се получи резултат „Неопределен“ (IND), „Неразрешен“ (UNR) или „Незавършен“ (INC) или когато възникне проблем с външните контроли, трябва да бъде извършен повторен тест от пригответе епруветки за проби в този времеви интервал (вижте раздела „Повтаряне на тестовата процедура“).

ЗАБЕЛЕЖКА: Ако настъпи повреда във външните контроли, повторете изследването на всички проби, използвайки пряко приготвени външни контроли (вижте раздел „Качествен контрол“).

КАЧЕСТВЕН КОНТРОЛ

Процедурите за качествен контрол мониторират производителността на анализа. Лабораториите трябва да установят броя, вида и честотата на тестване на контролни материали съгласно указанията или изисквания на местните, областните, федералните и/или държавните разпоредби или акредитиращи организации, за да се мониторира ефективността на целия анализиращ процес. За общи указания за качествен контрол потребителят може да поиска да направи справка с CLSI MM3⁹ и EP12.¹⁰

1. Материалите за външен контрол не се предоставят от BD. Външните положителни и отрицателни контроли не се използват от софтуера на системата BD MAX с цел интерпретиране на резултатите от тестове на проби. Външните контроли се третират сякаш са проби на пациенти. За приготвяне на външни контроли е необходим BD MAX STR. (Вижте таблицата в раздел „Интерпретиране на резултати“ за интерпретиране на резултати от анализ на външни контроли.)
2. Една външна положителна контрола и една външна отрицателна контрола трябва да се изпълняват поне ежедневно, докато не се достигне адекватно валидиране на процесите в системата BD MAX във всяка лабораторна настройка. Намалената честота на тестване на контроли трябва да бъде в съответствие с приложимите нормативни актове.
3. Външната положителна контрола е предназначена да мониторира за съществени проблеми с реагента. Външната отрицателна контрола се използва за засичане на заразяване (или пренасяне) на реагента и/или обкръжаващата среда чрез таргетни нуклеинови киселини.
4. Контролни щамове трябва да се тестват съгласно указанията или изискванията на местните, областните, държавните и/или федералните разпоредби или акредитиращи организации, за да се мониторира ефективността на целия анализиращ процес.
5. Препоръчват се различни видове външни контроли, за да се позволи на потребителя да избере най-подходящата за качеството на лабораторията му.
 - a. Външните отрицателни контроли трябва да съдържат 2,5 ml разтвор STR (2 части STR: 1 част дейонизирана вода).
 - b. Външна положителна контрола: Разтвор на който и да е проверен организъм от комплекс *M. tuberculosis*, придобит от търговската мрежа или чрез процедури за изолация от култура или предходно характеризирана проба, за която е известно, че е положителна.

Ако се използват контролни организми:

- a. Посейте организма в бульон 7H9 или бульон MGIT, допълнен с OADC на 37°C. Оставете да расте до приблизителна мътност от $\geq 0,5$ единици McFarland (обикновено 7 до 10 дни, но може да бъде повече в зависимост от щам).
- b. Премахнете течната култура чрез центрофугиране за 10 минути на 3000 g.
- c. Суспендирайте повторно организма във физиологичен разтвор, буфериран с фосфат (PBS).
- d. Прехвърлете разтвора в стерилна епруветка, съдържаща до десет (10) топчета 3 – 5 mm. Разбъркайте културата на вортекс за приблизително 30 секунди.

- e. Оставете суспензията да се утаи за приблизително 5 минути, за да могат по-големите частици да достигнат дъното на епруветката.
 - f. Прехвърлете суспензията към нова стерилна епруветка, като избягвате бучките на дъното на епруветката и се уверите, че мътността остава $\geq 0,5$ единици McFarland.
 - 1) Размерите на епруветката трябва да бъдат определени за нефелометъра.
 - g. Извършете серийни разреждания и посейте организма върху петрита с агар (агар 7H10 или 7H11) за количествен анализ. Оставете петритата с агар да се инкубират на 37°C за 2 до 4 седмици.
 - h. След количественото определяне на организъм го разрежете до концентрация 1×10^5 CFU/ml в PBS
 - 1) Суспензията може да бъде приготвена за окончателно разреждане, разделена на аликвоти от 300 μ l, замразена и използвана за рутинно тестване.
 - i. Добавете 2,25 ml разтвор STR (2 части STR: 1 част дейонизирана вода) към епруветката за проба.
 - j. Добавете 250 μ l от окончателното разреждане към епруветката за проба BD MAX MDR-TB и затворете епруветката със синя капачка с мембрана.
 - k. Обработете външната контрола сякаш е проба от пациент съгласно процедурата, показана в раздела за работа със системата BD MAX.
6. Всички външни контроли трябва да водят до получаване на очакваните резултати (положителни за външната положителна контрола, отрицателни за външната отрицателна контрола) и не трябва да има неуспешни външни контроли (резултати „Неразрешен“ или „Неопределен“). Вижте таблицата по-долу за приемливи резултати за външната положителна контрола:

<i>M. tuberculosis</i> организъм или характеризирана проба	Резултат от анализ
RIF чувствителен и INH чувствителен	MTB Detected (Засечен MTB), HE E засечена резистентност към RIF, HE E засечена резистентност към INH
RIF чувствителен/INH резистентен	Засечен MTB, HE E засечена резистентност към RIF, засечена е резистентност към INH
RIF резистентен/INH чувствителен	Засечен MTB, засечена резистентност към RIF, HE E засечена резистентност към INH
RIF резистентен/INH резистентен	Засечен MTB, засечена резистентност към RIF, засечена резистентност към INH

- a. Външна отрицателна контрола, която показва положителен резултат от тест, е индикатор за събитие, свързано с неправилно манипулиране и/или замърсяване на пробата. Прегледайте техниката за манипулиране, за да избегнете смесване и/или замърсяване. Външна положителна контрола, която показва отрицателен резултат от тест, е индикатор за проблем, свързан с неправилно манипулиране и/или подготвяне на пробата. Прегледайте техниката за манипулиране/подготовка на пробата.
- b. Външна контрола, която показва резултат от тест „Неопределен“, „Неразрешен“ или „Незавършен“, е индикатор за проблем с реагент или със системата BD MAX. Проверете монитора на системата BD MAX за съобщения за грешка. Вижте раздел „Откриване и отстраняване на неизправности“ в BD MAX System User's Manual⁶ за интерпретиране на кодове за предупреждения и грешки. Ако проблемът не се отстрани, използвайте реагенти от неотворен пакет или използвайте нови комплекти BD MAX MDR-TB.
- c. Всяка епруветка за екстракция BD MAX MDR-TB съдържа контрола за обработка на проба, която представлява плазмид, съдържащ синтетична таргетна ДНК секвенция. Контролата за обработка на проба се екстрахира, елюира и амплифицира заедно с всяка таргетна ДНК, налична в обработваната проба. Контролата за обработка на проба мониторира ефикасността на захващане на ДНК, отмиването и елюирането по време на стъпките за обработване на проба, както и ефикасността на таргетната амплификация и засичане по време на PCR анализа. Ако резултатът от контролата за обработване на проба не изпълни критерия за допустимост, резултатът от пробата ще бъде отчетен като „Неопределен“; въпреки това всички положителни резултати за MTBC („Засечен MTB“) ще бъдат отчетени. Повторете всички проби, отчетени като „Неопределен“, в съответствие с раздела „Повтаряне на тестовата процедура“ по-долу.

ИНТЕРПРЕТИРАНЕ НА РЕЗУЛТАТИ

Резултатите са налични в раздела **<Results>** (Резултати) в прозореца **<Results>** (Резултати) на монитора на системата BD MAX. Софтуера на системата BD MAX автоматично интерпретира резултатите от тестове. Резултати се отчитат за всеки от анализите и за контролата за обработка на проба. Резултат от тест може да бъде MTB Detected („Засечен MTB“), MTB Low POS („Ниско положителен MTB“), „HE E засечен MTB“, „Засечена резистентност към RIF“, „HE E засечена резистентност към RIF“, „Резистентност към RIF НЕВЪЗМОЖНА ЗА ОТЧИТАНЕ“, „Засечена резистентност към INH“ („HE E засечена мутация в *katG*“, „Засечена е мутация в *inhA*“, „HE E засечена мутация в *inhA*“, „Засечена и отчетена мутация в *inhA*“, „HE E засечена резистентност към INH“, „Резистентност към INH НЕВЪЗМОЖНА ЗА ОТЧИТАНЕ“ или „UNR“ (неопределен), въз основа на състоянието на амплификация на таргета и на това на контролата за обработка на проба. Резултати „IND“ (неопределен) или „INC“ (незавършен) са поради проблем със системата BD MAX. Интерпретирането на резултатите от BD MAX MDR-TB е описано по-долу в таблица 1.

Таблица 1: Интерпретиране на резултати от анализ BD MAX MDR-TB

ОТЧЕТЕН РЕЗУЛТАТ ОТ АНАЛИЗ		ИНТЕРПРЕТИРАНЕ НА РЕЗУЛТАТ
Засечен MTB		Засечена е ДНК на комплекс <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Ниско положителен MTB		Засечена е ДНК на комплекс <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , с неизмерими показатели за резистентност; ≥ 2 RRDR ^a , <i>katG</i> или <i>inhA</i> промотерни сонди не успяха да дадат сигнал, което е индикатор за нисък бактериален товар
НЕ Е засечен MTB		Не е засечена ДНК на комплекс <i>Mycobacterium tuberculosis</i> и е засечена контролата за обработка на проба
Засечена резистентност към RIF		Мутация/и в RRDR ^a са засечени
НЕ Е засечена резистентност към RIF		Не са засечени мутация/и в RRDR ^a
Резистентност към RIF НЕВЪЗМОЖНА ЗА ОТЧИТАНЕ		Засечена е ДНК на комплекс <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , но показателите за резистентност към RIF не са измерими; една сонда за <i>rpoB</i> не успя да даде сигнал, като оставащите сонди за <i>rpoB</i> представиха сигнали за див щам
Засечена резистентност към INH^c	НЕ Е засечена мутация в <i>katG</i>	Засечена е ДНК на резистентност към INH, не бяха засечени мутации в таргетния анализ за <i>katG</i>
	Засечена мутация в <i>katG</i>	Засечена е ДНК на резистентност към INH, бяха засечени мутации в таргетния анализ за <i>katG</i>
	НЕ Е засечена мутация в <i>inhA</i>^b	Засечена е ДНК на резистентност към INH, не бяха засечени мутации в таргетния анализ за промотера на <i>inhA</i>
	Засечена мутация в <i>inhA</i>^b	Засечена е ДНК на резистентност към INH, бяха засечени мутации в таргетния анализ за промотера на <i>inhA</i>
НЕ Е засечена резистентност към INH		Не бяха засечени мутации в таргетните анализи за <i>katG</i> и промотера на <i>inhA</i>
Резистентност към INH НЕВЪЗМОЖНА ЗА ОТЧИТАНЕ		Засечена е ДНК на комплекс <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , но показателите за резистентност към INH не са измерими; сондата за <i>katG</i> или за промотера <i>inhA</i> не успя да даде сигнал, като оставащият сигнал бе за див щам
Неразрешен за MTB (MTB UNR)		Не е засечена ДНК на комплекс <i>Mycobacterium tuberculosis</i> и не е засечена контролата за обработка на проба (индикатор за проблем с инхибираща проба или реагент)
Неопределен (IND)		Неопределен поради проблем със системата BD MAX (с предупреждение или код за грешка ^d)
Незавършен (INC)		Незавършено изпълнение (с предупреждение или код за грешка ^d)

^a RRDR = Rifampin Resistance Determining Region (Регион, определящ резистентност към рифампин, 81 bp от гена *rpoB*, кодони 507 – 533)

^b *inhA* = *inhA* промоторен регион

^c Ако не се отчете резистентност при *katG* или *inhA* („НЕ Е засечена мутация“ или „Засечена е мутация“) с резултата за резистентност към INH, тогава таргетът не може да бъде отчетен. Сондата от анализа за този таргет не е успяла да даде сигнал.

^d Вижте раздел „Откриване и отстраняване на неизправности“ в BD MAX System User's Manual⁸ за интерпретиране на кодове за предупреждения и грешки.

ПОВТАРЯНЕ НА ТЕСТОВАТА ПРОЦЕДУРА

ЗАБЕЛЕЖКА: Наличен е достатъчен обем за едно повтаряне на тест от епруветката за проба BD MAX MDR-TB. За приготвени епруветки за проби BD MAX MDR-TB, съхранявани на 2°C – 28°C, повторното тестване трябва да се извърши до 72 часа след първоначалното третиране на материала с BD MAX STR. Оставащият материал от храчки, третиран с STR, може също да се използва за повторно тестване до 72 часа, ако се съхранява на 2°C – 28°C.

ЗАБЕЛЕЖКА: Нови проби могат да се тестват в едно и също изпълнение с повторни проби.

Резултат MTB Low POS („Ниско положителен MTB“)

Резултати MTB Low POS („Ниско положителен MTB“) се получават, в случай че пробата/ите са положителни за MTB и има загуба на сигнал за ≥ 2 таргетни сонди за резистентност, сигнализиращи за бактериален товар между границите на откриване на засичането на MTB и анализите за определяне на резистентност.

Тестът може да бъде повторен, както е описано по-горе, но въпреки това има вероятност резултатите за резистентност да не бъдат отчетени, тъй като бактериалният товар в пробата може да е под границите на откриване на анализите за RIF и/или INH.

Пробата/ите могат да бъдат повторени от съответните им епруветка/и за проби в определените по-горе времеви интервали. Започнете отново от раздел „Работа със системата BD MAX“. Оставащата проба от храчка може също така да се използва за повторно тестване с приготвянето на нова епруветка за проба в определените по-горе времеви интервали. Започнете отново от раздел „Подготовка на пробата“.

Резултат „Резистентност към RIF или INH невъзможна за отчитане“

Резултати за невъзможна за отчитане резистентност могат да бъдат получени, в случай че има загуба на сигнал за една таргетна сонда за резистентност. Тестът трябва да се повтори, както е описано по-горе.

Пробата/ите могат да бъдат повторени от съответните им епруветка/и за проби в определените по-горе времеви интервали. Започнете отново от раздел „Работа със системата BD MAX“. Оставащата проба от хракча може също така да се използва за повторно тестване с приготвянето на нова епруветка за проба в определените по-горе времеви интервали. Започнете отново от раздел „Подготовка на пробата“.

Резултат „Неопределен MTB“

Резултати за неопределен MTB могат да бъдат получени, в случай че инхибиране, свързано с проблем с пробата или с реагент, не позволява правилна амплификация на таргета и/или на контролата за обработка на проба. Ако контролата за обработка на проба не се амплифицира, пробата ще бъде отчетена като „MTB UNR“. Тестът трябва да се повтори, както е описано по-горе.

Пробата/ите могат да бъдат повторени от съответните им епруветка/и за проби в определените по-горе времеви интервали. Започнете отново от раздел „Работа със системата BD MAX“. Оставащата проба, третирана с STR, може също така да се използва за повторно тестване с приготвянето на нова епруветка за проба в определените по-горе времеви интервали. Започнете отново от раздел „Подготовка на пробата“.

Резултат „Неопределен“

Неопределени резултати могат да бъдат получени, в случай че възникне проблем със системата. Пробата/ите могат да бъдат повторени от съответните им епруветка/и за проби в определените по-горе времеви интервали. Започнете отново, следвайки раздела „Работа със системата BD MAX“. Оставащата проба, третирана с STR, приготвена в нова епруветка за проба, може също така да се използва за повторно тестване в определения по-горе времеви интервал. Започнете отново от раздел „Подготовка на материал“. За интерпретация на кодове за предупреждения и грешки вижте BD MAX System User's Manual⁸ (раздел „Откриване и отстраняване на неизправности“).

Резултат „Незавършен“

Незавършени резултати могат да бъдат получени, в случай че подготовката на пробата или PCR анализът не е успял да завърши. Пробата/ите могат да бъдат повторени от съответните им епруветка/и за проби в определените по-горе времеви интервали. Започнете отново, следвайки раздел „Работа със системата BD MAX“. Оставащата проба, третирана с STR, приготвена в нова епруветка за проба, може също така да се използва за повторно тестване в определения по-горе времеви интервал. Започнете отново от раздел „Подготовка на материал“. За интерпретация на кодове за предупреждения и грешки вижте BD MAX System User's Manual⁸ (раздел „Откриване и отстраняване на неизправности“).

Проблем с външна контрола

Външните контроли трябва да доставят очаквани резултати при тестване. Ако трябва да се повторят проби поради неверен резултат от външна контрола, те трябва да бъдат повторени от техните епруветки за проби заедно с прясно приготвени външни контроли в определените по-горе времеви интервали. Започнете отново, следвайки раздела „Работа със системата BD MAX“.

ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА

- Продуктът трябва да се използва само със системата BD MAX от обучен лабораторен персонал.
- Този продукт е предназначен за употреба само с хракчи, третирани с BD MAX STR, или концентрирани седименти от хракчи, приготвени от индуцирани или експекторирани хракчи.
- Грешни резултати могат да настъпят от неправилно събиране на проба, съхранение, техническа грешка, объркване на материал или защото броят организми в образеца е под аналитичната чувствителност на теста.
- Ако резултатът от анализа BD MAX MDR-TB е „IND“, „INC“ или „UNR“, тогава тестът трябва да бъде повторен.
- Наблюдава се интерференция върху анализа BD MAX MDR-TB в присъствието на Муцин при нива над 1,5% w/v (Таблица 24 раздел „Работна характеристика“).
- Положителен резултат от BD MAX MDR-TB не показва задължително наличието на жизнеспособни микроорганизми. Той обаче показва наличието на таргетна ДНК.
- Мутации или полиморфизми в регионите за свързване с праймера или сондата могат да повлияят засичането на нови или непознати таргетни варианти, което води до неправилен резултат от анализа BD MAX MDR-TB.
- Както с всички тестове, базирани на PCR, изключително ниски нива на таргета под границите на откриване (LoD) на анализа могат да бъдат засечени, но резултатите може да не са възпроизводими.
- Грешно отрицателни резултати могат да настъпят поради загуба на нуклеинова киселина от неправилно събиране, транспорт или съхранение на материали или поради неадекватен лизис на бактериите. Контролата за обработка на проба е добавена към теста, за да подпомогне идентифицирането на проби, които съдържат инхибитори на PCR амплификация и като контрола за целостта на реагента и системата за анализ като цяло. Контролата за обработване на проба не индикира дали нуклеинова киселина е била загубена поради неправилно събиране, транспортиране или съхранение на проби, или дали бактериалните клетки са били лизирани неадекватно.
- Резултати от анализ BD MAX MDR-TB могат да бъдат или да не бъдат повлияни от едновременно лекарствена терапия, която може да намали броя налични таргети.
- Този тест е качествен тест и не предоставя количествени данни, нито показва количеството налични организми.
- Изпълнението на анализ BD MAX MDR-TB не е оценено с образци от педиатрични пациенти.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

Честотата на положителност на организми, които са положителни за резистентност на *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) за Рифампин (RIF) и Изониазид (също познат като изоникотинил хидразид) (INH) зависи от пациентската популация. Факторите включват страната на произход. В клиничното изпитване на BD MAX MDR-TB (март 2016 г. – август 2017 г.) бяха събрани и след това замразени общо 761 храчки от държави, които имат висока честота на случаи на TB и MDR-TB. Всяка проба от храчка беше разделена на две (2) части – една, която да се смели чрез метода за смилане с NALC/NaOH⁷ (обработена), и друга, считана за необработения материал (без смилане). BD MAX MDR-TB бе извършен върху двете части. Честотата на положителност за MTB бе изчислена върху 635 необработени храчки плюс 674 обработени храчки, които отговаряха на нивата за материала и за BD MAX MDR-TB с отчетлив резултат (Таблица 2). Честотата на положителност за RIF бе изчислена върху 316 необработени храчки плюс 334 обработени храчки, които отговаряха на нивата за материала и за BD MAX MDR-TB с отчетлив резултат за RIF. Честотата на положителност за INH бе получена от 327 необработени храчки плюс 338 обработени храчки, които отговаряха на нивата за материала и за BD MAX MDR-TB с отчетлив резултат за INH. Тези проби бяха получени от 6 държави.

Таблица 2: Положителност на BD MAX MDR-TB по страна на произход на храчките от замразени материали

Страна на събиране	Тип проба	МАКСИМАЛНА честота на положителност		
		MTB	RIF	INH
Мали	Необработени храчки	43,0% (92/214)	4,2% (3/72)	8,3% (6/72)
	Обработени храчки	41,0% (87/212)	5,6% (4/71)	9,6% (7/73)
Мексико	Необработени храчки	100% (5/5)	0,0% (0/5)	0,0% (0/5)
	Обработени храчки	75,0% (6/8)	0,0% (0/6)	0,0% (0/6)
Република Молдова	Необработени храчки	94,3% (82/87)	28,2% (20/71)	43,9% (36/82)
	Обработени храчки	96,6% (84/87)	33,3% (25/75)	43,0% (34/79)
Русия	Необработени храчки	87,5% (14/16)	50,0% (5/10)	36,4% (4/11)
	Обработени храчки	81,3% (13/16)	33,3% (3/9)	40,0% (4/10)
Южна Африка	Необработени храчки	69,2% (72/104)	0,0% (0/65)	1,6% (1/64)
	Обработени храчки	67,3% (70/104)	1,5% (1/68)	1,6% (1/64)
Уганда	Необработени храчки	51,9% (107/206)	1,1% (1/91)	3,3% (3/91)
	Обработени храчки	53,7% (131/244)	0,0% (0/103)	2,9% (3/104)
Неизвестна	Необработени храчки	66,7% (2/3)	0,0% (0/2)	0,0% (0/2)
	Обработени храчки	66,7% (2/3)	0,0% (0/2)	0,0% (0/2)
Общо	Необработени храчки	58,9% (374/635)	9,2% (29/316)	15,3% (50/327)
	Обработени храчки	58,3% (393/674)	9,9% (33/334)	14,5% (49/338)

Във второ клинично изпитване на BD MAX MDR-TB (май 2017 г. – март 2018 г.) бяха събрани общо 1 063 съвместими храчки от държави, които имат висока честота на случаи на TB и MDR-TB. Всяка прясна проба от храчка беше разделена на две (2) части – една, която да се смели чрез метода за смилане с NALC/NaOH⁷ (обработена), и друга, считана за необработения материал (без смилане). BD MAX MDR-TB бе извършен върху двете части. Честотата на положителност за MTB бе изчислена върху 953 необработени храчки и 965 обработени храчки, които отговаряха на нивата за материала и за BD MAX MDR-TB с отчетлив резултат (Таблица 3). Честотата на положителност за RIF бе изчислена върху 255 необработени храчки и 236 обработени храчки, които отговаряха на нивата за материала и за BD MAX MDR-TB с отчетлив резултат за RIF. Честотата на положителност за INH бе получена от 256 необработени храчки и 233 обработени храчки, които отговаряха на нивата за материала и за BD MAX MDR-TB с отчетлив резултат за INH. Тези проби бяха получени от четири държави.

Таблица 3: Положителност на BD MAX MDR-TB по страна на произход на храчките от пресни материали

Страна на събиране	Тип проба	МАКСИМАЛНА честота на положителност		
		MTBC	RIF	INH
Индия	Необработени храчки	42,3% (52/123)	4,4% (2/45)	9,3% (4/43)
	Обработени храчки	43,5% (54/124)	2,5% (1/40)	10,0% (4/40)
Перу	Необработени храчки	49,6% (125/252)	13,1% (16/122)	15,4% (19/123)
	Обработени храчки	49,0% (124/253)	14,5% (17/117)	14,2% (16/113)
Южна Африка	Необработени храчки	10,4% (33/318)	0,0% (0/22)	0,0% (0/23)
	Обработени храчки	12,1% (39/322)	4,5% (1/22)	5,0% (1/20)
Уганда	Необработени храчки	28,8% (75/260)	3,0% (2/66)	4,5% (3/67)
	Обработени храчки	26,7% (71/266)	3,5% (2/57)	5,0% (3/60)
Общо	Необработени храчки	29,9% (285/953)	7,8% (20/255)	10,2% (26/256)
	Обработени храчки	29,8% (288/965)	8,9% (21/236)	10,3% (24/233)

Хипотетична предполагаема положителна стойност (PPV) и предполагаема отрицателна стойност (NPV) бяха изчислени и са представени в таблици 4 – 6 съответно за МТВ, резистентност към RIF и резистентност към INH. Тези калкулации са базирани на хипотетично разпространение и обща чувствителност и специфичност, получени в сравнение с референтните методи на изследването.

Таблица 4: Хипотетична предполагаема положителна и отрицателна стойност за *M. tuberculosis* по вид хрчка от пресни материали

Вид проба МАХ	МТВС			PPV		NPV	
	Разпространеност	Цялостна чувствителност	Цялостна специфичност	Приблизително	95% ДИ	Приблизително	95% ДИ
Необработени хрчки	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%)
Обработени хрчки	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%)

Таблица 5: Предполагаема положителна и отрицателна стойност за резистентност на *M. tuberculosis* към рифампин (RIF) по вид хрчка от пресни материали

Вид проба МАХ	RIF			PPV		NPV	
	Разпространеност	Цялостна чувствителност	Цялостна специфичност	Приблизително	95% ДИ	Приблизително	95% ДИ
Необработени хрчки	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%)
Обработени хрчки	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%)

Таблица 6: Предполагаема положителна и отрицателна стойност за резистентност на *M. tuberculosis* към изониазид (INH) по вид хрчка от пресни материали

Вид проба MAX	INH			PPV		NPV	
	Разпространеност	Цялостна чувствителност	Цялостна специфичност	Приблизително	95% ДИ	Приблизително	95% ДИ
Необработени хрчки	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%)
Обработени хрчки	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%)

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Клинична работа

Клиничните работни характеристики на анализа BD MAX MDR-TB бяха определени в многоцентрово изследователско изпитване. Изпитването използва проспективно събрани замразени материали, получени от 761 пациенти в шест държави, за които се знае, че имат висока честота на случаи на TB и MDR-TB. Участниците в изпитването бяха включени, ако за тях има суспекция за наличие на туберкулоза (TB), ако са на поне 18-годишна възраст и или не са приемали противотуберкулозна терапия, или са приемали по-малко от три (3) дни терапия през последните шест (6) месеца. Замразените материали бяха изпратени до BD, където бяха разделени на случаен принцип и изпратени до два (2) центъра, където всяка проба от хрчка бе разделена на две (2) части: една част бе смляна чрез метода за смилане с NALC/NaOH⁷ (обработена), а другата част бе сметена за необработения материал (без смилане). Общо три (3) центъра извършиха референтния метод (RM) върху обработената хрчка, който беше флуоресцентна микроскопия (само с цел стратификация), течна култура, последвана от тестване на лекарствена чувствителност (DST) и тест за амплификация на нуклеинови киселини (NAAT) Cepheid® Xpert MTB/RIF. За MTB и RIF трябваше или културата/DST, или NAAT да е положителен, за да има положителен RM. И двата метода трябваше да бъдат отрицателни, за да се получи отрицателен RM. За INH само културата/DST беше RM. Два (2) други центъра извършиха анализа BD MAX MDR-TB върху обработените и необработените части от материалите. Общо 761 пациенти предоставиха материали от хрчките си. Материалите бяха изключвани от изпитването поради неправилно манипулиране и обработване на материал, неадекватно количество получен материал, липса на съответстващи резултати от BD MAX и обем на хрчка под 1,5 ml. Общо 643 материали от необработени и 678 от обработени хрчки от 686 пациенти бяха в съответствие с нивото на BD MAX MDR-TB. От тях 596 необработени хрчки и 635 обработени хрчки от 645 пациенти също имаха и съответствие с референтния метод и бяха включени в изчисленията за работни характеристики. Общо 384 мъже, 256 жени и 5 лица, чиито пол не беше записан, бяха включени в работните характеристики. Материалите, които дадоха несъответстващ или липсващ резултат от RM или липсващ резултат от BD MAX, бяха премахнати от изчисленията за клинични данни. Всеки първоначален невъзможен за отчитане резултат от BD MAX беше повторен.

Таблица 7 обобщава чувствителността и специфичността по вид материал и състояние от натривка за MTB. Таблицы 8 и 9 обобщават чувствителността и специфичността по вид материал за резистентност към RIF и INH.

Таблица 7: Чувствителност и специфичност на замразен MTB спрямо комбиниран RM (култура плюс NAAT)

	Необработени храни	Обработени храни
Чувствителност	98,3%	99,2%
Положителна на натривка	(229/233)	(245/247)
	(95,7%, 99,3%)	(97,1%, 99,8%)
Чувствителност	88,5%	90,3%
Отрицателна на натривка	(131/148)	(139/154)
	(82,4%, 92,7%)	(84,6%, 94,0%)
Цялостна чувствителност	94,5%	95,8%
	(360/381)	(384/401)
	(91,7%, 96,4%)	(93,3%, 97,3%)
Цялостна специфичност	94,9%	97,0%
	(204/215)	(227/234)
	(91,1%, 97,1%)	(94,0%, 98,5%)

От 360 реално положителни резултата за MTB от необработени храни 106 имаха референтен метод за RIF, който не може да бъде оценен. Измежду 254 материала, реално положителни за MTB и с RM за RIF, който може да бъде оценен, 15 и 13 участници имаха съответно първоначално ниско положителен резултат за MTB и невъзможна за отчитане резистентност към RIF. При валидно повтаряне 7 и 4 материала все още бяха съответно с ниско положителен резултат за MTB и с невъзможна за отчитане резистентност към RIF.

От 384 реално положителни резултата за MTB от обработени храни 118 имаха референтен метод за RIF, който не може да бъде оценен. Измежду 266 материала, реално положителни за MTB и с RM за RIF, който може да бъде оценен, 24 и 11 участници имаха съответно първоначално ниско положителен резултат за MTB и невъзможна за отчитане резистентност към RIF. При валидно повтаряне 11 и 2 материала все още бяха съответно с ниско положителен резултат за MTB и с невъзможна за отчитане резистентност към RIF.

Таблица 8: Цялостна производителност за RIF спрямо комбиниран RM (култура/DST плюс NAAT) от замразени материали

	Необработени храни	Обработени храни
Цялостна чувствителност	100%	100%
	(26/26)	(30/30)
	(87,1%, 100%)	(88,6%, 100%)
Цялостна специфичност	100%	99,1%
	(206/206)	(214/216)
	(98,2%, 100%)	(96,7%, 99,7%)

От 360 реално положителни резултата за MTB от необработени храни 107 имаха референтен метод за INH, който не може да бъде оценен. Измежду 253 материала, реално положителни за MTB и с RM за INH, който може да бъде оценен, 14 и 2 участници имаха съответно първоначално ниско положителен резултат за MTB и невъзможна за отчитане резистентност към INH. При валидно повтаряне 7 и 0 материала все още бяха съответно с ниско положителен резултат за MTB и с невъзможна за отчитане резистентност към INH.

От 384 реално положителни резултата за MTB от обработени храни 115 имаха референтен метод за INH, който не може да бъде оценен. Измежду 269 материала, реално положителни за MTB и с RM за INH, който може да бъде оценен, 29 и 3 участници имаха съответно първоначално ниско положителен резултат за MTB и невъзможна за отчитане резистентност към INH. При валидно повтаряне 15 и 2 материала все още бяха съответно с ниско положителен резултат за MTB и с невъзможна за отчитане резистентност към INH.

Таблица 9: Цялостна производителност за INH спрямо комбиниран RM (култура/DST) от замразени материали

	Необработени храни	Обработени храни
Цялостна чувствителност	100%	100%
	(43/43)	(41/41)
	(91,8%, 100%)	(91,4%, 100%)
Цялостна специфичност	100%	100%
	(199/199)	(209/209)
	(98,1%, 100%)	(98,2%, 100%)

Общо 643 необработени и 678 обработени материали от храчки бяха базирани на съвместими материали от храчки и отговаряха на резултатите за BD MAX MDR-TB. Първоначален невъзможен за отчитане резултат от BD MAX беше повторен. Таблица 10 обобщава честотата на резултати „Неопределен“, „Неразрешен“ и „Незавършен“ за MTB по вид материал.

Таблица 10: Честоти на резултати „UNR“, „IND“, „INC“ и комбинирана невъможна за отчитане по вид храчка, от замразени MTB

	Неразрешен за MTB (UNR)		Неопределен (IND)		Незавършен (INC)		Общ брой невъможни за отчитане (UNR+IND+INC)	
Тип проба	Първоначална (95% ДИ)	Валидно повторение (95% ДИ)	Първоначална (95% ДИ)	Валидно повторение (95% ДИ)	Първоначална (95% ДИ)	Валидно повторение (95% ДИ)	Първоначална (95% ДИ)	Валидно повторение (95% ДИ)
Необработени храчки	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%)
Обработени храчки	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%)

Клиничните работни характеристики на анализа BD MAX MDR-TB бяха определени във второ многоцентрово изследователско изпитване. Изпитването използва проспективно прясно събрани замразени материали от четири държави, за които се знае, че имат висока честота на случаи на TB и MDR-TB. Участниците в изпитването бяха включени в групата за откриване на случаи, ако за тях има суспекция за наличие на туберкулоза (TB), ако са на поне 18-годишна възраст и или не са приемали противотуберкуозна терапия, или са приемали по-малко от три (3) дни терапия през последните шест (6) месеца. Участниците в изпитването бяха включени в групата на резистентна TB, ако за тях има суспекция за наличие на туберкулоза (TB), ако са на поне 18-годишна възраст и изпълняват поне един от следните критерии: i) известна белодробна TB със заподозрян неуспех на лечението, ii) анамнеза за лекарствено-резистентна TB и за противотуберкуозна терапия в продължение на 3 месеца или повече, iii) белодробна TB, потвърдена микробиологично, с документирана резистентност към RIF при получена противотуберкуозна терапия в продължение на 31 дни или по-малко.

Работните характеристики за MTB бяха определени само от популацията от групата за засичане на случаи. За определяне на работните характеристики за резистентност към RIF и INH двете популации бяха комбинирани. Всяка прясна проба от храчка беше разделена на две (2) части: една част бе смляна чрез метода за смилане с NALC/NaOH⁷ (обработена), а другата част бе счетена за необработения материал (без смилане). Всеки от четирите (4) центъра извършиха анализа BD MAX MDR-TB върху обработените и необработените части от материалите и референтния метод (RM) върху обработената храчка, който беше течна култура, последвана от тестване на лекарствена чувствителност (DST) и тест за амплификация на нуклеинови киселини (NAAT) Cepheid Xpert MTB/RIF. От BD беше извършено двупосочно секвениране от регион от гена *rpoB*, за да се потвърдят резултатите за засечена резистентност към RIF от NAAT. За MTB трябваше или културата, или NAAT да е положителен, за да има положителен RM. И двата метода трябваше да бъдат отрицателни, за да се получи отрицателен RM. За резистентност към RIF трябваше DST или NAAT, последван от двупосочно секвениране, да е положителен, за да има положителен RM. И двата метода трябваше да бъдат отрицателни, за да се получи отрицателен RM. За INH само културата/DST беше RM. Бяха извършени оцветявания по Ziehl-Neelsen и Auramine-O върху обработените и необработените части.

Общо 1 091 и 11 участници бяха включени в изпитването, съответно в групата за засичане на случаи и в групата на резистентна TB. От тях 1 076 и 10 участници отговаряха на критериите на протокола за съответно групата за засичане на случаи и в групата на резистентна TB. Общо 1 053 и 10 пациенти, съответно от групата за засичане на случаи и в групата на резистентна TB, предоставиха съвместими материали от храчки. Материалите бяха изключвани от изпитването поради неправилно манипулиране и обработване на материал, неадекватно количество получен материал, липса на съответстващи резултати от BD MAX и прекалено стар материал за изследване. Общо 1 033 необработени и 1 034 обработени материали от храчки отговаряха на нивата за BD MAX MDR-TB. От тях 889 необработени храчки и 899 обработени храчки от 911 пациенти бяха включени в изчисленията за работни характеристики. Четиристотин осемдесет и девет (489) мъже и четиристотин двадесет и две (422) жени бяха включени в работните характеристики. Материалите, които дадоха несъответстващ или липсващ резултат от RM или липсващ резултат от BD MAX, бяха премахнати от изчисленията за клинични данни. Всеки първоначален невъзможен за отчитане резултат от BD MAX беше повторен.

Таблица 11 обобщава полученото разпространение за всяка цел по държава.

Таблица 11: Разпространение на MTB, резистентност към RIF и INH по държава, от пресни материали

Страна на събиране	RM разпространеност					
	MTB	RIF	INH	Резистентност само към RIF (INH чувствителен) ^a	Резистентност само към INH (RIF чувствителен) ^a	Резистентен към RIF и към INH ^a
Индия	43,6% (58/133)	4,9% (2/41)	14,0% (7/50)	0,0% (0/41)	9,8% (4/41)	4,9% (2/41)
Перу	56,6% (151/267)	11,5% (15/130)	15,6% (22/141)	3,1% (4/129)	7,8% (10/129)	7,8% (10/129)
Южна Африка	10,6% (34/320)	3,8% (1/26)	3,4% (1/29)	0,0% (0/26)	0,0% (0/26)	3,8% (1/26)
Уганда	33,7% (88/261)	2,9% (2/68)	3,9% (3/77)	2,9% (2/68)	4,4% (3/68)	0,0% (0/68)
Общо	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 Знаменателят са всички материали, имали възможен за отчитане положителен или отрицателен резултат както за комбинирания RIF RM (култура/DST плюс NAAT и двупосочно секвениране), така и за INH RM (култура/DST).

Таблицы 12 и 13 обобщават работните характеристики на MTB, стратифицирани по методи за оцветяване по аурмин О и Ziehl-Neelsen, когато методът е извършен съответно от необработените и обработените храчки.

Таблица 12: Чувствителност на пресен MTB, стратифицирана по методи за оцветяване по аурмин О и Ziehl-Neelsen, когато методът за оцветяване е извършен съответно от необработените храчки.

Методи за оцветяване, извършени от необработените храчки	Метод аурмин О ^a		Метод Ziehl-Neelsen ^b	
	Анализ BD MAX MDR-TB, извършен от		Анализ BD MAX MDR-TB, извършен от	
	Необработени храчки	Обработени храчки	Необработени храчки	Обработени храчки
	Процент (95% ДИ)	Процент (95% ДИ)	Процент (95% ДИ)	Процент (95% ДИ)
Чувствителност, положителна на натривка	100% (178/178) (97,9%, 100%)	100% (176/176) (97,9%, 100%)	100% (149/149) (97,5%, 100%)	100% (147/147) (97,5%, 100%)
Чувствителност, отрицателна на натривка	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%)

^a Резултатите по натривка не бяха налични за 3 материала с отрицателен референтен метод.

^b Резултатите по натривка не бяха налични за 2 материала с отрицателен референтен метод.

Таблица 13: Чувствителност на пресен MTB, стратифицирана по методи за оцветяване по аурмин О и Ziehl-Neelsen, когато методът за оцветяване е извършен съответно от обработените храчки.

Методи за оцветяване, извършени от обработените храчки	Метод аурмин О ^a		Метод Ziehl-Neelsen ^b	
	Анализ BD MAX MDR-TB, извършен от		Анализ BD MAX MDR-TB, извършен от	
	Необработени храчки	Обработени храчки	Необработени храчки	Обработени храчки
	Процент (95% ДИ)	Процент (95% ДИ)	Процент (95% ДИ)	Процент (95% ДИ)
Чувствителност, положителна на натривка	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%)
Чувствителност, отрицателна на натривка	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%)

^a Резултатите по натривка не бяха налични за 2 материала с отрицателен референтен метод.

^b Резултатите по натривка не бяха налични за 3 материала с отрицателен референтен метод.

Таблица 14 обобщава чувствителността и специфичността по вид материал и местата на пробовзимане за MTB.

Таблицы 15 и 16 обобщават чувствителността и специфичността по вид материал за резистентност към RIF и INH.

Таблица 14: Чувствителност и специфичност на пресен МТВ спрямо комбиниран RM (култура плюс NAAT)

Център	Необработени храни		Обработени храни	
	Чувствителност	Специфичност	Чувствителност	Специфичност
	Процент (95% ДИ)	Процент (95% ДИ)	Процент (95% ДИ)	Процент (95% ДИ)
Южна Африка	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%)
Уганда	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%)
Индия	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%)
Перу	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%)
Цялостно	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%)

От 275 плюс 3 реално положителни резултата за МТВ от необработени храни от групата за засичане на случаи и групата за резистентност, 44 имаха комбиниран референтен метод за RIF, който не може да бъде оценен. Измежду 234 материала, реално положителни за МТВ и с RM за RIF, който може да бъде оценен, 16 и 3 участници имаха съответно първоначално ниско положителен резултат за МТВ и невъзможна за отчитане резистентност към RIF. При валидно повтаряне 9 и 2 материала все още бяха съответно с ниско положителен резултат за МТВ и с невъзможна за отчитане резистентност към RIF.

От 263 плюс 3 реално положителни резултата за МТВ от обработени храни от групата за засичане на случаи и групата за резистентност, 36 имаха комбиниран референтен метод за RIF, който не може да бъде оценен. Измежду 230 материала, реално положителни за МТВ и с RM за RIF, който може да бъде оценен, 28 и 4 участници имаха съответно първоначално ниско положителен резултат за МТВ и невъзможна за отчитане резистентност към RIF. При валидно повтаряне 13 и 1 материала все още бяха съответно с ниско положителен резултат за МТВ и с невъзможна за отчитане резистентност към RIF.

Таблица 15: Цялостна производителност за RIF спрямо комбиниран RM, култура/DST плюс NAAT и двупосочно секвениране, от пресни материали

	Необработени храни	Обработени храни
Цялостна чувствителност	94,1% (16/17) ^a (73%, 99%)	93,8% (15/16) ^b (71,7%, 98,9%)
Цялостна специфичност	98,5% (202/205) (95,8%, 99,5%)	97,4% (191/196) (94,2%, 98,9%)

^a От 17 материала, резистентни към RIF, 7 бяха DST RIF чувствителни или не можеха да бъдат оценени, но Xpert MTB/RIF беше със „Засечена резистентност към RIF“ и двупосочното секвениране потвърди резистентността. Засечените резистентности бяха L511P, D516Y, D516F, H526N и L533P.

^b От 16 материала, резистентни към RIF, 6 бяха DST RIF чувствителни, но Xpert MTB/RIF беше със „Засечена резистентност към RIF“ и двупосочното секвениране потвърди резистентността. Засечените резистентности бяха L511P, D516Y, D516F и L533P.

От 275 плюс 3 реално положителни резултата за МТВ от необработени храни от групата за засичане на случаи и групата за резистентност, 26 имаха референтен метод за INH, който не може да бъде оценен. Измежду 252 материала, реално положителни за МТВ и с RM за INH, който може да бъде оценен, 22 и 8 участници имаха съответно първоначално ниско положителен резултат за МТВ и невъзможна за отчитане резистентност към INH. При валидно повтаряне 17 и 2 материала все още бяха съответно с ниско положителен резултат за МТВ и с невъзможна за отчитане резистентност към INH.

От 263 плюс 3 реално положителни резултата за МТВ от обработени храни от групата за засичане на случаи и групата за резистентност, 23 имаха референтен метод за INH, който не може да бъде оценен. Измежду 243 материала, реално положителни за МТВ и с RM за INH, който може да бъде оценен, 35 и 12 участници имаха съответно първоначално ниско положителен резултат за МТВ и невъзможна за отчитане резистентност към INH. При валидно повтаряне 19 и 10 материала все още бяха съответно с ниско положителен резултат за МТВ и с невъзможна за отчитане резистентност към INH.

Таблица 16: Цялостна производителност за INH спрямо комбиниран RM (култура/DST) от пресни материали

	Необработени храчки	Обработени храчки
Цялостна чувствителност	81,5% (22/27) (63,3%, 91,8%)	84% (21/25) (65,3%, 93,6%)
Цялостна специфичност	100% (205/205) (98,2%, 100%)	100% (188/188) (98%, 100%)

Общо 1 033 необработени и 1 034 обработени материали от храчки бяха базирани на съвместими материали от храчки и отговаряха на резултатите за BD MAX MDR-TB. Първоначален невъзможен за отчитане резултат от BD MAX беше повторен. Таблица 17 обобщава честотата на резултати „Неопределен“, „Неразрешен“ и „Незавършен“ за MTB по вид материал.

Таблица 17: Честоти на резултати „UNR“, „IND“, „INC“ и обща невъзможна за отчитане по вид храчка, от пресни MTB

	Неразрешен за MTB (UNR)		Неопределен (IND)		Незавършен (INC)		Общ брой невъзможни за отчитане (UNR+IND+INC)	
Тип проба	Първоначална (95% ДИ)	Валидно повторение (95% ДИ)	Първоначална (95% ДИ)	Валидно повторение (95% ДИ)	Първоначална (95% ДИ)	Валидно повторение (95% ДИ)	Първоначална (95% ДИ)	Валидно повторение (95% ДИ)
Необработени храчки	3,8% (39/1 033) (2,8%, 5,1%)	1,0% (10/1 020) (0,5%, 1,8%)	2,8% (29/1 033) (2,0%, 4,0%)	0,6% (6/1 020) (0,3%, 1,3%)	0,6% (6/1 033) (0,3%, 1,3%)	0,6% (6/1 020) (0,3%, 1,3%)	7,2% (74/1 033) (5,7%, 8,9%)	2,2% (22/1 020) (1,4%, 3,2%)
Обработени храчки	2,7% (28/1 034) (1,9%, 3,9%)	0,3% (3/1 022) (0,1%, 0,9%)	1,3% (13/1 034) (0,7%, 2,1%)	0,1% (1/1 022) (0,0%, 0,6%)	0,7% (7/1 034) (0,3%, 1,4%)	0,4% (4/1 022) (0,2%, 1,0%)	4,6% (48/1 034) (3,5%, 6,1%)	0,8% (8/1 022) (0,4%, 1,5%)

Включване в анализи

В това изпитване бяха включени разнообразни таргетни щамове за анализ BD MAX TB-MDR. Критериите за селекция на щам включваха изолати с чувствителност и резистентност към рифампин и изониазид от различни географски области. В това изпитване беше включена комбинация от количествено определени организми, топлинни клетъчни лизати (получени от обществената сбирка на Belgian Coordinated Collections of Microorganisms/Institute of Tropical Medicine (BCCM/ITM)) и геномна ДНК. Четиридесет и четири (44) добре характеризирани щама *M. tuberculosis* бяха тествани за засичане на RIF/INH с анализа BD MAX MDR-TB (Таблица 18 и 19). Щамовете, тествани за включени видове в комплекса *M. tuberculosis*, бяха: *M. africanum*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. cannetti*, *M. microti*, *M. pinnipedii* (Таблица 20).

Таблица 18: Тестване за резистентност с анализа BD MAX MDR-TB с топлинни клетъчни лизати

ID на щам	Произход	Резистентност към рифампин ^a		Резистентност към изониазид ^b			Резултати от BD MAX MDR-TB
		R/S	RRDR кодон	R/S	katG кодон	inhApr нуклеотид	
041679	Непал	R	Ser512Gly Ser531Trp	R	Ser315Thr	WT	Засечена резистентност към RIF и INH Засечена мутация в <i>katG</i> HE E засечена мутация в <i>inhApr</i>
971524	Бангладеш	R	Met515Ile Asp516Tyr	S	WT	WT	Засечена резистентност към RIF
980166	Бангладеш	R	Ser509Arg His526Arg	S	WT	WT	Засечена резистентност към RIF
970472	Бангладеш	S	WT	R	Ser315Ile	WT	Засечена резистентност към INH Засечена мутация в <i>katG</i> HE E засечена мутация в <i>inhApr</i>
041204	Южна Корея	R	Asp516Val	R	WT	C-15T	Засечена резистентност към RIF и INH HE E засечена мутация в <i>katG</i> Засечена мутация в <i>inhApr</i>
041207	Южна Корея	R	Ser531Leu	R	WT	G-9A	Засечена резистентност към RIF и INH HE E засечена мутация в <i>katG</i> Засечена мутация в <i>inhApr</i>
041226	Южна Корея	R	Leu511 Pro	R	Ser315Thr	WT	Засечена резистентност към RIF и INH Засечена мутация в <i>katG</i> HE E засечена мутация в <i>inhApr</i>

ID на щам	Произход	Резистентност към рифампин ^a		Резистентност към изониазид ^b			Резултати от BD MAX MDR-TB
		R/S	RRDR кодон	R/S	<i>katG</i> кодон	<i>inhA</i> нуклеотид	
041203	Южна Корея	S	WT	R	Ser315Thr	WT	Засечена резистентност към INH Засечена мутация в <i>katG</i> HE E засечена мутация в <i>inhA</i>
042763	Филипини	R	Ser531Leu	R	WT	C-15T	Засечена резистентност към RIF и INH HE E засечена мутация в <i>katG</i> Засечена мутация в <i>inhA</i>
000440	Казахстан	R	Ser531Trp	R	Ser315Thr	WT	Засечена резистентност към RIF и INH Засечена мутация в <i>katG</i> HE E засечена мутация в <i>inhA</i>
020115	Грузия	S	WT	R	WT	C-15T	Засечена резистентност към INH HE E засечена мутация в <i>katG</i> Засечена мутация в <i>inhA</i>
042928	Испания	S	WT	R	Ser315Asn	WT	Засечена резистентност към INH Засечена мутация в <i>katG</i> HE E засечена мутация в <i>inhA</i>
041668	Германия	S	WT	R	Ser315Thr	C-15T	Засечена резистентност към INH Засечена мутация в <i>katG</i> Засечена мутация в <i>inhA</i>
992092	Франция	R	Ser531Leu	R	Ser315Thr	WT	Засечена резистентност към RIF и INH Засечена мутация в <i>katG</i> HE E засечена мутация в <i>inhA</i>
041655	Боливия	R	Ser531Leu	R	Ser315Asn	WT	Засечена резистентност към RIF и INH Засечена мутация в <i>katG</i> HE E засечена мутация в <i>inhA</i>
041290	Бразилия	S	WT	R	Ser315Thr	WT	Засечена резистентност към INH Засечена мутация в <i>katG</i> HE E засечена мутация в <i>inhA</i>
041281	Бразилия	R	Asp516Val	S	Ser315Ser	WT	Засечена резистентност към RIF и INH ^c Засечена мутация в <i>katG</i> HE E засечена мутация в <i>inhA</i>
041289	Бразилия	R	His526Arg	R	Ser315Thr	C-15T	Засечена резистентност към RIF и INH Засечена мутация в <i>katG</i> Засечена мутация в <i>inhA</i>
042611	Перу	R	His526Arg	R	Ser315Asn	WT	Засечена резистентност към RIF и INH Засечена мутация в <i>katG</i> HE E засечена мутация в <i>inhA</i>
040850	Южна Африка	R	Leu533Pro	R	Ser315Thr	T-8G	Засечена резистентност към RIF и INH Засечена мутация в <i>katG</i> Засечена мутация в <i>inhA</i>
041086	Руанда	R	Ser531Leu	R	Ser315Thr	C-15T	Засечена резистентност към RIF и INH Засечена мутация в <i>katG</i> Засечена мутация в <i>inhA</i>
991451	Конго	R	Asp516Tyr	R	Ser315Thr	WT	Засечена резистентност към RIF и INH Засечена мутация в <i>katG</i> HE E засечена мутация в <i>inhA</i>
021555	Бурунди	S	WT	R	Ser315Thr	WT	Засечена резистентност към INH Засечена мутация в <i>katG</i> HE E засечена мутация в <i>inhA</i>

^a R= Резистентен към рифампин, S= Чувствителен към рифампин, WT =див щам, без промени в нуклеотид или кодон

^b R= Резистентен към изониазид, S= Чувствителен към изониазид, WT =див щам, без промени в нуклеотид или кодон

^c Фенотипно чувствителен към INH, но резистентен към INH според ДНК секвенция и BD MAX MDR-TB

Таблица 19: Тестване за резистентност с анализа BD MAXTM MDR-TB с изолати на *Mycobacterium* от хранилища на BD

ID на щам	Резистентност към рифампицин		Резистентност към изониазид			Резултати от BD MAX MDR-TB
	R/S	RRDR кодон	R/S	<i>katG</i> кодон	<i>inhA</i> нуклеотид	
TB006	R	Gln513Lys	R	WT	C-15T	Засечена резистентност към RIF и INH НЕ Е засечена мутация в <i>katG</i> Засечена мутация в <i>inhA</i>
TB007	R	Gln513Lys	R	WT	C-15T	Засечена резистентност към RIF и INH НЕ Е засечена мутация в <i>katG</i> Засечена мутация в <i>inhA</i>
TB009	R	Gln513Lys	S	WT	WT	Засечена резистентност към RIF
TB010	R	Ser531Leu	R	Ser315Thr	WT	Засечена резистентност към RIF ^c и INH Засечена мутация в <i>katG</i> НЕ Е засечена мутация в <i>inhA</i>
TB012 ^a	R	His526Tyr	R	Ser315Thr	WT	Засечена резистентност към RIF и INH Засечена мутация в <i>katG</i> НЕ Е засечена мутация в <i>inhA</i>
TB022	R	His526Tyr	S	WT	WT	Засечена резистентност към RIF
TB023	R	Asp516Tyr	R	Ser315Thr	WT	Засечена резистентност към RIF и INH Засечена мутация в <i>katG</i> НЕ Е засечена мутация в <i>inhA</i>
TB028	R	His526Tyr	R	Ser315Thr	C-15T	Засечена резистентност към RIF и INH Засечена мутация в <i>katG</i> Засечена мутация в <i>inhA</i>
TB037	R	Asp516Val	R	Ser315Thr	WT	Засечена резистентност към RIF и INH Засечена мутация в <i>katG</i> НЕ Е засечена мутация в <i>inhA</i>
TB041	R	His526Asp	S	WT	WT	Засечена резистентност към RIF
TB047	R	делеция в кодон 519 (AAC)	S	WT	WT	Засечена резистентност към RIF
TB049	R	Asp516Val	S	WT	WT	Засечена резистентност към RIF, резистентност към INH не е възможна за отчитане ^b
TB053	R	Ser531Leu	R	Ser315Thr	WT	Засечена резистентност към RIF и INH Засечена мутация в <i>katG</i> НЕ Е засечена мутация в <i>inhA</i>
TB058	R	Asp516Val	R	Ser315Thr	WT	Засечена резистентност към RIF и INH Засечена мутация в <i>katG</i> НЕ Е засечена мутация в <i>inhA</i>
TB059	R	His526Asp	R	Ser315Thr	WT	Засечена резистентност към RIF и INH Засечена мутация в <i>katG</i> НЕ Е засечена мутация в <i>inhA</i>
TB062	R	His526Arg	S	WT	WT	Засечена резистентност към RIF
TB063	R	Gln513Glu	R	Ser315Thr	WT	Засечена резистентност към RIF и INH Засечена мутация в <i>katG</i> НЕ Е засечена мутация в <i>inhA</i>
TB094	R	Leu511Pro Ser512Thr	S	WT	WT	Засечена резистентност към RIF
TB112	R	His526Leu	R	Ser315Thr	WT	Засечена резистентност към RIF Засечена мутация в <i>katG</i> НЕ Е засечена мутация в <i>inhA</i>
TB121	S	WT	R	Ser315Asn	C-15T	Засечена резистентност към INH Засечена мутация в <i>katG</i> Засечена мутация в <i>inhA</i>
TB123	S	WT	R	Ser315Thr	WT	Засечена резистентност към INH Засечена мутация в <i>katG</i> НЕ Е засечена мутация в <i>inhA</i>

^a Геномна ДНК

^b Фенотипно чувствителен към INH, но INH невъзможен за отчитане чрез ДНК секвенция и BD MAX MDR-TB

^c 20% от тестваните копия са били невъзможни за отчитане на RIF за изолат TB010 при тестваната концентрация. Мутацията Ser531Leu е успешно открита в изолат TB053, поради което TB010 не е тестван при по-високи концентрации.

Таблица 20: Включени щамове *M. tuberculosis*

Организъм от MTB комплекс	ID на щам
<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 Топлинен клетъчен лизат^b Геномна ДНК**Аналитична чувствителност**

Аналитичната чувствителност (Граница на откриваемост или LoD) за анализа BD MAX MDR-TB бе определена, както следва: Изолати от BCG (Bacillus Calmette-Guérin) организми *M. tuberculosis* и *M. bovis* бяха приготвени и анализирани количествено преди включване в това изпитване. Организмите бяха прехвърлени в епруветка за проба, която вече съдържа хранка или седимент от хранка, третиран с STR, която беше определена предварително като отрицателна за всички таргети, които се засичат от анализа BD MAX MDR-TB. За всеки организъм бе определен предполагаема LoD, тествана чрез минимум 36 реплики на вид проба (хранка или седимент от хранка), използвайки 3 различни производствени партии от анализа BD MAX MDR-TB. LoD за определен организъм бе потвърдена чрез тестване на поне 20 допълнителни реплики в определената концентрация на LoD. Аналитичната чувствителност (LoD), дефинирана като най-ниската концентрация, при която повече от или 95% от всички реплики се очакват да излязат положителни на тест (вижте таблица 21).

Таблица 21: Граница на откриваемост според BD MAX MDR-TB

Микроорганизъм (щам)	Претендирана LoD	Хранки (CFU/ml)	Утайка от хранка (CFU/ml)
<i>M. bovis</i> (BCG)	MTBC	0,5	20
	Резистентност	3,75	
<i>M. tuberculosis</i> (H37Rv)	MTBC	0,25	
	Резистентност	6,0	

Аналитична специфичност (кръстосана реактивност и изключване)

Анализът BD MAX MDR-TB бе извършен на проби, съдържащи филогенетично сродни видове и други организми (бактерии, вируси и гъбички), за които е вероятно да бъдат открити в проби от хранки. Бактериалните клетки и гъбичките бяха тествани в епруветката с буфер за проби при $\geq 1 \times 10^6$ клетки/ml или CFU/ml и *Chlamydia* при $> 1 \times 10^6$ EB/ml, в човешки хранки, третирани с STR. Видове вируси, бактерии или гъбички, които не се придобиват лесно, преминаха анализ *in silico* с всеки таргетен анализ MDR-TB. Цялостно бяха тествани 114 организми, които са изброени в таблица 22. Организмите, които преминаха анализ *in silico*, са изброени в таблица 23. Всички тествани бактериални щамове и гъбички дадоха отрицателни резултати с анализа BD MAX MDR-TB.

Таблица 22: Резултати за специфичност за BD MAX MDR-TB (Бактерии, гъбички и вируси)

Организъм		
<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Escherichia coli</i> , продуциращ 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 parapertussis</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>

Организъм		
<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 intercellulare</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 pneumoniae</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<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>	

Таблица 23: Анализ *ин силико* за BD MAX MDR-TB

Организъм	
Adenovirus (Аденовирус)	<i>Moraxella catarrhalis</i>
Human Immunodeficiency Virus (ХИВ вирус)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Human Influenza Virus (Човешки грипен вирус) (Тип А)	<i>Mycobacterium abscessus</i>
Human Influenza Virus (Човешки грипен вирус) (Тип В)	<i>Mycobacterium flavescens</i>
Human Metapneumovirus (Човешки метапневмовирус)	<i>Mycobacterium kumamotoense</i>
Human Parainfluenza Virus (Човешки парагрипен вирус) Тип 1	<i>Mycobacterium leprae</i>
Human Parainfluenza Virus (Човешки парагрипен вирус) Тип 2	<i>Mycobacterium obuense</i> ^a
Human Parainfluenza Virus (Човешки парагрипен вирус) Тип 3	<i>M. shimoidei</i> ^a
Human Parainfluenza Virus (Човешки парагрипен вирус) Тип 4	<i>Nocardia farcinica</i>
Mumps Virus (Паротитен вирус)	<i>Nocardia brasiliensis</i>
Respiratory Syncytial Virus (Респираторен синцитиален вирус)	<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>
Rhinovirus (Риновирус)	<i>Penicillium</i> spp.
Rubella Virus (Вирус на рубеола)	<i>Rhizopus</i> spp.
Rubeola Virus (Вирус на морбили)	<i>Scedosporium</i> spp.
Varicella Zoster Virus (Варицела Зостер вирус)	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Streptomyces anulatus</i>
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	<i>Tsukamurella</i> spp.
<i>Histoplasma capsulatum</i>	

^a Изискваните праймери за амплификация на таргетна ДНК при *M. obuense* и *M. shimoidei* също имат няколко несъответствия на чифтове бази, което намалява амплификационната ефикасност на тези цели.

Интерфериращи субстанции

Тридесет и четири (34) биологични и химични субстанции, които понякога могат да бъдат налични в човешки храчки, бяха оценени за потенциална интерференция с анализа BD MAX MDR-TB. Субстанциите бяха тествани при нива, описани в таблица 24 по-долу, както в присъствие, така и при отсъствие на *M. bovis* BCG при LoD 2x MTBC. От 34 тествани субстанции само една субстанция, 5% муцин, демонстрира инхибиране на анализа. Когато муцинът беше разреден до 1,5%, инхибицията вече не се наблюдаваше. Не се наблюдава друга възможна за отчитане интерференция с останалите тествани субстанции (вижте таблица 24).

Таблица 24: Ендогенни и екзогенни субстанции, тествани с BD MAX MDR-TB

Субстанция	Резултат	Субстанция	Резултат
Лидокаин (12 µg/ml)	NI	Фенилефрин (50% v/v)	NI
Мупироцин (5% w/v)	NI	Оксиметазолин (20% v/v)	NI
Стрептомицин (25 µg/ml)	NI	Натриев хлорид назален спрей (100%)	NI
Занамивир (10 mg/ml)	NI	NaCl (5% w/v)	NI
Човешка кръв (40% v/v)	NI	Бензокаин (5% w/v)	NI
Стомашна киселина (100%)	NI	Гуайфенезин (5 mg/ml)	NI
Човешка ДНК (1,0 E + 6 клетки/ml)	NI	Цетилпиридиниум хлорид (0,5%)	NI
Човешки бели кръвни клетки (100% бяла пелена)	NI	Никотин (4 µg/ml)	NI
Муцин (5%)	I ^a	Тобрамицин (24 µg/ml)	NI
Листерин (20% v/v)	NI	Амоксицилин (75,2 µg/ml)	NI
Епинефрин (1 mg/ml)	NI	Левовлоксацин (5 mg/ml)	NI
Масло от чаено дърво (1% v/v)	NI	Пентамидин (300 ng/ml)	NI
Хидрастис (100%)	NI	Изониазид (50 µg/ml)	NI
Албутерол сулфат (100 µg/ml)	NI	Рифампин (120 µg/ml)	NI
Будезонид (12,8 µg/ml)	NI	Пиразинамид (500 µg/ml)	NI
Флутиказон (5 µg/ml)	NI	Етамбутол (60 µg/ml)	NI
Зикам (1 натривка/1,67 ml проба от храчка)	NI	Стрептомицин (25 µg/ml)	NI

NI: Няма отчетена интерференция върху анализа BD MAX MDR-TB.

I: Отчетена интерференция върху анализа BD MAX MDR-TB.

^a 1,5% w/v максимална концентрация, където не беше наблюдавана интерференция.

Смесена инфекция – Конкурентна интерференция

Изпитването за смесена инфекция/конкурентна интерференция беше проектирано да оцени възможността на анализа BD MAX MDR-TB да засича слабо положителни резултати при наличие на организми, различни от *Mycobacterium tuberculosis* (NTM), които могат да бъдат налични в човешки храчки. Четири (4) организма бяха тествани при висока концентрация (1×10^6 клетки/ml храчки), смесени с *M. bovis* BCG при 2x MTBC LoD. Тестваните организми бяха *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii* и *M. malmoense*. MTBC беше успешно засечен от анализа BD MAX MDR-TB при комбинация със симулираната висока таргетна концентрация на подготвената смесена инфекция.

Прецизност

Прецизността в лабораторията беше оценена за анализа BD MAX MDR-TB в един (1) център. Тестването беше извършено в продължение на 12 дни, с 2 изпълнения на ден (по едно от всеки от двама оператора) за общо 24 изпълнения. Всеки панел съдържа див вид щам на *M. tuberculosis* (чувствителен към RIF и INH) и бяха приготвени в матрица от необработени храчки. Следните концентрации бяха използвани като нива на инокулата за таргетния организъм, съдържащ се във всяка проба от набора:

- Умерено положително ниво на резистентност (MP): ≥ 2 и $\leq 3 \times$ LoD
- Умерено положително ниво на MTB (MP): ≥ 2 и $\leq 3 \times$ LoD
- Ниско положително ниво на резистентност (LP): ≥ 1 и $< 2 \times$ LoD
- Ниско положително ниво на MTB (LP): ≥ 1 и $< 2 \times$ LoD
- Истински отрицателно (TN): Отрицателни проби (без таргет)

Резултатите за пробите с TN, MP за резистентност, MP за MTB и MP за резистентност от изпитването за прецизност демонстрираха 100% съответствие (Таблица 25). Резултатите за пробите с LP за резистентност от изпитването за прецизност демонстрираха 98,6% съответствие. Всички първоначални невъзможни за отчитане резултати с изключение на един бяха повторени в съответствие с инструкциите в листовката на опаковката. Пробите, които първоначално показаха резултат <Ниско положителен MTB>, след повтаряне показаха очаквания резултат.

Таблица 25: Резултати от изпитване за прецизност, използващо една партида от анализа BD MAX MDR-TB

Категория	Съответствие с очаквани резултати	
	<i>M. tuberculosis</i> (95% ДИ)	Резистентност (95% ДИ)
MP	100% 72/72 (94,9–100,0)	100% 72/72 (94,9–100,0)
LP	100% 72/72 (94,9–100,0)	98,6% 70/71 (92,4–99,8)
TN ^a	100% 72/72 (94,9–100,0)	100% 72/72 (94,9–100,0)

^a За категория „Истински отрицателно“ (TN) докладваното съответствие показва процента отрицателни резултати.

Възпроизводимост

Изпитването за възпроизводимост апарат-по-апарат беше извършено, използвайки същите панели, които бяха описани за изпитването за прецизност по-горе.

Пробите във всяка категория бяха тествани трикратно, в пет (5) различни дни, от двама (2) различни технолози, на три (3) различни апарата, използвайки една (1) партида реагенти.

За възпроизводимост апарат-по-апарат цялостното процентно съответствие беше 100% за MP за MTB, LP за MTB, MP и TN за резистентност. Цялостното процентно съответствие беше 97,8% за LP за резистентност (Таблица 26). Количественото съответствие в центровете и по категория проба е представено по-долу в таблица 27.

Таблица 26: Резултати от изпитване за възпроизводимост апарат-по-апарат, използващо една партида от анализа BD MAX MDR-TB

Категория	Instrument (Апарат) 1	Instrument (Апарат) 2	Instrument (Апарат) 3	Цялостно	
				Съответствие	95% ДИ
TN	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)	(95,9–100,0)
LP за MTB	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)	(95,9–100,0)
LP за резистентност	100% (30/30)	96,6% (28/29)	96,7% (29/30)	97,8% (87/89)	(92,2–99,4)
MP за MTB	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)	(95,9–100,0)
MP за резистентност	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)	(95,9–100,0)

Таблица 27: Цялостни резултати от изпитване за възпроизводимост апарат-по-апарат с подлежащ цифрен резултат СТ

Променлива	Категория	Съответствие/N	Средна	По време на изпълнение		Между изпълнения През деня		Между дните		Между апаратите		Цялостно	
				Станд. отклонение (Ст.О)	%CV	Станд. отклонение (Ст.О)	%CV	Станд. отклонение (Ст.О)	%CV	Станд. отклонение (Ст.О)	%CV	Станд. отклонение (Ст.О)	%CV
Ct. скор (MTB1)	MP	59/90	38,6	0,81	2,1	0,00	0,0	0,21	0,6	0,00	0,0	0,84	2,2
	LP	52/90	38,5	0,88	2,3	0,38	1,0	0,00	0,0	0,18	0,5	0,98	2,5
Ct. скор (MTB2)	MP	90/90	35,8	0,70	1,9	0,00	0,0	0,00	0,0	0,12	0,3	0,71	2,0
	LP	90/90	36,1	0,74	2,1	0,00	0,0	0,06	0,2	0,29	0,8	0,80	2,2

ЗАБЕЛЕЖКА: Показаните стойности са тези, получени за таргета, в пробите, които дадоха резултат MTB Detected („Засечен MTB“).

За изпитването за възпроизводимост партида-по-партида три реплики проби във всяка категория бяха тествани с три партиди реагенти на един апарат, като бяха извършени 2 изпълнения на ден за пет различни дни. Използваните панели бяха същите като описаните под

заглавието „Прецизност“ по-горе. Резултатите от 5 дни от изпитването апарат-по-апарат бяха използвани за събиране на данни за една партида реагенти за изпитването партида-по-партида. За възпроизводимостта партида-по-партида цялостното процентно съответствие беше съответно 98,9% за MP за MTB, LP за MTB и MP за резистентност; 96,6% за LP за резистентност и 100% за TN (Таблица 28).

Таблица 28: Резултати от изпитване за възпроизводимост партида-по-партида, използващо три партии от анализа BD MAX MDR-TB

Категория	Партида 1	Партида 2	Партида 3	Цялостно	
				Съответствие	95% ДИ
TN	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)	(95,9%, 100%)
LP за MTB	100% (30/30)	100% (30/30)	96,7% (29/30)	98,9% (89/90)	(94,0%, 99,8%)
LP за резистентност	96,6% (28/29)	96,7% (29/30)	96,7% (29/30)	96,6% (86/89)	(90,6%, 98,8%)
MP за MTB	100% (30/30)	100% (30/30)	96,7% (29/30)	98,9% (89/90)	(94,0%, 99,8%)
MP за резистентност	100% (30/30)	96,7% (29/30)	100% (30/30)	98,9% (89/90)	(94,0%, 99,8%)

Пренасяне – Кръстосано замърсяване

Беше проведено изпитване за изследване на пренасянето при изпълнение и между изпълнения при обработване на проби с висок бактериален товар на MTBC в анализа BD MAX MDR-TB. Положителният панел, състоящ се от организъм MTBC, се инокулира в хрочки, третирани с STR при концентрация 1×10^6 CFU/ml. Отрицателните проби от набора не съдържат организми MTBC. Дванадесет (12) реплики от силно положителните проби от набора и 12 реплики от отрицателните проби от набора бяха тествани във всяко изпълнение чрез редуване на отрицателни и положителни проби. Бяха направени общо 9 изпълнения, съдържащи по 24 проби всяко, на множество апарати. От 108 отрицателни проби, тествани в това изпитване, една проба произведе положителен резултат.

СПРАВОЧНА ЛИТЕРАТУРА

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).

Хронология на промените

Редакция	Дата	Обобщение на промените
(08)	2019-06	Актуализирано R/S за ID на щам TB112 в таблица 19. Актуализиран лимит на разпознаване за хрочки (CFU/ml) за <i>M. tuberculosis</i> (H37Rv) MTBC в таблица 21.
(09)	2020-05	Печатните инструкции за употреба са преобразувани в електронен формат и е добавена информация за достъп за получаване на документа от bd.com/e-labeling . Пояснено предназначение. Добавена допълнителна информация към раздел „Реагенти и материали“. Актуализирани фигури 1, 2 и 3. Добавено ограничение относно педиатрични пациенти. Актуализиран и пояснен раздел „Работни характеристики“. Актуализирани адреси на австралийския и новозеландския възложител.
(10)	2020-11	Актуализирана информация за GHS в „Предупреждения и предпазни мерки“. Таблиците за ефективност бяха ревизирани след подобрение на откриването на резистентност към RIF, приложено в софтуера. Тази промяна доведе до актуализация на стойностите за откриване на RIF в таблици 2, 3, 5, 8, 9, 15, 16, 19, 25, 26 и 28 и свързаните с тях.

Някои от посочените по-долу символи може да не се отнасят за този продукт.

	Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvođač / Gyártó / Fabbicante / Атқарушы / 제조업체 / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirkir / Producent / Producător / Производитель / Výrobca / Proizvođač / Tillverkare / Üretici / Виробник / 生产厂商
	Use by / Използвайте до / Spotføjbedt do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / 사용 기한 / Upotrijebiti do / Felhasználhatóas dátuma / Usare entro / Дейін пайдалануға / Naudokite iki / Izlietot līdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Использовать до / Použite 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) EEEE-HH-NN / EEEE-HH (HH = hónap utolsó napja) AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) ЖӨЖӨЖ-АА-КК / ЖӨЖӨЖ-АА / (АА = айдың соңы) YYYY-MM-DD/YYYY-MM (MM = 월말) MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mēnesio pabaiga) GGGG-MM-DD/GGGG-MM (MM = mēneša beigas) JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutten av måneden) RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii) 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 / Каталог номер / 카탈로그 번호 / Katalogo / numeris / Kataloga numurs / Catalogus nummers / 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 / Оторизиран представител в Европейската общност / Autorizovaný zástupce pro Evropském společenství / Autoriseret repræsentant i De Europæiske Fællesskaber / Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Representante autorizad en la Comunidad Europea / Volitadud esindaja Euroopa Nõukogus / Représentant autorisé pour la Communauté européenne / Autorizirani predstavnik u Europskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségekben / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / 유럽 공동체의 위임 대표 / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo we Wspólnocie Europejskiej / Representante autorizado na Comunidade Europeia / Reprezentantul autorizat pentru Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupce v Európskom spoločenstve / Autorizovano predstavništvo u Evropskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen / Ανγρυρα Τοπλuluğu 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 biayuatitk itipitk osukeit / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In vitro diagnostika meditsiniaparaturat / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinska romagala za In Vitro Dijagnostiku / In vitro diagnostikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica in vitro / Жасанды жағдайда жүргізілетін медициналық диагностика аспабы / In Vitro Diagnostic 의료 기기 / In vitro diagnostikos prietaisas / Medicinas ierices, 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 / Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro / Медицинский прибор для диагностики ин витро / Medicinska romčka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / In Vitro Diyagnostik Tibbi Cihaz / Медицинский пристрій для діагностики in vitro / 体外诊断医疗设备
	Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμό θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperatuuri piirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hömersékleti határ / Limiti di temperatura / Temperaturany shekre / 온도 제한 / Laikymo temperatūra / Temperatūras ierobežojumi / Temperaturulimiet / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Органичення температури / 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) / Кωδικός παρτίδας (παρτίδα) / Código de lote (lote) / Partii kood / Numéro de lot / Lot (kod) / Tétel száma (Lot) / Codice batch (lotto) / Топтама коды / 배치 코드(로트) / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot nummer / Batch-kode (parti) / Kod parti (seria) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (not) / Kód série (šarža) / Kod serije / Partinummer (Lot) / Parti Kodu (Lot) / Код партии / 批号 (亚批)
	Contains sufficient for <n> tests / Съдържанието 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> tesztesz elegendő / Contenuto sufficiente per <n> test / <n> тесттери үшін жеткілікті / <n> 테스트가 충분히 포함됨 / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Satur pietiekami <n> pārbaudēm / Inhoud voldoende voor "n" testen / Innholder tilstrekkelig til <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Conteúdo suficiente para <n> testes / Conținut suficient pentru <n> teste / Достаточно для <n> тестов(а) / Obsah vystačí na <n> testov / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Innehåller tillräckligt för <n> analyser / <n> test igen yeterli malmeme 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 / Lugeđa 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 / Skaitlykite naudojimo instrukcijas / Skatīt lietošanas pamācību / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulter as instruções de utilização / Consultați instrucțiunile de utilizare / См. руководство по эксплуатации / Pozri Pokyny na používání / Pogledajte uputstvo za upotrebu / Se bruksanvisningen / Kullanım Talimatları'na başvurun / Див. інструкції з використання / 请参阅使用说明
	Do not reuse / Не използвайте отново / Nepoužívejte opakovaně / Ikke til genbrug / Nicht wiederverwenden / Μην επαναχρησιμοποιείτε / No reutilizar / Mitte kasutada korduvalt / Ne pas réutiliser / Ne koristiti ponovo / Egyszer használatos / Non riutilizzare / Пайдаланбаңыз / 재사용 금지 / Tik vienkartiniam naudojimui / Nelietot atkārtoti / Niet opnieuw gebruiken / Kun til engangsbruk / Nie stosować powtórnie / Não reutilize / Nu refolositi / Не использовать повторно / Nepoužívejte opakovane / Ne upotrebljavajte ponovo / Får ej återanvändas / Tekrar kulanmayın / Не використовувати повторно / 请勿重复使用
	Serial number / Серийн номер / Sériové číslo / Seriennummer / Σειριακός αριθμός / N° de serie / Seerianumber / Numéro de série / Serijski broj / Sorozatszám / Numero di serie / Топтамалық нөмірі / 일련 번호 / Serijos numeris / Sērijas numurs / Serie nummer / Numer seryjny / Numéro 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 / Réserve à l'évaluation des performances IVD / Samo u znanstvene svrhe za In Vitro Dijagnostiku / Kizárolag 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 av IVD-ytelse / Tyklo 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 účinka u in vitro diagnostici / Endast för utvärdering av diagnostisk användning in vitro / Yalnızca IVD Performans değerlandırması 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 / Najniza dozvoljena temperatura / Alsó hőmérsékleti határ / Limite inferiore di temperatura / Температураның төменгі рұқсат шегі / 하한 온도 / Žemiausia laikymo temperatūra / Temperatūras zemākā robeža / Laagste temperatuurlimiet / Nedre temperaturgrænse / Dolna granica temperature / Limite mínimo de temperatura / Limită minimă de temperatură / Нижний предел температуры / Spodná hranica teploty / Donja granica temperature / Nedre temperaturgräns / Sicaklık alt sınırı / Мінімальна температура / 温度下限
CONTROL	Control / Контроль / Kontrola / Kontrol / Kontrolle / Μάρτυρας / Kontroll / Contrôle / Controllo / Бақылау / 컨트롤 / Kontrolé / Kontrole / Controle / Controllo / Контроль / kontroll / Контроль / 对照
CONTROL+	Positive control / Положителен контрол / Pozitivní kontrola / Positiv kontrol / Positive Kontrolle / Θετικός μάρτυρας / Control positivo / Positiivne kontroll / Contrôle positif / Pozitivna kontrola / Pozitiv kontroll / Controllo positivo / Оң бақылау / 양성 컨트롤 / Teigiama kontrolė / Pozitivá kontrola / Positieve controle / Kontrola dodatnia / Controllo positivo / Control pozitiv / Положительный контроль / Pozitif kontrol / Позитивний контроль / 阳性对照试剂
CONTROL-	Negative control / Отрицателен контрол / Negativní kontrola / Negativ kontrol / Negative Kontrolle / Αρνητικός μάρτυρας / Control negativo / Negativne kontroll / Contrôle négatif / Negativna kontrola / Negativ kontroll / Controllo negativo / Негативтік бақылау / 음성 컨트롤 / Neigiama kontrolė / Negativá kontrola / Negatieve controle / Kontrola ujemna / Controllo negativo / Control negativ / Отрицательный контроль / Negatif kontrol / Негативний контроль / 阴性对照试剂
STERILE EO	Method of sterilization: ethylene oxide / Метод на стерилизация: этиленов оксид / Způsob sterilizace: etylenoxid / Steriliseringsmetode: ethylenoxid / Sterilisationsmethode: Ethylenoxid / Μέθοδος αποστείρωσης: αιθυλενοξείδιο / Método de esterilización: óxido de etileno / Steriliseerimismeetod: etüleenoksiid / Méthode de stérilisation: oxyde d'éthylène / Metoda sterilizacije: etilen oksid / Sterilizálás módszere: etilén-oxid / Metodo di sterilizzazione: ossido di etilene / Стерилизация әдісі – этилен тотығы / 소독 방법: 에틸렌옥사이드 / Sterilizavimo būdas: etileno oksidas / Sterilizēšanas metode: etilēnoksīds / Gesteriliseerd met behulp van ethylenoxide / Steriliseringsmetode: etylenoksid / Metoda sterylizacji: tlenek etylu / Método de esterilização: óxido de etileno / Metodă de sterilizare: oxid de etilenă / Метод стерилизации: этиленоксид / Metóda sterilizácie: etylénoxid / Metoda sterilizacije: etilen oksid / Steriliseringsmetod: etenoxid / Sterilizasyon yöntemi: etilen oksit / Метод стерилизації: этиленоксидом / 灭菌方法: 环氧乙烷
STERILE R	Method of sterilization: irradiation / Метод на стерилизация: ирадиация / Způsob sterilizace: záření / Steriliseringsmetode: bestråling / Sterilisationsmethode: Bestrahlung / Μέθοδος αποστείρωσης: ακτινοβολία / Método de esterilización: irradiación / Steriliseerimismeetod: kiirgus / Méthode de stérilisation: irradiation / Metoda sterilizacije: zračenje / Sterilizálás módszere: besugárzás / Metodo di sterilizzazione: irradiazione / Стерилизация әдісі – сәуле түсіру / 소독 방법: 방사 / Sterilizavimo būdas: radiacija / Sterilizēšanas metode: apstarošana / Gesteriliseerd met behulp van bestraling / Steriliseringsmetode: bestråling / Metoda sterylizacji: napromienianie / Método de esterilização: irradiação / Metodă de sterilizare: iradiere / Метод стерилизации: облучение / Metóda sterilizácie: ožiarenie / Metoda sterilizacije: ozračevanje / Steriliseringsmetod: strålning / Sterilizasyon yöntemi: ırradyasyon / Метод стерилизації: опроміненням / 灭菌方法: 辐射
	Biological Risks / Биологични рискове / Biologická rizika / Biologisk fare / Biogefährdung / Βιολογικοί κίνδυνοι / Riesgos biológicos / Bioloogilised riskid / Risques biologiques / Biološki rizik / Biológiallag veszélyes / Rischio biologico / Биологический тәуекелдер / 생물학적 위험 / Biologinis pavojus / Biologiskie riski / Biologisch risico / Biologisk risiko / Zagrożenia biologiczne / Perigo biológico / Riscuri biologice / Биологическая опасность / Biologické riziko / Biološki rizici / Biologisk risk / Biyolojik Riskler / Біологічна небезпека / 生物学风险
	Caution, consult accompanying documents / Внимание, направте справка в придружаващите документи / Pozor! Pristudujte si příloženou dokumentaci! / Forsigtig, se ledsagende dokumenter / Achtung, Begleitdokumente beachten / Προσοχή, συµβουλευτείτε τα συνοδευτικά έγγραφα / Precaución, consultar la documentación adjunta / Ettevattust! Lugeka kaasnevat dokumentatsiooni / Attention, consulter les documents joints / Urozorenje, koristi prateću dokumentaciju / Figyelem! Olvassa el a mellékelt tájékoztatót / Attenzione: consultare la documentazione allegata / Абайлаңыз, тиісті құжаттармен танысыңыз / 주의, 동봉된 설명서 참조 / Dmesio, žiurkíte pridedamus dokumentus / Piesardzība, skatīt pavaddokumentus / Voorzichtig, raadpleeg bijgevoegde documenten / Forsiktig, se vedlagt dokumentasjon / Niezły zapoznać się z dołączonymi dokumentami / Cuidado, consulte a documentação fornecida / Atenție, consultați documentele însoțitoare / Внимание: см. прилагаемую документацию / Výstraha, pozri sprievodné dokumenty / Pažnja! Pogledajte priložena dokumenta / Obs! Se medföljande dokumentation / Dikkat, birlikte verilen belgelere başvurun / Увага: див. супутню документацию / 小心, 请参阅附带文档
	Upper limit of temperature / 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 рұқсат етілген жоғарғы шегі / 상한 온도 / Aukščiausia laikymo temperatūra / Augšējā temperatūras robeža / Hoogste temperatuurlimiet / Øvre temperaturgrænse / Górna granica temperature / Limite máximo de temperatura / Limită maximă de temperatură / Верхний предел температуры / Horná hranica teploty / Gornja granica temperature / Øvre temperaturgräns / Sicaklık üst sınırı / Максимальна температура / 温度上限
	Keep dry / Пазете сухо / Skladujte v suchém prostředí / Orbevares tørt / Trocklagern / Φυλάξτε το στεγνό / Mantener seco / Hoida kuivas / Conserver au sec / Držati na suhom / Száraz helyen tartandó / Tenere all'asciutto / Құрғақ күйінде ұста / 건조 상태 유지 / Laikykite sausai / 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 suvom 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 colheita / Ora colectării / Время сбора / Doba odboru / Vreme prikupljanja / Uppsamlingsstid / Toplama zamanı / Час забору / 采集时间
	Peel / Обенете / Otevíte zde / Åbn / Abziehen / Αποκολλήστε / Desprender / Koorida / Décoller / Otvoriti skini / Húzza le / Staccare / Ўстиғи қабатын алып таста / 벗기기 / Pięścić / Aitmiēt / Schillen / Trek av / Oderwać / Destacar / Se dezlipiște / Отклеить / Odtrhnite / Oljuštiti / Dra isår / Ayırma / Відклепти / 撕下
	Perforation / Перфорация / Perforace / Perforering / Διάρθρωση / Perforación / Perforatsioon / Perforacija / Perforálás / Perforazione / Tecik tetsy / 찢히선 / Perforacija / Perforância / Perforatie / Perforacja / Perforação / Perforare / Перфорация / Perforácia / Perforasyon / Перфорація / 穿孔
	Do not use if package damaged / Не используйте, ако опаковката е повредена / Nepoužívejte, je-li obal poškozený / Má ikke anvendes hvis emballagen er beskadiget / Inhal beschädigter Packungnicht verwenden / Μη χρησιμοποιείτε εάν η συσκευασία έχει υποστεί ζημιά. / 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 buzulan bolca, pайдalanба / 패키지가 손상된 경우 사용 금지 / Jei pakuotė pažeista, nenaudoti / Nelietot, ja iepakojums bojāts / Niet gebruiken indien de verpakking beschadigd is / Má 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 / Nepoužívejte, ak je obal poškodený / Ne koristite ako je pakovanje oštećeno / Använd ej om förpackningen är skadad / Ambalaj hasar görmüşse kullanmayın / Не використовувати за пошкодженої упаковки / 如果包装破损, 请勿使用
	Keep away from heat / Пазете от топлина / Nevystavujte přilísnému teplu / Má 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 / Salpyn жерде сақта / 열을 피해야 함 / Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių / Sargāt no karstuma / Beschermen tegen warmte / Má 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 дпї тепла / 请远离热源
	Cut / Срежете / Odstřihněte / Klip / Schneiden / Κόψτε / Cortar / Lõigata / Découper / Reži / Vágja ki / Tagliare / Kecişiz / 잘라내기 / Kirpti / Nogriezť / Knippen / Kutt / Odciać / Cortar / Decupați / Отрезать / Odstrhnite / Iseći / Klipp / Kesme / Позрізати / 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 colheita / Data colectării / Время 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/检测
	Keep away from light / Пазете от светлина / Nevystavujte světlu / Má ikke udsættes for lys / Vor Licht schützen / Κρατήστε το μακριά από το φως / Mantener alejado de fuentes de calor / Hoida eemal valgusest / Conserven à l'abri de la lumière / Držati dalje od svetla / Fény nem érheti / Tenere al riparo dalla luce / Salpyn жерде сақта / 빛을 피해야 함 / Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių / Sargāt no gaismas / Niet blootstellen aan zonlicht / Má ikke utsettes for lys / Przechowywać z dala od źródeł ciepła / Manter ao abrigo da luz / Feriti de lumină / Хранить в темноте / Uchovávejte mimo dosahu svetla / Držite dalje od svetlosti / Får ej utsättas för värme / Isidan uzak tutun / Берегти від світла / 请远离光线
	Hydrogen gas generated / Образован е водород газ / Možnost úniku plyného vodíku / Frembringer hydrogengas / Wasserstoffgas erzeugt / Δημιουργία αερίου υδρογόνου / Producción de gas de hidrógeno / Vesinikgaasi tekkitud / Produit de l'hydrogène gazeux / Sadržaj hydrogen vodik / Hidrogeén gázt fejeeszt / Produzione di gas idrogeno / Газтөктес сутегі пайда болды / 수소 가스 생성됨 / Išskiria vandenilio dujas / Rodas idėnradis / 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 / Pasientens ID-nummer / Numer ID pacienta / Número da ID do doente / Număr ID pacient / Идентификационный номер пациента / Identifikačné číslo pacienta / ID broj pacijenta / Patientnummer / Hasta kimlik numarası / Идентификатор пациента / 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, käsitsege ettevaatlikult. / Fragile. Manipuler avec précaution. / Lomljivo, 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. / Ømtålig, håndter forsigtig. / Krucha zawartość, przenosić ostrożnie. / Frágil, Manuseie com Cuidado. / Fragil, manipulați cu atenție. / Хрупкое! Обращаться с осторожностью. / Krehké, vyžaduje sa opatrná manipulácia. / Lomljivo - rukujte pažljivo. / Bräckligt. Hantera försiktigt. / Kolay Kırılır, Dikkatli Taşıyın. / Тендітна, звертатися з обережністю / 易碎，小心轻放

 bd.com/e-labeling



Техническо обслужване и поддръжка: Свържете се с местния представител на BD или отидете на 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.