

Xpert® C. difficile BT

REF GXCDIFFBT-CE-10

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

Cepheid®, логотип Cepheid, GeneXpert® и Xpert® являются товарными знаками компании Cepheid.
Windows® является товарным знаком Microsoft Corporation.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩИМ ВКЛАДЫШЕМ-ИНСТРУКЦИЕЙ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

Авторское право принадлежит компании Cepheid, 2020 г. Все права защищены.



Cepheid
Röntgenvägen 5
SE-171 54
Solna
Sweden (Швеция)

Xpert® C. difficile BT

Медицинское изделие для диагностики *in vitro*

1 Фирменное название

Xpert® C. difficile BT

2 Общепринятое название

Набор реактивов для определения токсин-продуцирующих штаммов *Clostridium difficile* (Клостридий) Xpert® C. difficile BT

3 Назначение

Тест Xpert C. difficile BT, выполняемый на приборных системах Cepheid GeneXpert® представляет собой качественный диагностический тест *in vitro* для быстрого определения *C. difficile tcdB* (ген токсина В), *cdt* (ген бинарного токсина), а также делеции нуклеотида в положении 117 в гене *tcdC* в образцах бесформенного стула (жидкого или мягкого), взятых у пациентов, предположительно зараженных инфекцией *Clostridium difficile* (CDI). Тест Xpert C. difficile BT предназначен для использования в качестве вспомогательного средства в диагностике CDI и определении штаммов, потенциально связанных с более тяжелым заболеванием. Для определения *tcdB*, *cdt*, а также делеции 117 в гене *tcdC*, связанной со штаммом риботипа 027, в данном тесте применяется автоматизированная полимеразно-цепная реакция (ПЦР) в режиме реального времени. Бинарный токсин образуется ограниченным количеством штаммов *C. difficile*, включая штамм 027. Бинарный токсин вместе с геном токсина *tcdB* часто является индикатором более тяжелого заболевания или рецидива заболевания. Изоляты *C. difficile*, отрицательные по *tcdB*, но содержащие только гены бинарного токсина, могут обуславливать возникновение симптомов, сходных с токсигенными штаммами *C. difficile*, но клиническая значимость таких штаммов в настоящее время не установлена. Сопутствующая культура необходима только в случае, если требуется дальнейшее типирование или восстановление организма.

4 Краткие сведения и разъяснения

C. difficile – это Грам-положительная спорообразующая анаэробная бактерия, которая впервые была ассоциирована с заболеванием в 1978 г.¹

Инфекции *Clostridium-difficile* (CDI) варьируются от диареи до тяжелого угрожающего жизни псевдомембранного колита. ²Зрелая бактериальная флора у здорового взрослого человека обычно является резистивной к колонизации *C. difficile*. ³Однако в случае изменений в нормальной флоре толстой кишки резистивность к колонизации другими видами бактерий, таких как *C. difficile*, теряется. Наиболее распространенным фактором риска является воздействие антибиотиков. ⁴Основным вирулентным фактором *C. difficile* является цитотоксин В. ⁵Гены, кодирующие токсин А (*tcdA*) и токсин В (*tcdB*) принадлежат к патогенному локусу (PaLoc). ⁶⁻⁷Большинство патогенных штаммов являются токсин А-положительными, токсин В-положительными (А+В+) штаммами, хотя в качестве патогенных также признаны токсин А-отрицательные, токсин В-положительные (А-В+) варианты изолятов. ⁸Некоторые штаммы *C. difficile* также продуцируют актин-специфическую АДФ-рибозилтрансферазу, называемую CDT или бинарным токсином. Локус бинарного токсина содержит два гена (*cdtA* и *cdtB*) и расположен за пределами области PaLoc. ⁹⁻¹¹

Диагностика CDI обычно основывается либо на обнаружении токсина В непосредственно в стуле (тест нейтрализации цитотоксичности клеточной культуры [CCCN]), либо на культивировании организма с последующим определением выработки токсина В изолятом (токсигенная культура). Трудоемкий тест клеточной цитотоксичности и выращивание токсигенной культуры в настоящее время все еще считаются «золотым стандартом» вследствие высокой специфичности.^{12,13} Для обнаружения токсина А и В были разработаны несколько быстрых энзимных иммунотестов. Однако эти тесты имеют пониженную чувствительность и специфичность по сравнению с тестом клеточной цитотоксичности (CCCN). Для обнаружения генов, ассоциированных с токсином А и/или токсином В, были разработаны методы ПЦР, отличающиеся высокой чувствительностью и специфичностью по сравнению с выращиванием токсигенной культуры.¹⁴

В дополнение к токсинам А и В в недавно опубликованных литературных источниках предполагается наличие связи между производством бинарного токсина и степенью тяжести заболевания, а также его исходом. Bauer et al.¹⁵ продемонстрировали наличие генов бинарного токсина в токсигенных изолятах в 23% случаев CDI в Европе. Бинарный токсин, продуцируемый генами *cdt*, часто может быть обнаружен в штаммах *C. difficile*, что связано с повышенной степенью тяжести CDI. Бинарный токсин принадлежит к семейству АДФ-рибозилирующих токсинов и состоит из генов *cdtA*, ферментативной АДФ-рибозилтрансферазы, модифицирующей актин, а также из генов *cdtB*, которая связывается с клетками-хозяевами и транслоцирует продукт *cdtA* в цитозоль. Многочисленные клинические исследования указывают на связь между наличием генов бинарных токсинов в *C. difficile* и повышенной 30-дневной смертностью от CDI независимо от ПЦР-риботипа. Имеются также литературные данные, свидетельствующие о том, что пациенты с тяжелой степенью CDI, фульминантным колитом и/или рецидивирующей CDI чаще инфицированы риботипами *C. difficile*, несущими гены продукции бинарных токсинов (*cdtA/cdtB*), чем пациенты без этих осложнений.^{16,17}

Подмножество бинарных изолятов имеет мутации в гене отрицательного регулятора токсина (*tcdC*), то есть делецию в нуклеотиде 117 (*tcdCΔ117*), что соответствует штаммам риботипа 027. Инфекция, обусловленная штаммами 027/NAP1/BI, может быть связана с более высоким уровнем смертности и заболеваемости, включая госпитализацию в отделение интенсивной терапии (ОИТ) и длительное пребывание в ней. Многофакторный анализ указывает на значительную связь между степенью тяжести заболевания и наличием риботипов, несущих ген бинарного токсина с или без делеции нуклеотида 117. В последние несколько лет отмечены вспышки CDI, вызванные «гипервирулентными» и фторхинолон-резистивными штаммами, принадлежащими к ПЦР-риботипу 027 (которые также известны как группа гель-электрофореза в пульсирующем поле NAP1 и рестрикционный эндонуклеазный анализ типа BI.)^{8,18} Штаммы 027 характеризуются повышенной продукцией токсина, которая объясняется делециями в регуляторном гене *tcdC*, и могут продуцировать больше спор, что приводит к повышенной устойчивости в окружающей среде.^{19,20} Предположительно положительный по 027 результат теста может помочь в определении возможных источников вспышки 027.

В ходе дополнительных исследований сообщалось о случаях диареи у пациентов с подозрением на инфекцию *C. difficile*, обусловленную токсинотипом XI/ПЦР-риботипом 033 или 033-подобными штаммами, положительными на бинарный токсин, но отрицательными на токсины А и В.^{21,22} Клиническая значимость бинарных токсин-положительных и токсин-В-отрицательных штаммов до конца не изучена.

5 Принципы проведения процедуры

В приборных системах GeneXpert объединены и автоматически выполняются такие процессы как подготовка образцов, экстракция, амплификация нуклеиновых кислот и обнаружение целевой последовательности в простых и сложных образцах с использованием тестов ПЦР в режиме реального времени. Системы состоят из прибора, компьютера и предустановленного программного обеспечения для проведения тестов собранных клинических образцов и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи GeneXpert, которые содержат реактивы для ПЦР, и в которых выполняются процессы выделения ДНК, амплификации и обнаружения ампликонов. Поскольку картриджи представляют собой замкнутые системы, вероятность перекрестной контаминации между образцами сводится к минимуму. Полное описание системы представлено в соответствующем руководстве оператора системы *GeneXpert Dx* и/или в *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*.

Набор теста Xpert C. difficile BT содержит реактивы для определения токсин-продуцирующих штаммов *C. difficile*, а также контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC). SPC служит для надлежащего контроля обработки целевых бактерий и отслеживания присутствия ингибиторов в реакции ПЦР. Контроль проверки зондов (Probe Check Control, PCC) предназначен для проверки правильности регидратации реактивов, наполнения пробирки для проведения ПЦР в картридже, проверки целостности зондов и стабильности красителей. Праймеры и зонды в тесте Xpert C. difficile BT определяют последовательности в генах токсина В (*tcdB*), бинарного токсина (*cdt*) и $\Delta 117$ в *tcdC*.

6 Реактивы и оборудование

6.1 Предоставляемые материалы



Набор теста Xpert C. difficile BT содержит реактивы в количестве, достаточном для обработки 10 анализируемых образцов или образцов контроля качества.

В набор входят следующие компоненты:

Картриджи теста Xpert C. difficile BT со встроенными реакционными пробирками

- Гранулы 1, 2 и 3 (лиофилизированные)
- Реактив 1
- Реактив 2 (натрия гидроксид)

10

1 каждого типа на картридж
3,0 мл в каждом картридже
3,0 мл в каждом картридже



Мешки с реактивом Xpert C. difficile BT

10

- Реактив для образцов (гуанидина тиоцианат)

10 x 2,0 мл на пакет

Компакт-диск

1 на каждый набор

- Файлы с описанием теста (ADF)
- Инструкция по импорту файла ADF в программное обеспечение
- Инструкция по применению (вкладыш-инструкция)

Примечание

Паспорта безопасности вещества (SDS) можно найти по адресам www.cephheid.com или www.cephheidinternational.com, на вкладке ПОДДЕРЖКА (SUPPORT).

Примечание Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма бычьей крови животных, выращенных в Соединенных Штатах Америки. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время производства не происходило смешивания сырья с другими материалами животного происхождения.

6.2 Хранение и обращение



- Храните набор Xpert C. *difficile* BT при 2–28 °C.
- Не используйте реактив для образцов или картриджи с истекшим сроком годности.
- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение теста.
- Не используйте помутневший или изменивший свой цвет реактив для образцов.
- Не используйте протекающие картриджи.

6.3 Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Система GeneXpert Dx или GeneXpert Infinity (каталожный номер зависит от конфигурации): прибор GeneXpert, компьютер с фирменным программным обеспечением GeneXpert версии 4.3 или выше, ручной сканер штрих-кодов и руководство оператора.
- Принтер: если требуется принтер, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid, чтобы заказать приобретение рекомендуемого принтера.
- Вихревая мешалка
- Одноразовые стерильные пипетки для переноса жидкостей
- Сухой зонд-тампон для переноса образцов, устройство для сбора образцов Cepheid (каталожный номер Cepheid: 900- 0370), одноразовый зонд-тампон Cepheid (каталожный номер Cepheid: SDPS- 120) или двойной зонд-тампон Sorap и системы для переноса (139C LQ STUART).

7 Предупреждения и меры предосторожности



- При работе со всеми биологическими образцами, в том числе с использованными картриджами и реактивами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются агентством «Центры по контролю и профилактике заболеваний США» (U.S. Centers for Disease Control and Prevention) и Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute).^{23,24}
- Следуйте принятым в учреждении правилам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.
- Пользуйтесь чистым лабораторным халатом и перчатками. Меняйте перчатки, приступая к работе с последующим образцом.
- Не заменяйте реактивы теста Xpert C. *difficile* BT другими реактивами.
- Крышку картриджа из набора Xpert C. *difficile* BT можно открывать только для внесения образца и реактивов, а также для отбора образца при проведении повторного теста.
- Не используйте картридж, если он упал после извлечения из упаковки.
- Не встряхивайте картридж. Встряхивание или падение картриджа после вскрытия его крышки может привести к получению недействительных результатов.
- Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- Не размещайте этикетку с идентификатором образца на крышке картриджа или на этикетке со штрих-кодом картриджа.



- Каждый одноразовый картридж Xpert C. *difficile* BT применяется для обработки одного теста. Не используйте повторно уже применявшиеся картриджи.
- Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, требующими соблюдения стандартных мер предосторожности. Для правильной утилизации использованных картриджей и неиспользованных реактивов следуйте принятым в вашем учреждении правилам защиты окружающей среды. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых национальных или региональных процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе правила не дают ясных указаний по правильной утилизации, биологические образцы и использованные картриджи следует утилизировать с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их утилизации.
- В случае контаминации рабочей зоны или оборудования образцами или контролями тщательно протрите зону контаминации хлорсодержащим хозяйственным отбеливателем, разбавленным в соотношении 1:10, а затем повторно протрите рабочую зону 70% этанолом. Прежде чем продолжать, протрите рабочие поверхности и дайте им высохнуть.

8 Опасные химические факторы ^{25,26}



Сигнальное слово: Предостережение

- **Символ опасности СГС ООН:**
 - Опасно при проглатывании.
 - Вызывает раздражение кожи.
 - Вызывает серьезное раздражение глаз.
- **Меры предосторожности СГС ООН:**
 - **Профилактика**
 - После использования тщательно вымыть руки.
 - Не принимать пищу, не пить и не курить в процессе использования этого продукта.
 - Избегать попадания в окружающую среду.
 - Надевать защитные перчатки/защитную одежду/средства защиты глаз/лица.
 - **Реагирование**
 - ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: промыть большим количеством воды с мылом.
 - Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед повторным использованием.
 - Требуется особый порядок оказания первой помощи. См. дополнительную информацию.
 - При раздражении кожи: обратиться к врачу.
 - ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если они надеты, и если это легко сделать Продолжить промывание.
 - Если раздражение глаз не проходит: обратиться к врачу.
 - ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: при плохом самочувствии немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу.
 - Прополоскать рот.
 - **Хранение/удаление в отходы**
 - Удаление в отходы содержимого и/или тары должно осуществляться в соответствии с местными, региональными, государственными и/или международными нормами.

9 Сбор и транспортировка образцов

1. Соберите бесформенный стул в стерильный контейнер. Следуйте правилам вашего учреждения по сбору образцов для тестирования на *C. difficile*.
2. Промаркируйте идентификатором пациента и передайте его в лабораторию для тестирования.
3. Храните образцы при 2–8 °C. Образец, хранящийся при температуре 2–8 °C, остается стабильным в течение 5 суток. В качестве альтернативы образец можно держать при комнатной температуре (20–30 °C) до 24 часов.



10 Процедура

10.1 Подготовка картриджа

Важно Тест следует начать не позднее чем через 30 минут после введения образца в картридж.

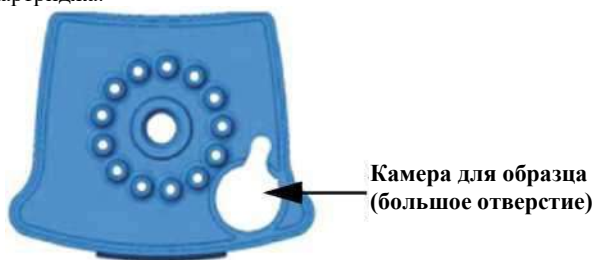
Порядок внесения образца в картридж (Xpert C. difficile BT):

1. Извлеките картридж и реактив для образцов из упаковки.
2. На короткое время погрузите зонд-тампон в бесформенный стул. Зонд-тампон не требуется смачивать полностью.
3. Вставьте зонд-тампон в пробирку, содержащую реактив для образцов.

Примечание Для минимизации риска контаминации используйте стерильную марлю.

4. Удерживая зонд-тампон за стержень возле ободка пробирки, приподнимите зонд-тампон на несколько миллиметров от дна пробирки и придавите стержень к краю пробирки, чтобы отломать его. Убедитесь, чтобы зонд-тампон был достаточно коротким, чтобы можно было плотно закрыть пробирку.
5. Закройте крышку и перемешайте содержимое на вихревой мешалке в течение 10 секунд на высокой скорости.

6. Откройте крышку картриджа. Пользуясь чистой пипеткой, перенесите все содержимое реактива для образцов в камеру для образца картриджа Xpert C. *difficile* BT. См. рисунок 1.
7. Закройте крышку картриджа.

Рисунок 1. Картридж Xpert C. *difficile* BT (вид сверху)

10.2 Запуск теста

Важно Перед запуском теста проследите за тем, чтобы в программное обеспечение был импортирован файл с описанием теста Xpert C. *difficile* BT. Важно! В данном разделе перечислены базовые этапы выполнения теста. Подробные инструкции приведены в руководстве оператора инструментальной системы GeneXpert Dx или GeneXpert Infinity.

Примечание Выполняемые операции могут отличаться от перечисленных ниже, если системный администратор внес изменения в первоначальную последовательность операций системы.

1. Включите приборную систему GeneXpert:
 - При использовании прибора GeneXpert Dx вначале следует включить сам прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически, или же может потребоваться двойной щелчок по ярлыку программного обеспечения GeneXpert Dx на рабочем столе Windows®.
 - или
 - При использовании прибора GeneXpert Infinity следует включить прибор. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически либо после двойного щелчка по ярлыку программного обеспечения Xpertise на рабочем столе Windows®.
2. Войдите в программное обеспечение приборной системы GeneXpert, используя свое имя пользователя и пароль.
3. В окне системы GeneXpert щелкните «Создать тест» (Create Test) (для GeneXpert Dx) или «Заказы» (Orders), а затем «Заказать тест» (Order Test) (для Infinity). Откроется окно «Создать тест» (Create Test).
4. Отсканируйте «Идентификатор пациента» (Patient ID) (не обязательно). Если вводится «Идентификатор пациента» (Patient ID), убедитесь, чтобы он был введен корректно. «Идентификатор пациента» (Patient ID) связывается с результатом теста и указывается в окне «Просмотреть результаты» (View Results).
5. Отсканируйте или введите вручную «Идентификатор образца» (Sample ID). Если вводится «Идентификатор образца» (Sample ID), убедитесь, чтобы он был введен корректно. «Идентификатор образца» (Sample ID) связывается с результатами теста и указывается в окне «Просмотреть результаты» (View Results).
6. Отсканируйте штрих-код на картридже теста Xpert C. *difficile* BT. На основе информации, считанной со штрих-кода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «Выбрать тест» (Select Assay), «Идентификатор партии реактива» (Reagent Lot ID), «С/Н картриджа» (Cartridge SN) и «Срок годности» (Expiration Date).

Примечание Если штрих-код картриджа Xpert C. *difficile* BT не сканируется, повторите тест с новым картриджем, следуя процедуре, описанной в разделе 15 «Процедура повторного теста».

7. Щелкните «Начать тест» (Start Test) (для GeneXpert Dx) или «Отправить» (Submit) (для Infinity). В открывшемся на экране диалоговом окне введите пароль.
8. При использовании системы GeneXpert Infinity поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, будет выполнен тест, а использованный картридж будет удален в контейнер для отходов.

или

Для прибора GeneXpert Dx:

- A. Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
- B. Закройте дверцу. После этого начинается тест, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении теста индикаторная лампа выключается.
- C. Перед открытием модуля и извлечением картриджа дождитесь разблокирования системой замка дверцы.
- D. Использованные картриджи следует удалять в подходящие контейнеры для сбора отходов образцов согласно стандартным правилам, принятым в вашем учреждении.

11 Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечисляются основные действия по просмотру и печати результатов. Более подробные инструкции по просмотру и печати результатов представлены в руководстве оператора системы *GeneXpert Dx* или руководстве оператора системы *GeneXpert Infinity*.

1. Для просмотра результатов щелкните по значку «Просмотреть результаты» (View Results).
2. По завершении теста выберите кнопку «Отчет» (Report) в окне «Просмотреть результаты» (View Results) для просмотра отчета и/или получения отчета в формате PDF.

12 Контроль качества

КОНТРОЛЬ В каждом тесте используется контроль обработки образца (SPC) и проверка зондов (PCC).

- **Контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC)** – обеспечивает правильную обработку образца. SPC содержит споры *Bacillus globigii* в форме сухой лепешки из спор; они имеются в каждом картридже для подтверждения правильности обработки бактерий в образце. SPC позволяет подтвердить выполнение лизиса бактерий и спор *C. difficile*, если эти микроорганизмы присутствуют в образце, и подтвердить правильность обработки образца. Также данный контроль обнаруживает связанное с образцом ингибирование ПЦР-теста в режиме реального времени, обеспечивает пригодность условий ПЦР-реакции (температура и время) для реакции амплификации и функциональные характеристики реактивов для ПЦР. Результат для контроля SPC должен быть положительным при отрицательном результате теста образца и может быть как положительным, так и отрицательным при положительном результате теста образца. Контроль SPC считается пройденным, если его результат соответствует прошедшим валидацию критериям приемлемости.
- **Контроль проверки зондов (Probe Check Control, PCC)** – перед запуском реакции ПЦР система *GeneXpert* измеряет флуоресцентный сигнал от зондов для отслеживания регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Проверка зондов считается пройденной, если ее результат соответствует установленным критериям приемлемости.

13 Интерпретация результатов

Результаты интерпретируются приборной системой *GeneXpert* на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета; они отображаются в окне «Просмотреть результаты» (View Results). Возможные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты и интерпретация тестов Xpert *C. difficile* BT

Результат	Интерпретация
Токсигенный <i>C. diff</i> ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ, бинарный токсин ОТР., 027 ОТР. (Toxigenic <i>C. diff</i> POS, Binary Toxin NEG, 027 NEG) См. рисунок 2.	Обнаружены целевые последовательности ДНК токсин-продуцирующих <i>C. difficile</i> . • Токсин-продуцирующие <i>C. difficile</i> – для целевых токсин-продуцирующих <i>C. difficile</i> (ген токсина В) показатель Ct находится в пределах допустимого диапазона, и конечная точка находится выше заданного минимального значения • Бинарный токсин и делеция nt 117 <i>tcdC</i> не обнаружены. • SPC – Н/П (неприменимо); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей <i>C. difficile</i> может конкурировать с этим контролем • Проверка зондов – ПРОЙДЕНА (Probe Check — PASS); все проверки зондов пройдены успешно.
Токсигенный <i>C. diff</i> ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ, бинарный токсин ПОЛ., 027 ОТР. (Toxigenic <i>C. diff</i> POS, Binary Toxin POS, 027 NEG) См. рисунок 3.	Обнаружены целевые последовательности ДНК токсин-продуцирующих <i>C. difficile</i> . • Для всех целевых токсин-продуцирующих <i>C. difficile</i> (плюс бинарный ген токсина) показатель Ct находится в пределах допустимого диапазона, и конечная точка находится выше заданного минимального значения; делеция nt 117 <i>tcdC</i> не обнаружена. • SPC – Н/П (неприменимо) (SPC — NA (not applicable)); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей <i>C. difficile</i> может конкурировать с этим контролем. • Проверка зондов – ПРОЙДЕНА (Probe Check — PASS); все проверки зондов пройдены успешно.
Токсигенный <i>C. diff</i> ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ, бинарный токсин ПОЛ., 027 ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО ПОЛ. (Toxigenic <i>C. diff</i> POS, Binary Toxin POS, 027 PRESUMPTIVE POS) См. рисунок 4.	Обнаружены целевые последовательности ДНК токсин-продуцирующих <i>C. difficile</i> и предположительно 027. • Для всех целевых токсин-продуцирующих <i>C. difficile</i> , предположительно 027, (токсин В, бинарный токсин и делеция nt 117 <i>tcdC</i>) показатель Ct находится в пределах допустимого диапазона, и конечная точка находится выше заданного минимального значения. • SPC – Н/П (неприменимо) (SPC — NA (not applicable)); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей <i>C. difficile</i> может конкурировать с этим контролем. • Проверка зондов – ПРОЙДЕНА (Probe Check — PASS); все проверки зондов пройдены успешно.

Результат	Интерпретация
Токсигенный C. diff ОТР., бинарный токсин ПОЛ., 027 ОТР. (Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin POS, 027 NEG) См. рисунок 5.	Целевые последовательности ДНК <i>C. difficile</i> (токсин В) не обнаружены; однако обнаружена другая целевая ДНК (ген бинарного токсина), показатель Ct находится в пределах допустимого диапазона, и конечная точка находится выше заданного минимального значения. Необходимо определить клиническую значимость только бинарных токсин-положительных изолятов. <ul style="list-style-type: none"> • SPC – Н/П (неприменимо); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей <i>C. difficile</i> может конкурировать с этим контролем. • Проверка зондов – ПРОЙДЕНА (Probe Check — PASS); все проверки зондов пройдены успешно.
Токсигенный C. diff ОТР., бинарный токсин ОТР., 027 ОТР. (Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin NEG, 027 NEG) См. рисунок 6.	Целевые последовательности ДНК <i>C. difficile</i> (ген токсина В, ген бинарного токсина) не обнаружены <ul style="list-style-type: none"> • Последовательности ДНК токсин-продуцирующих <i>C. difficile</i> (ген токсина В и ген бинарного токсина) не обнаружены; другие целевые ДНК для токсигенных <i>C. difficile</i> (делеция nt 117 <i>tcdC</i>) не обнаружены. • SPC – ПРОЙДЕН (SPC — PASS); параметр Ct для SPC находится в допустимом диапазоне, и конечная точка находится выше заданного минимального значения. • Проверка зондов – ПРОЙДЕНА (Probe Check — PASS); все проверки зондов пройдены успешно.
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) См. рисунок 7.	Присутствие или отсутствие целевой ДНК <i>C. difficile</i> не может быть определено. Повторите тест согласно инструкциям, приведенным в разделе 15 «Процедура повторного теста». Результат SPC не соответствует критериям приемлемости, процесс обработки образца прошел ненадлежащим образом, или ПЦР была ингибирована. <ul style="list-style-type: none"> • НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) – невозможно установить наличие или отсутствие целевой ДНК <i>C. difficile</i>. • SPC – НЕ ПРОЙДЕН (SPC – FAIL); результат определения целевой последовательности SPC отрицательный, Ct SPC находится в недопустимом диапазоне, и конечная точка находится ниже заданного минимального значения. • Проверка зондов – ПРОЙДЕНА (Probe Check — PASS); все проверки зондов пройдены успешно.
ОШИБКА (ERROR)	Присутствие или отсутствие целевой ДНК <i>C. difficile</i> не может быть определено. Повторите тест согласно инструкциям, приведенным в разделе 15 «Процедура повторного теста». Проверка зондов не пройдена, вероятно, вследствие ненадлежащего заполнения реакционной пробирки, выявления проблемы нарушения целостности зондов или превышения пределов максимально допустимого давления. <ul style="list-style-type: none"> • Токсин В – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (Toxin B – NO RESULT) • Бинарный токсин – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (Binary Toxin – NO RESULT) • Делеция nt 117 <i>tcdC</i> – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (<i>tcdC</i> deletion at nt 117 — NO RESULT) • *SPC – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (SPC – NO RESULT) • Проверка зондов – НЕ ПРОЙДЕНА (Probe Check – FAIL)*; все или одна из проверок зондов не пройдены. *Если проверка зондов пройдена, ошибка вызвана сбоем компонента системы.
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	Присутствие или отсутствие целевой ДНК <i>C. difficile</i> не может быть определено. Повторите тест согласно инструкциям, приведенным в разделе 15 «Процедура повторного теста». Для предоставления результата собрано недостаточно данных (например, оператор прервал выполняющийся процесс теста). <ul style="list-style-type: none"> • Токсин В (<i>tcdB</i>) – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (Toxin B (<i>tcdB</i>) – NO RESULT) • Бинарный токсин (<i>cdt</i>) – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (Binary Toxin (<i>cdt</i>) – NO RESULT) • <i>tcdCA117</i> – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (<i>tcdCA117</i> – NO RESULT) • SPC – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (SPC – NO RESULT) • Контроль зондов – Н/П (Probe Check – NA) (неприменимо)

Примечание Снимки экрана, представленные в этом разделе (рисунок 2, рисунок 3, рисунок 4, рисунок 5, рисунок 6 и рисунок 7), получены с помощью прибора GeneXpert Dx, на котором установлено программное обеспечение GeneXpert Dx.

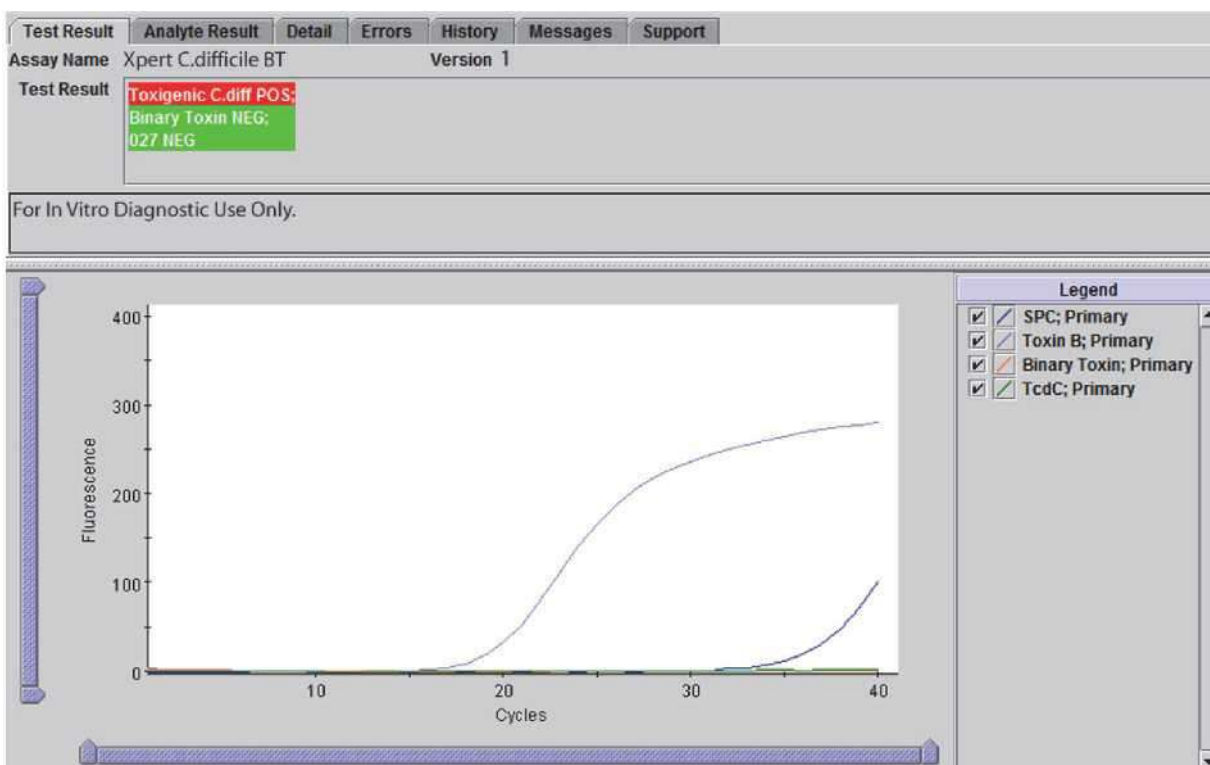


Рисунок 2. Пример положительного по токсигенному C. diff, отрицательного по бинарному токсину и отрицательного по 027 результатов

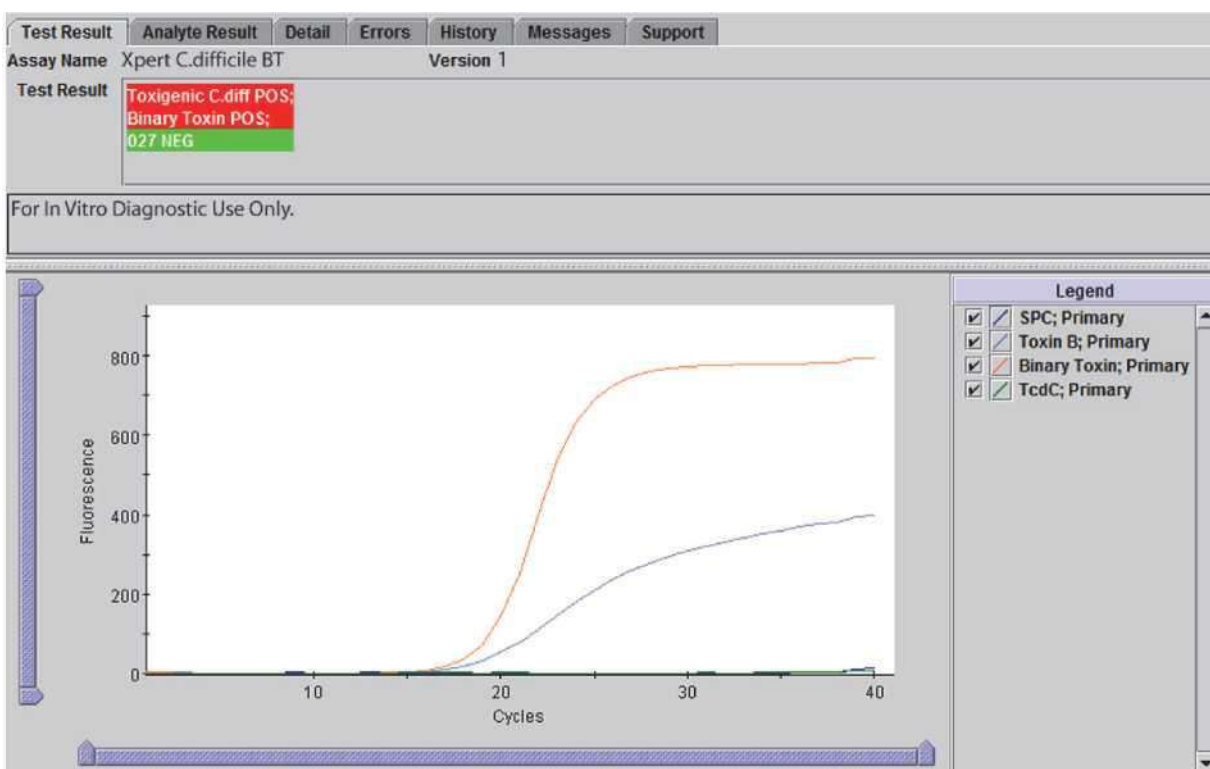


Рисунок 3. Пример положительного по токсигенному C. diff, положительного по бинарному токсину и отрицательного по 027 результатов

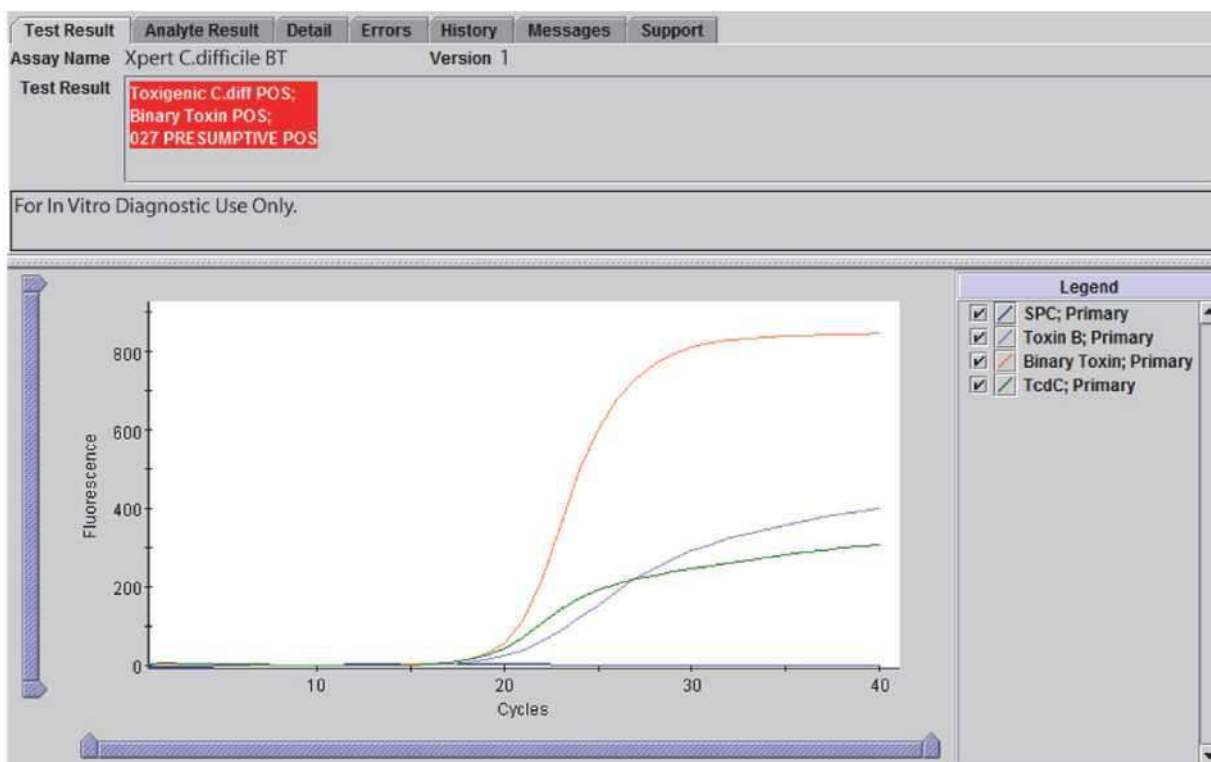


Рисунок 4. Пример положительного по токсигенному *C. diff*, положительного по бинарному токсину и предположительно положительного по 027 результатов

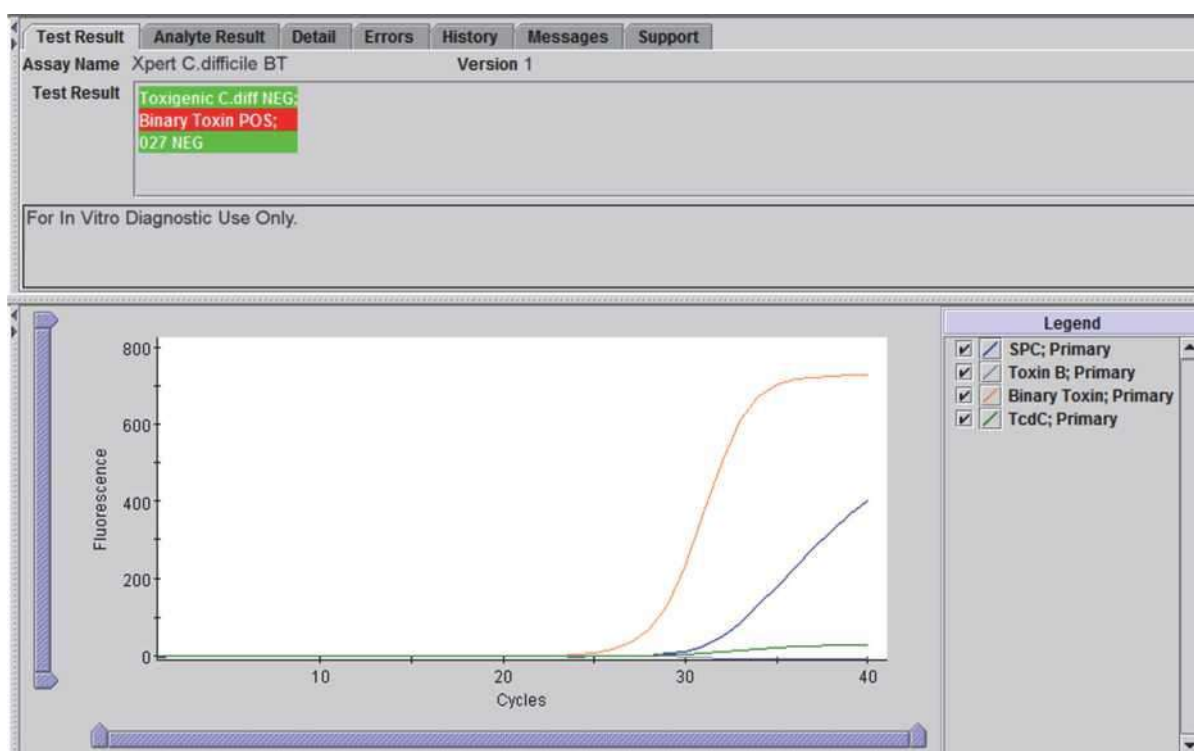


Рисунок 5. Пример отрицательного по токсигенному *C. diff*, положительного по бинарному токсину и отрицательного по 027 результатов

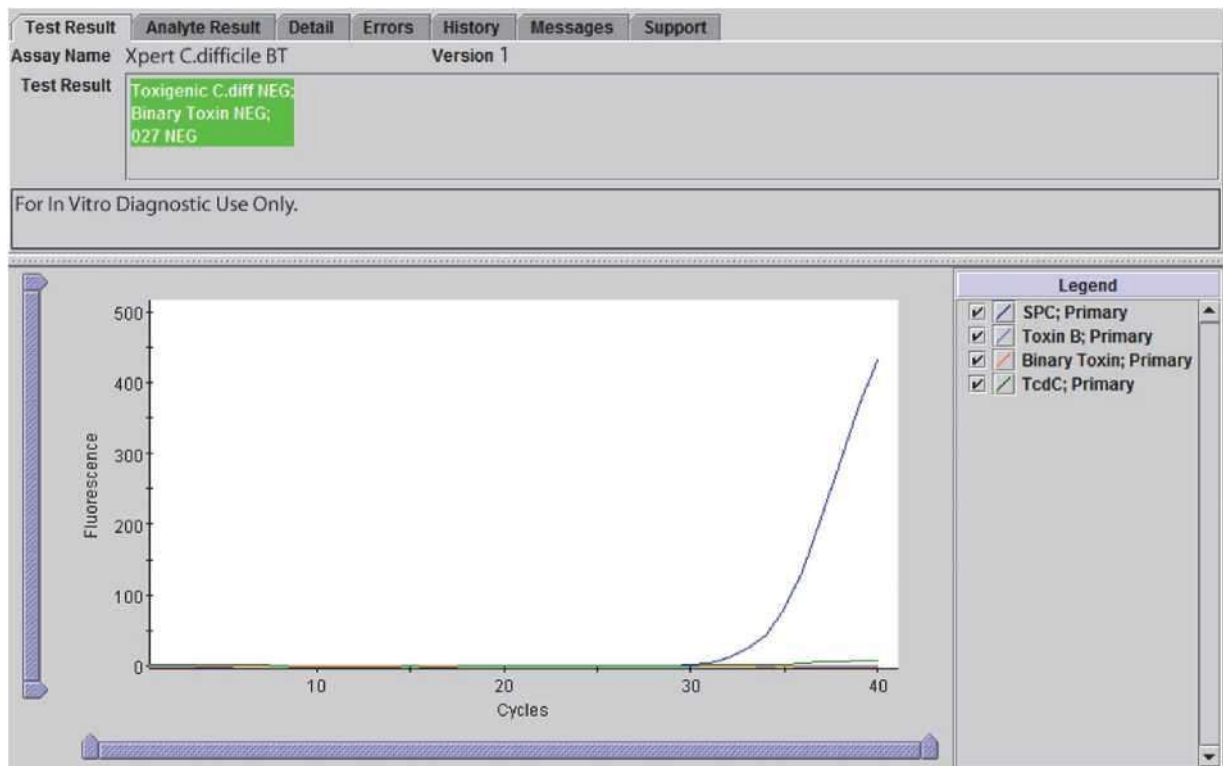


Рисунок 6. Пример отрицательного по токсигенному *C. diff*, отрицательного по бинарному токсину и отрицательного по 027 результатов

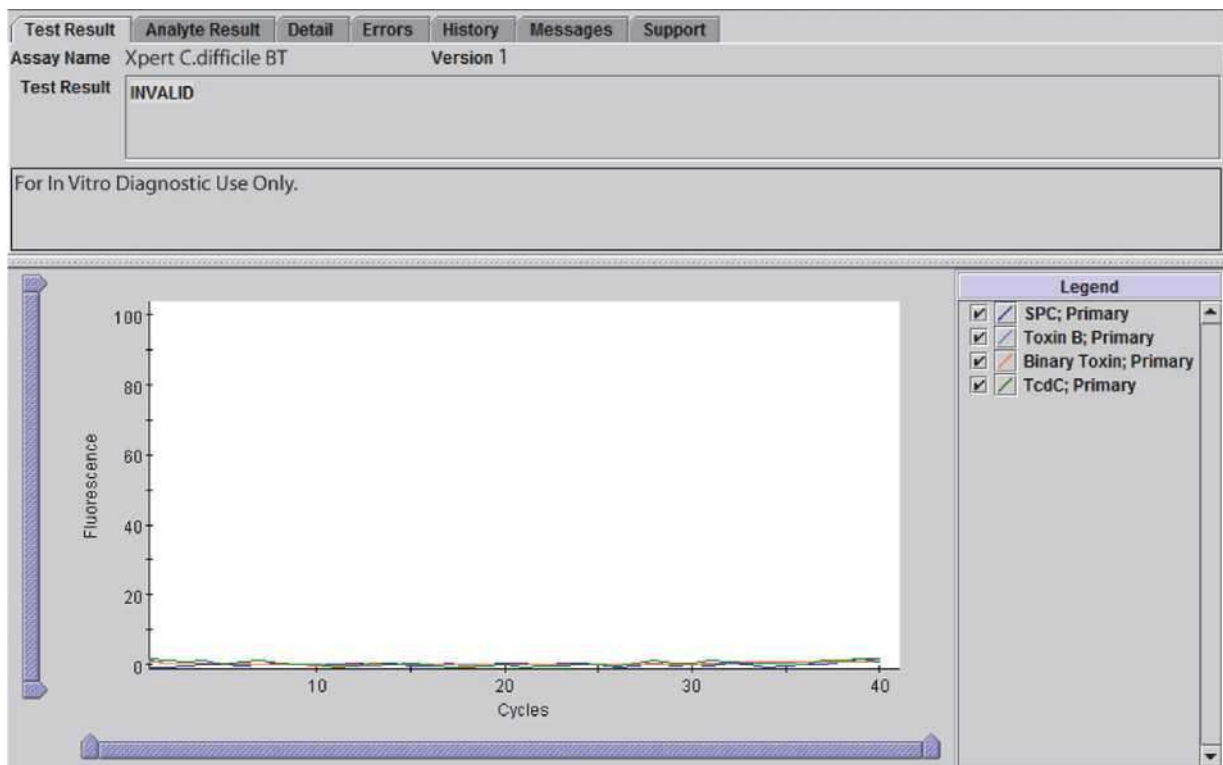


Рисунок 7. Пример недействительного результата

14 Причины повторного выполнения теста

При получении любого из перечисленных ниже результатов повторите тест в соответствии с указаниями раздела 15 «Процедура повторного теста».

- **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** результат указывает на то, что не пройдены проверки SPC. Образец не был обработан надлежащим образом, или произошло ингибирование ПЦР.
- Результат **ОШИБКА (ERROR)** означает, что не пройдена проверка зондов, и тест был прерван вследствие того, что ненадлежащим образом была заполнена реакционная пробирка, выявлено нарушение целостности зондов, превышено максимально допустимое давление или обнаружена ошибка позиционирования клапана.
- Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Например, если лаборант прервал текущий процесс теста.

15 Процедура повторного теста

Для проведения повторного теста в пределах 3 часов после получения промежуточного результата: используйте новый картридж (не используйте картриджи повторно) и новые реактивы.

1. Извлеките новый картридж из набора.
2. Перенесите все остатки содержимого из камеры для образца в новый реактив для образцов с помощью одноразовой пипетки для переноса жидкостей.
3. Перемешайте на вихревой мешалке и добавьте все содержимое реактива для образца в камеру для образца нового картриджа Xpert C. difficile BT.
4. Закройте крышку и запустите новый тест.

Для проведения повторного теста в пределах 3 часов после получения промежуточного результата: повторный тест можно выполнить, используя новый образец на зонде-тампоне, взятый из исходной пробы пациента.

16 Ограничения

- При использовании теста Xpert C. difficile BT изоляты, не содержащие 027, но содержащие токсинотип XIV будут определяться как «Токсигенный C. diff ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ, бинарный токсин ПОЛ., 027 ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО ПОЛ.» (Toxigenic C. diff POS, Binary Toxin POS, 027 PRESUMPTIVE POS).
- Результат **Токсигенный C. diff ОТР., бинарный токсин ПОЛ., 027 ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО ОТР. (Toxigenic C. diff NEG; Binary Toxin POS, Presumptive 027 NEG)**, полученный с помощью теста Xpert C. difficile BT, может свидетельствовать о наличии гена токсина В и/или делеции *tcdC* ниже LoD.
- Иногда при использовании теста Xpert C. difficile BT изоляты, не содержащие 027, но содержащие токсинотип IV, V и X определяются как «Токсигенный C. diff ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ, бинарный токсин ПОЛ., 027 ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО ПОЛ.» (Toxigenic C. diff POS, Binary Toxin POS, 027 PRESUMPTIVE POS).
- Функциональные характеристики теста Xpert C. difficile BT прошли валидацию только с использованием процедур, описанных в данном листке-вкладыше. Внесение изменений в эти процедуры может нарушить функциональные характеристики теста.
- Результаты, полученные с использованием теста Xpert C. difficile BT, следует интерпретировать с учетом других лабораторных и клинических данных, имеющихся у врача.
- Ошибочные результаты теста могут быть связаны с неправильным сбором образца, несоблюдением рекомендованной процедуры сбора проб или инструкций по обращению и хранению, технической ошибкой, смешиванием образцов или недостаточным для обнаружения при помощи данного теста количеством микроорганизмов в образце. Чтобы избежать получения ошибочных результатов, необходимо тщательно соблюдать инструкции, представленные в данном листке-вкладыше.
- Из-за коэффициента разбавления, определенного в ходе процедуры повторного тестирования, вероятно, что положительные на C. difficile образцы, находясь в пределах или близко к пределу обнаружения (LoD) теста Xpert C. difficile BT, что может привести к получению ложноотрицательного результата при повторном тестировании.
- Ингибирование теста Xpert C. difficile BT наблюдалось в присутствии следующих веществ: пасты на основе оксида цинка и крема Вагисил®.
- Вспышки CDI могут быть вызваны штаммами, отличными от 027.
- При наличии у инфицирующих микроорганизмов геномных мутаций, вставок, делеций или перераспределений или при выполнении теста на очень ранней стадии заболевания возможно получение ложноотрицательных результатов.
- Положительные результаты, полученные у пациентов с ослабленным иммунитетом, могут свидетельствовать о бессимптомном носительстве C. difficile.
- Обнаружение нуклеиновых кислот C. difficile в стуле подтверждает присутствие этих микроорганизмов у пациентов с диареей, но не может указывать на то, что C. difficile является причиной диареи.
- Функциональные характеристики не были определены для пациентов в возрасте < 2 лет.
- Мутации или полиморфизмы в областях связывания праймера или зонда могут оказывать влияние на обнаружение целевых типов C. difficile, что приведет к получению ложноотрицательного результата.

17 Ожидаемые значения

В ходе клинического исследования теста Xpert C. difficile BT было использовано в общей сложности 2293 образца бесформенного стула из 7 центров в США и Канаде. Количество и процентное значение положительных по токсигенному C. difficile результатов по культуре, рассчитанных по возрасту и полу, представлены в таблице 2 и таблице 3 соответственно.

Таблица 2. Наблюдаемая распространенность токсигенного C. difficile по возрастным группам ^a

Возрастная группа	N	Распространенность токсигенного C. difficile (включая 027)	Распространенность бинарного токсина	Распространенность 027
2-5	16	37,5% (6/16)	12,5% (2/16)	12,5% (2/16)
6-21	105	12,4% (13/105)	2,9% (3/105)	0,9% (1/105)
22-59	898	16,4% (147/898)	4,8% (43/898)	3,3% (30/898)
>60	1274	20,7% (264/1274)	9,2% (117/1274)	7,2% (92/1274)
Итого	2293	18,8% (430/2293)	7,2% (165/2293)	5,5% (125/2293)

а. Распространенность основана на результатах, полученных с помощью теста Xpert.

Таблица 3. Наблюдаемая распространенность токсигенного C. difficile по полу

Пол	N	Распространенность токсигенного C. difficile (включая 027)	Распространенность бинарного токсина	Распространенность 027
Мужской	1072	18,2% (195/1072)	6,3% (68/1072)	5,0% (54/1072)
Женский	1221	19,2% (235/1221)	7,9% (97/1221)	5,8% (71/1221)
Итого	2293	18,8% (430/2293)	7,2% (165/2293)	5,5% (125/2293)

а. Распространенность основана на результатах, полученных с помощью теста Xpert.

18 Функциональные характеристики

18.1 Клинические характеристики

Функциональные характеристики теста Xpert C. difficile BT были определены в многоцентровом проспективном исследовательском исследовании в семи учреждениях США и Канады путем сравнения результатов теста Xpert C. difficile BT с результатами эталонной культуры с последующим тестированием изолятов CCCN и типированием штаммов на токсигенных штаммах методом ПЦР-риботипирования.

Субъекты включали лиц, для которых требовалось провести тестирование на наличие C. difficile. Часть каждого оставшегося образца бесформенного стула была получена для проведения тестирования с помощью теста Xpert C. difficile BT. Оставшееся количество образца было отправлено в центральную лабораторию для изучения эталонной культуры и цитотоксина В. Каждый образец стула инокулировали на предварительно восстановленный циклосерин-цефокситин-фруктозный агар для прямой обработки (CCFA-D) и бульон циклосерин-цефокситин-маннит с таурохолатом лизоцим-цистеином (CCMB-TAL). Через 24 часа CCMB-TAL пересевают на вторую чашу с CCFA-E (обогащенный CCFA). Данный метод прямого культивирования далее упоминается как «эталонная культура».

Если C. difficile была выделена из чаши CCFA-D, а изолят был положительным по CCCN, то образец классифицировали как «Токсигенный C. difficile положительный», и чаша CCFA-E не подвергалась дальнейшему анализу. Если C. difficile не был выделен из чаши CCFA-D или если изолят был отрицательным в ходе анализа клеток CCCN, то чашу CCFA-E подвергали дальнейшему анализу.

Если CCFA-E был положительным на C. difficile, а изолят был положительным на CCCN, то образец классифицировали как «Токсигенный C. difficile положительный». Образец считался «отрицательным», если CCFA-E был отрицательным для C. difficile или изолят был отрицательным в ходе теста на CCCN.

После изучения эталонной культуры положительные по токсигенным C. difficile изоляты были отправлены во второй набор лабораторий для определения штаммов с помощью ПЦР-риботипирования.

Эффективность теста Xpert C. difficile BT рассчитывалась относительно результатов прямого культивирования с типированием штаммов и эталонной культуры с типированием штаммов.

18.2 Общие результаты

Всего 2293 образца были изучены с помощью теста Xpert C. difficile BT, культивирования и типирования штаммов.

Результаты эффективности по сравнению с прямым культивированием

По сравнению с прямым культивированием при проведении ПЦР-риботипирования тест Xpert C. difficile BT продемонстрировал чувствительность и специфичность в отношении токсигенных C. difficile 98,78% и 90,86% соответственно. Тест Xpert C. difficile BT также продемонстрировал 100% совпадение положительных результатов и 97,70% совпадение отрицательных результатов для 027 (см. таблицу 4).

Таблица 4. Функциональные характеристики теста Xpert C. difficile BT по сравнению с прямым культивированием и ПЦР-риботипированием

Прямое культивирование и ПЦР-риботипирование					
		Токсин В+ 027 +	Токсин В+ 027 -	ОТРИЦ.	Итого ^a
Xpert C. difficile BT ^b	Токсин В+ 027+	74	4	47	125
	Токсин В+ 027-	0	164	140	304
	ОТРИЦ.	0	3	1860	1863
	Итого	74	171	2047	2292
		Токсигенный C. difficile		Токсигенный C. difficile/027	
		Чувствительность: 98,78% (242/245) Специфичность: 90,86% (1860/2047) Правильность: 91,71% (2102/2292) PPV ^c : 56,41% (242/429) NPV ^d : 99,84% (1860/1863)		Совпадение положительных результатов: 100% (74/74) Совпадение отрицательных результатов: 97,70% (2167/2218) Правильность: 97,77% (2241/2292) PPV: 59,20% (74/125) NPV: 100% (2218/2218)	

- Тип одного изолята не может быть определен из-за контаминации: данный образец не включен в статистику функциональных характеристик.
- Представлены результаты, полученные с помощью теста Xpert при первой или второй попытке. В ходе изучения примерно 3,2% образцов с первой попытки были получены промежуточные результаты.
- Положительное прогностическое значение
- Отрицательное прогностическое значение

Функциональные характеристики по сравнению с эталонной культурой

По сравнению с эталонной культурой при проведении ПЦР-риботипирования тест Xpert C. difficile BT продемонстрировал чувствительность и специфичность в отношении токсигенных C. difficile 93,39% и 94,02% соответственно. Тест Xpert C. difficile BT также продемонстрировал 98,89% совпадение положительных результатов и 98,36% совпадение отрицательных результатов для 027 (см. таблицу 5).

Таблица 5. Функциональные характеристики теста Xpert C. difficile BT по сравнению с эталонной культурой и ПЦР-риботипированием

Эталонная культура и ПЦР-риботипирование					
		Токсин В+ 027 +	Токсин В+ 027 -	ОТРИЦ.	Итого ^a
Xpert C. difficile BT ^b	Токсин В+ 027+	89	5	31	125
	Токсин В+ 027-	0	217	86	303
	ОТРИЦ.	1	21	1841	1863
	Итого	90	243	1958	2291
		Токсигенный C. difficile		Токсигенный C. difficile/027	
		Чувствительность: 93,39% (311/333) Специфичность: 94,02% (1841/1958) Правильность: 93,93% (2152/2291) PPV ^c : 72,66% (311/428) NPV ^d : 98,82% (1841/1863)		Совпадение положительных результатов: 98,89% (89/90) Совпадение положительных результатов: 98,36% (2165/2201) Правильность: 98,38% (2254/2291) PPV: 71,20% (89/125) NPV: 99,95% (2165/2166)	

- Тип одного изолята не может быть определен из-за контаминации: данный образец не включен в статистику функциональных характеристик.
- Представлены результаты, полученные с помощью теста Xpert при первой или второй попытке. В ходе изучения примерно 3,2% образцов с первой попытки были получены промежуточные результаты.
- Положительное прогностическое значение
- Отрицательное прогностическое значение

Резюме

В таблице 6 перечислено общее количество образцов, используемых для получения каждого отдельного результата теста, из 2293 образцов, включенных в анализ данных клинической эффективности.

Таблица 6. Общая функциональная характеристика теста Xpert C. difficile BT

Результат теста	N
Токсигенный C. diff ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ, бинарный токсин ОTR., 027 ОTR. (Toxigenic C. diff POS, Binary Toxin NEG, 027 NEG)	272
Токсигенный C. diff ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ, бинарный токсин ПОЛ., 027 ОTR. (Toxigenic C. diff POS, Binary Toxin POS, 027 NEG)	36
Токсигенный C. diff ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ, бинарный токсин ПОЛ., 027 ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО ПОЛ. (Toxigenic C. diff POS, Binary Toxin POS, 027 PRESUMPTIVE POS)	122
Токсигенный C. diff ОTR., бинарный токсин ПОЛ., 027 ОTR. (Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin POS, 027 NEG)	7a
Токсигенный C. diff ОTR., бинарный токсин ОTR., 027 ОTR. (Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin NEG, 027 NEG)	1856
Итого	2293

- В ходе дополнительных исследований было продемонстрировано, что 4 из 7 штаммов содержат ген токсина В.

Применение антибиотиков

Среди 2293 случаев, включенных в основной набор данных, применение антибиотиков в течение 2 месяцев до сбора образцов было зарегистрировано в 1630 случаях, а отсутствие применения антибиотиков было подтверждено в 570 случаях; в 93 случаях статус применения антибиотиков был неизвестен. Применение антибиотиков не обусловило статистически значимой разницы в эффективности теста.

19 Аналитическая эффективность

19.1 Аналитическая специфичность

55 (пятьдесят пять) штаммов были отобраны, количественно оценены и изучены с помощью теста Xpert C. difficile BT. Проводилось тестирование штаммов из Американской коллекции типовых культур (American Type Culture Collection, ATCC), Коллекции культур университета Гётеборга (Culture Collection, University of Göteborg, CCUG), Немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, DSMZ), Центра по контролю и профилактике заболеваний (Centers for Disease Control and Prevention, CDC), Института общественного здравоохранения, Марибор, Словения (Institute of Public Health, Maribor, Slovenia) и Шведского института по контролю за инфекционными заболеваниями (Swedish Institute for Infectious Disease Control, SMI).

Среди изученных видов бактерий были проанализированы 10 (десять) нетоксигенных штаммов C. difficile и 11 (одиннадцать) штаммов, не относящихся к видам C. difficile Clostridium. Исследуемые микроорганизмы были идентифицированы как грамположительные (37) или грамотрицательные (18). Организмы были дополнительно классифицированы как аэробные (24), анаэробные (29) или микроаэробные (2).

Каждый штамм изучали в трех повторностях в диапазоне концентраций от $1,1 \times 10^8$ до $2,2 \times 10^{10}$ КОЕ/зонд-тампон. В исследовании использовались положительные и отрицательные контроли. В условиях проведения исследования все изоляты были определены как **Токсигенный C. diff ОТР., бинарный токсин ОТР., 027 ОТР. (Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin NEG, 027 NEG)** (см.таблице 7). Аналитическая специфичность составила 100%.

Для демонстрации специфичности анализа бинарных токсинов была изучена дополнительная серия видов Clostridium.

Таблица 7. Результаты исследования специфичности гена бинарного токсина

Род	Виды	Кол-во испытанных	Токсин А/В	Бинарный токсин
Clostridium	aldenense	2	отриц.	отриц.
Clostridium	aminovalepticum	2	отриц.	отриц.
Clostridium	baratii	2	отриц.	отриц.
Clostridium	bartlettii	1	отриц.	отриц.
Clostridium	bifermentans	2	отриц.	отриц.
Clostridium	boltae	2	отриц.	отриц.
Clostridium	butyricum	2	отриц.	отриц.
Clostridium	cadaveris	2	отриц.	отриц.
Clostridium	celerecrescens	2	отриц.	отриц.
Clostridium	citroniae	2	отриц.	отриц.
Clostridium	clostridioforme	2	отриц.	отриц.
Clostridium	cochlearium	1	отриц.	отриц.
Clostridium	colicanis	2	отриц.	отриц.
Clostridium	disporicum	1	отриц.	отриц.
Clostridium	fallax	2	отриц.	отриц.
Clostridium	glycolicum	2	отриц.	отриц.
Clostridium	hastiforme	1	отриц.	отриц.
Clostridium	hathewayi	2	отриц.	отриц.
Clostridium	hylemonae	2	отриц.	отриц.
Clostridium	innocuum	2	отриц.	отриц.
Clostridium	lactatifermentans	2	отриц.	отриц.
Clostridium	lavalense	1	отриц.	отриц.
Clostridium	limosum	2	отриц.	отриц.
Clostridium	mangenotii	1	отриц.	отриц.
Clostridium	mayombe-like	1	отриц.	отриц.
Clostridium	novyi	2	отриц.	отриц.
Clostridium	paraputrificum	2	отриц.	отриц.
Clostridium	perfringens	2	отриц.	отриц.

Таблица 7. Результаты исследования специфичности гена бинарного токсина (продолжение)

Род	Виды	Кол-во испытанных	Токсин А/В	Бинарный токсин
<i>Clostridium</i>	<i>perfringens muna E</i>	3	отриц.	отриц.
<i>Clostridium</i>	<i>ramosum</i>	2	отриц.	отриц.
<i>Clostridium</i>	<i>sardiniense</i>	1	отриц.	отриц.
<i>Clostridium</i>	<i>scindens</i>	2	отриц.	отриц.
<i>Clostridium</i>	<i>septicum</i>	2	отриц.	отриц.
<i>Clostridium</i>	<i>sordellii</i>	2	отриц.	отриц.
<i>Clostridium</i>	виды	19	отриц.	отриц.
<i>Clostridium</i>	<i>spiroforme</i>	1	отриц.	отриц.
<i>Clostridium</i>	<i>sporogenes</i>	2	отриц.	отриц.
<i>Clostridium</i>	<i>subterminale</i>	3	отриц.	отриц.
<i>Clostridium</i>	<i>symbiosum</i>	2	отриц.	отриц.
<i>Clostridium</i>	<i>tertium</i>	2	отриц.	отриц.
<i>Clostridium</i>	<i>tetani</i>	1	отриц.	отриц.
<i>Clostridium</i>	<i>xylano/aerotolerans</i>	1	отриц.	отриц.
<i>Clostridium</i>	<i>difficile RT 027</i>	5	+	+
<i>Clostridium</i>	<i>difficile RT 078</i>	2	+	+

С помощью теста Xpert *C. difficile* BT в условиях проведения исследования все изоляты, не содержащие бинарный токсин, были определены как отрицательные.

19.2 Аналитическая чувствительность

Были проведены исследования для определения 95% доверительного интервала для аналитического предела обнаружения (LoD) *C. difficile*, разведенных в фекальной матрице человеческого происхождения, которые могут быть обнаружены с помощью теста Xpert *C. difficile* BT. Фекальная матрица состояла из жидких фекалий человека (отрицательных на *C. difficile* согласно тесту Xpert *C. difficile* BT), разведенных в PBS с 15% глицерином. Порог обнаружения определялся как наименьшее количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в образце, который при помощи теста может воспроизводимо различаться от отрицательных образцов в 95% доверительном интервале. Для каждой исследуемой концентрации *C. difficile* (КОЕ/зонд-тампон) 7 различных штаммов *C. difficile*, представляющих токсинотипы 0 (два штамма), III (два штамма), IV, V и VIII (по одному на каждый штамм), оценивалось по 20 повторов.

Оценка была выполнена и доверительные интервалы были определены с помощью логистической регрессии с использованием данных (количество положительных результатов на количество повторов на каждом уровне) в диапазоне исследуемых КОЕ. Доверительные интервалы были определены с помощью оценок максимального правдоподобия параметров логистической модели с использованием матрицы дисперсии-ковариации большой выборки. Точки LoD и 95% верхний и нижний доверительные интервалы для каждого исследуемого токсинотипа *C. difficile* представлены в таблице 8.

Таблица 8. 95% доверительные интервалы для аналитического LoD-*C. difficile*

Идентификатор штамма	Токсинотип	LoD _{95%} (КОЕ/зонд-тампон)	Нижний 95% ДИ	Верхний 95% ДИ
VPI 10463 (CCUG19126)	0	255	190	632
90556-M6S (ATCC9689)	0	460	419	587
LUMC-1 (027) ^a	III	23	19	31
LUMC-5 (027) ^a	III	75	45	176
LUMC-7	V	45	34	104
LUMC-6	VIII	60	50	74
9101	XII	41	34	49

a. Методом ПЦР-риботипирования

Результаты исследования указывают на то, что с помощью теста Xpert C. difficile BT могут быть получены положительные результаты на C. difficile в 95% случаев при использовании образца кала, содержащего 460 КОЕ/зонд-тампон, и в 95% случаев предположительно положительный результат на 027 (75 КОЕ/зонд-тампон).

В дополнение к определению LoD, 18 штаммов C. difficile, представляющих токсинотипы 0 плюс 12 вариантов токсинотипов, включая четыре изолята 027 токсинотипа III, были изучены с помощью теста Xpert C. difficile BT. Штаммы C. difficile были выбраны таким образом, чтобы они представляли собой большинство токсинотипов C. difficile, встречающихся на практике. Исходные культуры готовили путем суспендирования бактериального роста на чашках с агаром в буфере PBS, содержащем 15% глицерина. Концентрацию каждой исходной культуры корректировали до 1,4-5,9 единиц Мак Фарланда. Все штаммы серийно разбавляли примерно до 900 КОЕ/зонд-тампон и исследовали в трех повторах.

В условиях данного исследования тест Xpert C. difficile BT правильно идентифицировал все 18 исследуемых штаммов как **Токсигенные C. diff ПОЛ.** В панель были включены 8 токсинотипов, которые, также были положительными в отношении продукции бинарного токсина (CDT). Все они были положительными на CDT при использовании теста Xpert C. difficile BT. Все четыре изолята 027, представляющие токсинотип III, были надлежащим образом определены как **токсигенный C. diff ПОЛ.; бинарный токсин ПОЛ.; 027 ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО ПОЛ.**

Семь изолятов C. difficile ПЦР-риботипа 033 и три дополнительных изолята C. difficile родственного ПЦР-риботипа, которые были отрицательными по tcdA и tcdB, но продуцировали бинарный токсин (CDT)²², были изучены с помощью теста Xpert C. difficile BT. Все 10 изолятов продемонстрировали положительные результаты только в отношении бинарного токсина (см. таблицу 9), что подтверждает способность теста определять изоляты, которые представляют собой токсин А, токсин В-, бинарный токсин +.

Таблица 9. Исследование организмов, продуцирующих только бинарный токсин (токсин А-, токсин В-), с помощью теста Xpert C. difficile BT

Организм	Идентификатор штамма	ПЦР-риботип	Результат теста
C. difficile	CD12-066	033	Токсигенный C. diff ОТП., бинарный токсин ПОЛ., 027 ОТП. (Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin POS, 027 NEG)
C. difficile	CD12-203	033	Токсигенный C. diff ОТП., бинарный токсин ПОЛ., 027 ОТП. (Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin POS, 027 NEG)
C. difficile	CD13-022	033	Токсигенный C. diff ОТП., бинарный токсин ПОЛ., 027 ОТП. (Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin POS, 027 NEG)
C. difficile	06-08-02	033	Токсигенный C. diff ОТП., бинарный токсин ПОЛ., 027 ОТП. (Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin POS, 027 NEG)
C. difficile	06-20-01	033	Токсигенный C. diff ОТП., бинарный токсин ПОЛ., 027 ОТП. (Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin POS, 027 NEG)
C. difficile	NT077	033	Токсигенный C. diff ОТП., бинарный токсин ПОЛ., 027 ОТП. (Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin POS, 027 NEG)
C. difficile	AI-0016	238	Токсигенный C. diff ОТП., бинарный токсин ПОЛ., 027 ОТП. (Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin POS, 027 NEG)
C. difficile	WA-0012	239	Токсигенный C. diff ОТП., бинарный токсин ПОЛ., 027 ОТП. (Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin POS, 027 NEG)
C. difficile	ES-0145	288	Токсигенный C. diff ОТП., бинарный токсин ПОЛ., 027 ОТП. (Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin POS, 027 NEG)
C. difficile	R-0010	033	Токсигенный C. diff ОТП., бинарный токсин ПОЛ., 027 ОТП. (Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin POS, 027 NEG)

19.3 Вещества, препятствующие проведению теста

21 (двадцать одно) биологическое и химическое вещество, иногда используемое или обнаруживаемое в образцах стула, было изучено на наличие интерференции с помощью теста Xpert C. difficile BT. Потенциально интерферирующие вещества включают, помимо прочего, крем Вагисил и пасту на основе оксида цинка (см. раздел 16 Ограничения). 19 веществ, перечисленных в таблице 10, не продемонстрировали заметной интерференции в отношении теста Xpert C. difficile BT.

Таблица 10. Вещества, изученные и не продемонстрировавшие интерференции при использовании теста

Вещество	Вещество
Цельная кровь	K-Y Jelly/Gelee®
Каролинская университетская больница (Karolinska University Hospital)	McNeil-PPC
Муцин (свиной)	Вазелин
Sigma	Unilever
Каопектат®	Дульколакс®
Chattem	Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals

Таблица 10. Вещества, изученные и не продемонстрировавшие интерференции при использовании теста (продолжение)

Вещество	Вещество
Имодиум® McNeil-PPC	Производство Н портативных салфеток Wyeth Consumer Healthcare
Пепто-Бисмол® Proctor & Gamble	Противозачаточная вагинальная пленка (VCF) Apothecus Pharmaceutical
Раствор Н® Wyeth Consumer Healthcare	Ванкомицин Fluka
Флит® CB Fleet Company	Метронидазол Actavis
Фекальные жиры Каролинская университетская больница (Karolinska University Hospital)	Анусол® Плюс TM Warner-Lambert Company
Монистат® McNeil-PPC	E-Z HDTM Сульфат бария высокой плотности для приготовления суспензии E-Z EM Canada
Гидрокортизон, крем Longs Drugs	

20 Воспроизводимость

Группа из 7 образцов с различными концентрациями токсигенного *C. difficile* и риботипа *C. difficile* 027 была изучена в течение 10 разных дней двумя разными операторами в каждом из 3 центров (7 образцов x 2 оператора/день x 10 дней x 3 центра). В каждом из 3 исследовательских центров использовали одну партию теста Xpert C. difficile BT. Тесты Xpert C. difficile BT использовали в соответствии с методикой анализа Xpert C. difficile BT. Результаты представлены в таблице 11 и таблице 12.

Таблица 11. Краткий обзор результатов воспроизводимости (всех)

Идентификатор пробы	% совпадения ^a			% общего совпадения по образцу
	Центр 1	Центр 2	Центр 3	
Отриц.	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Токсигенный <i>C. difficile</i> крайне отрицательный	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Токсигенный <i>C. difficile</i> низко положительный	100% (20/20)	85% (17/20)	85% (17/20)	90% (54/60)
Токсигенный <i>C. difficile</i> умеренно положительный	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Токсигенный <i>C. difficile</i> , риботип 027, крайне отрицательный	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Токсигенный <i>C. difficile</i> , риботип 027, низко положительный	100% (20/20)	95% (19/20)	95% (19/20)	96,7% (58/60)
Токсигенный <i>C. difficile</i> , риботип 027, умеренно положительный	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
% общего совпадения по центру	100% (140/140)	97,1% (136/140)	97,1% (136/140)	98,1% (412/420)

- а. Для отрицательных и крайне отрицательных образцов % совпадения = (количество отрицательных результатов/общее количество образцов); для образцов с низким и умеренным положительным результатом % совпадения = (количество положительных результатов/общее количество образцов).

Таблица 12. Краткий обзор значений Ct по уровню образца и датчику

SPC			
Уровень	Ср.	Стд.откл.	CV
Токсигенный <i>C. diff</i> крайне отр.	32,17	0,59	1,83%
Токсигенный <i>C. diff</i> низко пол.	32,14	0,53	1,66%
Токсигенный <i>C. diff</i> умеренно пол.	31,98	0,47	1,47%
027 крайне отр.	32,11	0,65	2,03%
027 низко пол.	31,93	0,72	2,26%
027 умеренно пол.	31,96	0,61	1,90%
Отриц.	32,26	0,72	2,22%
tcdB (токсин В)			
Уровень	Ср.	Стд.откл.	CV
Токсигенный <i>C. diff</i> крайне отр.	39,59	0,70	1,77%
Токсигенный <i>C. diff</i> низко пол.	35,88	0,81	2,24%
Токсигенный <i>C. diff</i> умеренно пол.	32,17	0,45	1,39%
027 крайне отр.	39,11	0,98	2,50%
027 низко пол.	35,49	0,58	1,65%
027 умеренно пол.	32,10	0,63	1,97%

Дополнительную панель из 6 образцов, 3 отрицательных и 3 крайне отрицательных на токсигенный *C. difficile*, изучали в течение 5 разных дней 2 разных оператора в каждом из 3 центров (6 образцов x 2 оператора/день x 5 дней x 3 центра). Крайне отрицательные образцы были приготовлены при концентрации ниже LoD, так что предполагалось, что будет получен отрицательный результат в 20–80% случаев. В каждом из 3 исследовательских центров использовали одну партию теста *Xpert C. difficile BT*. Тесты *Xpert C. difficile BT* использовали в соответствии с методикой анализа *Xpert C. difficile BT*. Результаты представлены в таблице 13.

Таблица 13. Краткий обзор дополнительных результатов, полученных с помощью образцов для изучения воспроизводимости

Идентификатор пробы	% совпадения			% общего совпадения по образцу
	Центр 1	Центр 2	Центр 3	
Отриц.	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)
Токсигенный <i>C. difficile</i> крайне отрицательный ^b	60% (18/30)	60% (18/30)	53,3% (16/30)	57,8% (52/90)

а. (количество отрицательных результатов/общее количество крайне отрицательных образцов)

б. Согласие 20-80% ожидается для крайне отрицательных образцов

21 Список литературы

1. Larson HE, Price AB, Honour P, Borriello SP. *Clostridium difficile* and the aetiology of pseudomembranous colitis, Lancet 1978; 1:1063-1066.
2. Bartlett JG. Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea. N Engl J Med 2002; 31:334-339
3. Borriello SP. The influence of the normal flora on *Clostridium difficile* colonization of the gut. Ann Med 1990; 22:61-67
4. Bignardi GE. Risk factors for *Clostridium difficile* infection. J Hosp Infect 1998; 40:1-15.
5. Kelly CP, Pothoulakis C, Lamont JT. *Clostridium difficile* colitis. N Engl J Med 1994; 330:257-262.
6. Braun V, Hundsberger T, Leukel P, et al. Definition of the single integration site of the pathogenicity locus of *Clostridium difficile*. 1996; Gene 181:29-38.
7. Hammond GA, Johnson JL. The toxigenic element of *Clostridium difficile* strain VPI 10463. Microb Pathog. 1995;19:203-213.
8. Sambol SP, Merrigan MM, Lysterly D, et al. Toxin gene analysis of a variant strain of *Clostridium difficile* that causes human clinical disease. Infect. Immun 2000;68:5480-5487.
9. Goncalves C, Decre D, Barbut F, et al. Prevalence and characterization of a binary toxin (actin-specific ADP- ribosyl-transferase) from *Clostridium difficile*. J Clin Microbiol 2004;42:1933-1939
10. Stubbs S, Rupnik M, Gibert M, et al. Production of actin-specific ADP-ribosyltransferase (binary toxin) by strains of *Clostridium difficile*. FEMS Microbiol Lett 2000;186:307-12.
11. Popoff MR, Rubin EJ, Gill DM, Boquet P. Action-specific ADP-ribotransferase produced by a *Clostridium difficile* strain. Infect Immun 1998;56:2299-2306.
12. MacCannell DR, Louie TJ, Gregson DB, et al. Molecular analysis of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 isolates from Eastern and Western Canada, J Clin Microbiol. 2006 Jun;44(6):2147-2152.
13. Wilkins TD, Lysterly DM. *Clostridium difficile* testing: after 20 years, still challenging. Clin Microbiol. 2003 Feb;41:531-534.
14. Delmee M. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* disease. Clin Microbiol Infect. 2001;7:411-416.
15. Bauer MP, Notermans DW, van Benthem BH, Brazier JS, et al. *Clostridium difficile* infection in Europe: a hospital-based survey. Lancet. 2011;377:63-73.
16. Walker AS, Eyre DW, Wyllie DH, et al. Relationship between bacterial strain type, host biomarkers, and mortality in *Clostridium difficile* infection. Clin Infect Dis. 2013; 56:1589-1600.
17. See I, Mu Y, Cohen J, Beldavs ZG, et al. NAP1 strain type predicts outcomes from *Clostridium difficile* infection. Clin Infect Dis 2014;58:1394-1400.
18. Kuijper EJ, Coignard B, Tull P. ESCMID Study Group for *Clostridium difficile*; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006; 12 Suppl 6:2-18.
19. Curry SR, Marsh JW, Muto CA, et al. *tcdC* genotypes associated with severe *TcdC* truncation in an epidemic clone and other strains of *Clostridium difficile*, J Clin Microbiol. 2007 Jan;45:215-221. Erratum in: J Clin Microbiol. 2007 Jun;45(6):2103.
20. Weiss K, Boisvert A, Chagnon M, et al. Multipronged Intervention Strategy to Control an Outbreak of *Clostridium difficile* Infection (CDI) and Its Impact on the Rates of CDI from 2002 to 2007. Infect Control Hosp Epidemiol. 2009;30(2):156-162.
21. Eckert C, Emirian A, Le Monnier A, et al. Prevalence and pathogenicity of binary toxin-positive *Clostridium difficile* strains that do not produce toxins A and B. New Microbes New Infect. 2014;8:3:12-7.
22. Androga GO, McGovern AM, Elliott B, et al. Evaluation of the Cepheid Xpert C. *difficile*/Epi and meridian bioscience illumigene C. *difficile* assays for detecting *Clostridium difficile* ribotype 033 strains. J Clin Microbiol. 2015;53:973-5
23. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
24. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
25. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
26. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
27. Killgore G, Thompson A, Johnson S, et al. Comparison of seven techniques for typing international epidemic strains of *Clostridium difficile*: restriction endonuclease analysis, pulsed-field gel electrophoresis, PCR-ribotyping, multilocus sequence typing, multilocus variable-number tandem-repeat analysis, amplified fragment length polymorphism, and surface layer protein A gene sequence typing. J Clin Microbiol 2008;46:431-437

22 Расположение штаб-квартиры корпорации Cepheid

Головной офис
Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Соединенные Штаты Америки
Тел.: +1 408 541 4191
Факс: +1 408 541 4192

Европейский офис
Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Франция
Тел.: +33 563 825 300
Факс: +33 563 825 301

23 Техническая поддержка

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

Контактная информация

Соединенные Штаты Америки

Тел.: + 1 888 838 3222

Электронный адрес: techsupport@cepheid.com

Франция

Тел.: + 33 563 825 319

Электронный адрес: support@cepheideurope.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Cepheid доступна на нашем веб-сайте: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

24 Условные обозначения

Символ	Значение
	Каталожный номер
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Не использовать повторно
	Код партии
	Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно!
	Производитель
	Место производства
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов
	Контроль
	Срок годности
	Маркировка CE – Соответствие европейским нормативам
	Температурные ограничения
	Биологическая опасность
	Осторожно!



Cepheid
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden (Швеция)

Диагностика **CE**
in-vitro

Xpert® CT/NG

REF GXCT/NG-CE-10
GXCT/NG-CE-120

Trademarks, Patents and Copyright Statements

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert® and Xpert® are trademarks of Cepheid.

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

Copyright © Cepheid 2020. All rights reserved.

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

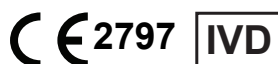
Cepheid®, логотип Cepheid, GeneXpert® и Xpert® являются товарными знаками компании Cepheid.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩИМ ВКЛАДЫШЕМ-ИНСТРУКЦИЕЙ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

Copyright © Cepheid 2020. Все права защищены.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden
www.cepheidinternational.com



Тест Xpert® CT/NG

Только для диагностического применения *in vitro*.

1 Фирменное название

Xpert® CT/NG

2 Общепринятое название

Тест Xpert CT/NG

3 Назначение

Тест Xpert CT/NG, выполняемый на системе приборов GeneXpert®, является качественным, выполняемым *in vitro* в реальном времени, анализом ПЦР для автоматического обнаружения и дифференцирования геномной ДНК *Chlamydia trachomatis* (СТ) и (или) *Neisseria gonorrhoeae* (NG) с целью облегчения диагностики хламидиозного и гонорейного поражения органов мочеполовой системы. Этот тест может быть применен для исследования следующих образцов, полученных у лиц с клиническими проявлениями заболевания или бессимптомным течением: мочи женщин и мужчин, мазков из шейки матки или мазков из влагалища, полученных пациентками в условиях медицинского учреждения.

4 Краткие сведения и разъяснения

Chlamydia trachomatis (СТ) является грам-отрицательной неподвижной бактерией, которая является облигатным внутриклеточным паразитом клеток эукариотных организмов в связи с неспособностью синтезировать АТФ. Вид СТ состоит из не менее пятнадцати серотипов, способных вызывать заболевание у человека: серотипы от D до K являются основными возбудителями хламидиоза половых органов у мужчин и женщин.¹ Без лечения СТ может вызвать негонорейный уретрит, эпидидимит, проктит, цервицит и острый сальпингит. У женщин нелеченная инфекция СТ может у более чем 40 % инфицированных пациенток вызвать воспалительное поражение тазовых органов, причем до 20 % таких случаев сопровождаются бесплодием. Воспалительное поражение тазовых органов может проявляться как эндометрит, сальпингит, тазовый перитонит и тубо-овариальные абсцессы.^{2,3,4,5}

Neisseria gonorrhoeae (NG) является неподвижным грам-отрицательным диплококком, возбудителем гонореи. Гонорея является вторым по частоте заболеванием, передаваемым половым путем (ЗППП), бактериального происхождения. Большинство инфекций уретры мужчин, вызываемых NG, сопровождаются симптомами, заставляющими обращаться за лечением; однако у женщин эта инфекция часто не сопровождается узнаваемыми симптомами, пока не возникнут осложнения (например, воспаление тазовых органов).⁶

5 Принципы выполнения анализа

Тест Xpert CT/NG представляет собой автоматизированный диагностический анализ *in vitro* для качественного определения и дифференцирования ДНК СТ и NG. Этот тест выполняют на системе приборов Cepheid GeneXpert.

Система приборов GeneXpert автоматизирует и объединяет процессы очистки проб, амплификации нуклеиновых кислот и обнаружения целевых последовательностей в простых и сложных пробах с использованием ПЦР в реальном времени и ОТ-ПЦР. Система состоит из прибора, персонального компьютера и предустановленного программного обеспечения для анализа собранных проб и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи, которые содержат реактивы для ПЦР и в которых происходит ПЦР. Поскольку картриджи представляют собой замкнутые системы, вероятность перекрестной контаминации между картриджами во время анализа сводится к минимуму. Полное описание систем приведено в руководствах оператора соответствующих приборов системы GeneXpert.

В набор теста Xpert CT/NG включены реактивы для обнаружения СТ и NG методом ПЦР в реальном времени с применением 5'-экзонуклеазы. Кроме того, в картридже содержатся реактивы для контроля обработки образца (Sample Processing Control, SPC), контроля адекватности пробы (Sample Adequacy Control, SAC) и контроля зондов (Probe Check Control, PCC). SPC предназначен для контроля правильности обработки целевых бактерий и выявления ингибиторов в среде, где происходит ПЦР. Реактивы SAC позволяют обнаружить наличие одной копии гена человеческого происхождения и определить, содержит ли проба ДНК человека. PCC проверяет регидратацию реактива, заполнение пробирки в картридже, целостность зонда и стабильность красителя. Праймеры и зонды теста Xpert CT/NG обнаруживают хромосомные последовательности в бактериях. У СТ обнаруживают одну целевую последовательность (CT1), а у NG обнаруживают две различные целевые последовательности (NG2 и NG4). Обе целевые последовательности NG должны быть обнаружены тестом Xpert CT/NG, чтобы результат исследования NG считался положительным.

Тест Xpert CT/NG предназначен для использования со следующими типами образцов, полученных у лиц с клиническими проявлениями заболевания или бессимптомным течением: первая утренняя порция мочи мужчин, моча женщин, мазки из шейки матки или влагалища. Реактивы для транспортировки мочи и транспортировки мазков включены в набор для сбора образцов мочи Xpert CT/NG, набор для сбора образцов мочи Xpert, набор для сбора влагалищных и эндоцервикальных мазков Xpert CT/NG и набор для сбора влагалищных и эндоцервикальных мазков Xpert с целью консервации собранных у пациентов образцов при транспортировке в лабораторию перед выполнением теста Xpert CT/NG.

Образцы быстро перемешивают, переворачивая пробирки для сбора образцов несколько раз и (или) аспирацией с применением пипетки для переноса образцов. Входящей в набор пипеткой для переноса набирают образец до уровня выше отметки заполнения на пипетке для переноса и переносят в камеру для пробы картриджа Xpert CT/NG. Картридж GeneXpert загружают на платформу системы приборов GeneXpert, которая без участия оператора выполняет автоматизированную обработку проб и ПЦР в реальном времени для обнаружения ДНК. Примерно через 90 минут сводные и подробные результаты анализа отображаются в форме таблиц и графиков.

6 Реактивы и приборы

6.1 Комплект поставки



Набор для теста Xpert CT/NG (GXCT/NG-CE-10) содержит достаточное количество реактивов для обработки 10 проб контроля качества и (или) образцов, и набор для теста Xpert CT/NG (GXCT/NG-CE-120) содержит достаточное количество реактивов для обработки 120 проб контроля качества и (или) образцов, собранных с применением набора Xpert CT/NG для сбора влагалищных и эндоцервикальных мазков (CT/NGSWAB-50), набора Xpert для сбора влагалищных и эндоцервикальных мазков (SWAB/A-50), набора Xpert CT/NG для сбора образцов мочи (CT/NGURINE-50) или набора Xpert для сбора образцов мочи (URINE/A-50).

В наборы входят указанные ниже компоненты.

Картриджи теста Xpert CT/NG со встроенными реакционными пробирками

- Гранулы 1, 2 и 3
- Реактив для вымывания
- Реактив для лизирования (гуанидина тиоцианат)
- Реактив для промывки
- Реактив связывания

Пипетки для переноса (1 мл)

Компакт-диск

- Файлы с описанием теста (assay definition file, ADF)
- Инструкция по импортированию файла ADF в программное обеспечение
- Инструкция по применению (вкладыш-инструкция)

10 в каждом наборе

1 каждого из типов в одном картридже

2,0 мл в одном картридже

2,5 мл в одном картридже

0,5 мл в одном картридже

3,0 мл в одном картридже

10 в каждом наборе

1 в каждом наборе

120 в каждом наборе

1 каждого из типов в одном картридже

2,0 мл в одном картридже

2,5 мл в одном картридже

0,5 мл в одном картридже

3,0 мл в одном картридже

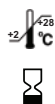
125 в каждом наборе

1 в каждом наборе

Примечание Паспорта безопасности вещества (Safety Data Sheet, SDS) можно найти по адресам www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com, на вкладке **ПОДДЕРЖКА (SUPPORT)**.

Примечание Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма бычьей крови животных, выращенных в США. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время производства не происходило смешивания сырья с другими материалами животного происхождения.

7 Хранение и обращение



- Храните картриджи и реактивы теста Xpert CT/NG при температуре 2–28 °C.
- Не используйте реактивы или картриджи с истекшим сроком годности.
- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение анализа. Используйте картридж в течение 30 минут после открывания крышки.
- Не используйте помутневшие или изменившие цвет реактивы.

8 Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки



- Первичные пробы необходимо собирать и обрабатывать в соответствующие (-их) наборы (-ах):
 - набор Xpert CT/NG для сбора влагалищных и эндоцервикальных мазков (CT/NGSWAB-50) или набор Xpert для сбора влагалищных и эндоцервикальных мазков (SWAB/A-50)
 - набор Xpert CT/NG для сбора образцов мочи (CT/NGURINE-50) или набор Xpert для сбора образцов мочи (URINE/A-50)
- Прибор GeneXpert DX или системы GeneXpert Infinity (номер по каталогу зависит от конфигурации): Прибор GeneXpert, компьютер, сканер штрих-кодов и руководство оператора.
- Для системы GeneXpert Dx: программное обеспечение GeneXpert Dx версии 4.3 или выше

Примечание Используйте это изделие с программным обеспечением GeneXpert версии 4.3 или выше

- Принтер: если необходим принтер, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.

9 Доступные материалы, не входящие в комплект поставки

- Внешние контроли серии ZeptoMetrix NATtrol™ CT/NG (каталожный номер NATCT/NGNEG-6MC) в качестве отрицательного контроля.
- Внешние контроли цикла ZeptoMetrix NATtrol™ CT/NG [каталожные номера NATCT(LGV II-434)-6MC и NATNG-6MC] в качестве положительных контролей.

10 Предупреждения и меры предосторожности

10.1 Общие

- Для диагностических тестов *in vitro*.
- В клинических образцах могут присутствовать патогенные микроорганизмы, в том числе вирусы гепатита и иммунодефицита человека (ВИЧ). При работе со всеми биологическими образцами, в том числе и с использованными картриджами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются агентством U.S. Center for Disease Control and Prevention и Clinical and Laboratory Standards Institute (панее National Committee for Clinical Laboratory Standards).^{7,8}
- Следуйте принятым в учреждении правилам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.
- Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, и они требуют соблюдения стандартных мер предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реактивов выполняйте принятые в вашем учреждении правила защиты окружающей среды. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых национальных или региональных процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе правила не дают ясных указаний по правильному удалению в отходы, биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их удаления.

10.2 Образец

- Для сбора эндоцервикальных мазков и вагинальных мазков, полученных пациентками, пользуйтесь только набором Xpert CT/NG для сбора влагалищных и эндоцервикальных мазков (CT/NGSWAB-50) или набором Xpert для сбора влагалищных и эндоцервикальных мазков (SWAB/A-50).

- В качестве образцов мочи используйте только набор Xpert CT/NG для сбора образцов мочи (CT/NGURINE-50), набор Xpert для сбора образцов мочи (URINE/A-50) или мочу без консервантов (нативный образец).
- Недостаточное или избыточное количество мочи, набранное в пробирки с реактивами для транспортировки мочи, может нарушить функциональные характеристики теста.
- Мазки из эндоцервикального канала и вагинальные мазки, полученные пациентками, следует собирать и исследовать до истечения срока годности пробирки с реактивом для транспортировки мазков.
- Образцы мочи следует исследовать до истечения срока годности пробирки с реактивом для транспортировки мочи.
- Соблюдайте надлежащие условия хранения при транспортировке образца, чтобы обеспечить его целостность. Не изучалась стабильность образца при транспортировке в условиях, отличных от рекомендованных.

10.3 Тест/реактив

- Не заменяйте реактивы теста Xpert CT/NG другими реактивами.
- Открывайте крышку картриджа Xpert CT/NG только для внесения пробы.
- Не используйте картридж, который падал или который встряхивали.
- Не размещайте этикетку с идентификационным номером образца на крышке картриджа или на этикетке со штрих-кодом.
- Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- ② • Каждый одноразовый картридж теста Xpert CT/NG применяется для проведения одного анализа. Не используйте повторно уже применявшиеся для анализа картриджи.
- Применение NG-положительных контролей в режиме определения только CT может привести к недействительности результатов контроля.
- Не следует использовать для тестирования эндоцервикальные или полученные пациентками вагинальные образцы, если при получении в лаборатории в них отсутствует тампон для мазка. Возможно получение ложно-отрицательных результатов.
- СМЕНИТЕ ПЕРЧАТКИ, если они коснулись образца или выглядят влажными, чтобы избежать загрязнения других образцов. Меняйте перчатки перед выходом из рабочей зоны и при переходе в рабочую зону.
- При разливе образца или контролей наденьте перчатки и впитайте разлив бумажными полотенцами. Затем тщательно очистите загрязненную область разбавленным в соотношении 1:10 свежеприготовленным раствором бытового хлорного отбеливателя. Конечная концентрация активного хлора должна составлять 0,5 % независимо от концентрации гипохлорита в бытовом отбеливателе в вашей стране. Продолжительность контакта поверхности с раствором отбеливателя должна составлять не менее двух минут. Высушите рабочую поверхность и затем удалите с нее остатки раствора отбеливателя при помощи 70 % денатурированного этилового спирта. Прежде чем продолжать, дождитесь полного высыхания поверхности. Также можно следовать стандартным процедурам, предусмотренным для случаев контаминации или разлива в вашем учреждении. При загрязнении оборудования следуйте рекомендациям по деkontаминации, предоставленным производителем этого оборудования.

11 Опасные химические факторы^{9,10}

- Сигнальное слово: **ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!**
- **Заявления об опасности СГС ООН**
 - Вредно при проглатывании
 - Может причинить вред при попадании на кожу
 - Вызывает раздражение глаз
- **Меры предосторожности СГС ООН**
 - **Профилактика**
 - После использования тщательно вымыть
 - **Реагирование**
 - При раздражении кожи: обратиться за медицинской консультацией/помощью.
 - **ДЕЙСТВИЯ ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА.** Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь и если это легко сделать. Продолжить промывание.
 - Если раздражение глаз не проходит: обратиться за медицинской консультацией/помощью.

- При плохом самочувствии обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту/терапевту.
- **Хранение/удаление в отходы**
 - Удаление в отходы содержимого и/или тары должно осуществляться в соответствии с местными, региональными, государственными и/или международными нормами.

12 Сбор и транспортировка образца



Собирайте образцы только с применением набора компании Cepheid:

12.1 Набор Хpert CT/NG для сбора образцов мочи (CT/NGURINE-50) или набор Хpert для сбора образцов мочи (URINE/A-50)

Первую утреннюю порцию мочи женщин следует перенести в пробирку с реактивом Хpert CT/NG для транспортировки мочи или пробирку с реактивом Хpert для транспортировки мочи в течение 24 часов с момента первичного сбора при условии пересылки и (или) хранения при комнатной температуре.

Первую утреннюю порцию мочи мужчин следует перенести в пробирку с реактивом Хpert CT/NG для транспортировки мочи или пробирку с реактивом Хpert для транспортировки мочи в течение 3 суток с момента первичного сбора при условии пересылки и (или) хранения при комнатной температуре.

Первую утреннюю порцию мочи мужчин и женщин, НЕ перенесенную в пробирку с реактивом Хpert CT/NG для транспортировки мочи или пробирку с реактивом Хpert для транспортировки мочи (образец мочи без консерванта), можно пересылать и (или) хранить не более 8 суток при 4 °С.



- Первую утреннюю порцию мочи женщин, перенесенную в пробирку с реактивом Хpert CT/NG для транспортировки мочи или пробирку с реактивом Хpert для транспортировки мочи (образец мочи женщин с консервантом), можно перед выполнением теста Хpert CT/NG пересылать и (или) хранить в течение до 45 суток при температуре 2–15 °С или до 3 суток при 2–30 °С.



- Первую утреннюю порцию мочи мужчин, перенесенную в пробирку с реактивом Хpert CT/NG для транспортировки мочи или пробирку с реактивом Хpert для транспортировки мочи (образец мочи мужчин с консервантом), можно перед выполнением теста Хpert CT/NG пересылать и (или) хранить в течение до 45 суток при температуре 2–30 °С.

12.2 Набор Хpert CT/NG для сбора влагалищных и эндоцервикальных мазков (CT/NGSWAB-50) или набор Хpert для сбора влагалищных и эндоцервикальных мазков (SWAB/A-50)



- Мазки, хранимые в пробирках с реактивом Хpert CT/NG для транспортировки мазков или пробирках с реактивом Хpert для транспортировки мазков, следует транспортировать в лабораторию при температуре 2–30 °С.



- Мазки, хранимые в пробирках с реактивом Хpert CT/NG для транспортировки мазков или пробирках с реактивом Хpert для транспортировки мазков, стабильны при температуре 2–30 °С до 60 суток перед выполнением теста Хpert CT/NG.

Указания по сбору и транспортировке приводятся в соответствующем вкладыше-инструкции к набору для сбора образца.

13 Процедура

Перед началом этих процедур убедитесь, что в приборе GeneХpert работает программное обеспечение GeneХpert Dx версии 4.3 или выше или программное обеспечение Хpertise версии 6.1 или выше.

13.1 Подготовка картриджа

Важно! Анализ следует начать не позднее чем через 30 минут после того, как образец был помещен в картридж.

Для внесения пробы в картридж теста Хpert CT/NG:

1. Подготовьте следующие материалы:
 - Картридж теста Хpert CT/NG
 - Пипетка для переноса (предоставляется)
 - Надлежащим образом собранная и маркированная исследуемая проба
2. Откройте крышку картриджа.

3. Осторожно переверните транспортную пробирку 3–4 раза для полного перемешивания пробы с реактивом для транспортировки.
4. Снимите обертку с пипетки для переноса.
5. Откройте крышку транспортной пробирки, сожмите головку пипетки для переноса, введите пипетку в транспортную пробирку и освободите головку так, чтобы пипетка для переноса наполнилась до уровня выше метки заполнения на трубке пипетки (рис. 1). Убедитесь в заполнении пипетки и отсутствии пузырьков воздуха.
6. Выпустите содержимое пипетки в предназначенную для пробы камеру картриджа (рис. 2).
7. Закройте крышку картриджа.

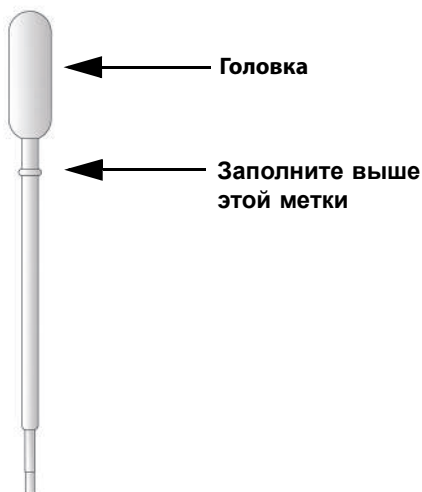


Рисунок 1. Пипетка для переноса и метка заполнения

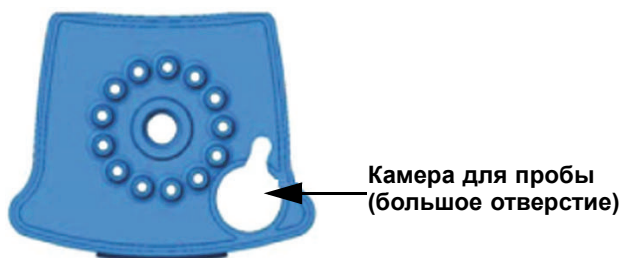


Рисунок 2. Картридж теста Xpert CT/NG (вид сверху)

13.2 Запуск анализа

Важно! Перед началом анализа убедитесь, что в системе работает программное обеспечение GeneXpert версии 4.3 или выше и что файл с описанием теста (Assay Definition File, ADF) Xpert CT/NG импортирован в программное обеспечение. В данном разделе перечисляются основные действия при выполнении теста. Подробные инструкции приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемой модели.

Примечание

Выполняемые вами действия могут быть другими, если системный администратор изменит установленную по умолчанию рабочую последовательность.

1. Включите анализатор GeneXpert:
 - При использовании GeneXpert Dx вначале следует включить прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически либо после двойного щелчка на ярлыке программного обеспечения GeneXpert Dx, находящегося на рабочем столе Windows®.

или

- При использовании GeneXpert Infinity следует включить прибор. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически либо после двойного щелчка на ярлыке программного обеспечения Xpertise, находящегося на рабочем столе Windows.
2. Войдите в программное обеспечение системы GeneXpert System под своим именем пользователя и паролем.
 3. В окне GeneXpert System выберите пункт **Создать анализ (Create Test)** (для GeneXpert Dx) или выберите пункт **Команды (Orders)**, а затем **Заказать анализ (Order Test)** (для Infinity). Появится окно «Создать анализ» (Create Test).

Рисунок 3. Окно «Создать анализ» (Create Test)

4. Отсканируйте или введите вручную идентификационный номер пациента (ID пациента, Patient ID) (необязательно). Удостоверьтесь в правильности введенного вручную «ID пациента» (Patient ID). «ID пациента» (Patient ID) связывается с результатом анализа и указывается в окне «Просмотреть результаты» (View Results).
5. Отсканируйте или введите вручную идентификационный номер образца (ID образца, Sample ID). Удостоверьтесь в правильности введенного вручную «ID образца» (Sample ID). «ID образца» (Sample ID) связывается с результатами анализа и указывается в окне «Просмотреть результаты» (View Results) и во всех отчетах. Появится диалоговое окно «Сканировать штрих-код картриджа» (Scan Cartridge).
6. Отсканируйте штрих-код на картридже теста Xpert CT/NG. На основе информации, считанной со штрих-кода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «ID партии реактива» (Reagent Lot ID), «С/Н картриджа» (Cartridge SN) и «Срок годности» (Expiration Date).

Примечание

Если штрих-код картриджа теста Xpert CT/NG не сканируется, повторите анализ с новым картриджем, следуя процедуре, описанной в разд. 18, Процедура повторного анализа.

7. Тест Xpert CT/NG можно выполнять для обнаружения только CT, только NG или обоих микроорганизмов (CT и NG), выбирая Xpert CT, Xpert NG или Xpert CT_NG в меню **Выбрать тест (Select Assay)**, как показано на рис. 3. В раскрывающемся меню Select Assay (Выбрать тест) обязательно выберите правильный тест.

Примечание

После начала анализа будут собираться данные по результатам только для выбранного на данном этапе теста. Результаты определения CT и NG будут выведены только в случае выбора варианта Xpert CT-NG.

8. Выберите пункт **Начать анализ (Start Test)** (для GeneXpert Dx) или **Отправить (Submit)** (для Infinity). При необходимости введите пароль.
9. При использовании системы GeneXpert Infinity поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, будет выполнен анализ, а использованный картридж удален в контейнер для отходов.

или

Для прибора GeneXpert Dx:

- A. Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
- B. Закройте дверцу. После этого начинается анализ, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса анализа индикаторная лампа выключается.
- C. Перед открытием модуля и извлечением картриджа дождитесь разблокирования системой замка дверцы.

- D. Использованные картриджи следует удалять в подходящие контейнеры для сбора отходов образцов согласно стандартным правилам, принятым в вашем учреждении.

14 Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечисляются основные действия по просмотру и печати результатов. Более подробные инструкции представлены в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*.

1. Для просмотра результатов выберите ярлык **Просмотреть результаты (View Results)**.
2. По завершении анализа выберите кнопку **Отчет (Report)** в окне «Просмотреть результаты» (View Results) для просмотра отчета и (или) получения отчета в формате PDF.

15 Контроль качества

CONTROL

В каждый анализ входят контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC), контроль адекватности пробы (Sample Adequacy Control, SAC) и контроль качества зондов (Probe Check Control, PCC).

- **Контроль обработки образца (SPC):** обеспечивает правильность обработки образца. SPC содержит геномную ДНК *Bacillus globigii*, которая имеется в каждом картридже. SPC позволяет проверить выполнение связывания и выделения целевой ДНК (если микроорганизм присутствует) и убедиться в правильности обработки пробы. Кроме того, этот контроль позволяет выявить связанное с пробой ингибирование реакции при использовании метода ПЦР в реальном времени. Результат для контроля SPC должен быть положительным для пробы, не содержащей анализируемое вещество, и может быть как положительным, так и отрицательным для пробы, содержащей анализируемое вещество. Контроль SPC считается пройденным, если его результат соответствует валидированным критериям приемлемости.
- **Контроль адекватности пробы (SAC):** позволяет подтвердить, что проба содержит клетки или ДНК человека. В данной мультиплексной тест-системе используются праймеры и зонды для детекции одной копии гена человеческого происхождения. SAC сигнал следует принимать во внимание только в пробе с отрицательным результатом на аналит. Отрицательный SAC означает, что в пробе нет клеток человека вследствие недостаточного перемешивания или неправильного взятия пробы.
- **Контроль качества зондов (PCC):** перед началом ПЦР система GeneXpert измеряет флуоресцентный сигнал от зондов для проверки регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль PCC считается пройденным, если его результат соответствует заданным критериям приемлемости.

15.1 Внешние контроли

Внешние контроли (один положительный и один отрицательный) могут использоваться в порядке, установленном применимыми требованиями местных, региональных и федеральных органов сертификации.

16 Интерпретация результатов

Интерполяция результатов выполняется системой приборов GeneXpert на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета; они отображаются в окне «Просмотреть результаты» (View Results). Тест Хpert CT/NG выдает результаты для целевых последовательностей CT и NG в соответствии с алгоритмами, представленными в Табл. 1.

Таблица 1. Возможные конечные результаты при выборе теста CT/NG

ТЕКСТ РЕЗУЛЬТАТА	CT1	NG2	NG4	SPC	SAC
СТ ОБНАРУЖЕН (CT DETECTED); NG ОБНАРУЖЕН (NG DETECTED)	+	+	+	+/-	+/-
СТ ОБНАРУЖЕН (CT DETECTED); NG НЕ ОБНАРУЖЕН (NG NOT DETECTED)	+	+	-	+/-	+/-
СТ ОБНАРУЖЕН (CT DETECTED); NG НЕ ОБНАРУЖЕН (NG NOT DETECTED)	+	-	+	+/-	+/-
СТ НЕ ОБНАРУЖЕН (CT NOT DETECTED); NG ОБНАРУЖЕН (NG DETECTED)	-	+	+	+/-	+/-
СТ НЕ ОБНАРУЖЕН (CT NOT DETECTED); NG НЕ ОБНАРУЖЕН (NG NOT DETECTED)	-	-	+	+/-	+/-

Таблица 1. Возможные конечные результаты при выборе теста CT/NG (продолжение)

СТ НЕ ОБНАРУЖЕН (CT NOT DETECTED); NG НЕ ОБНАРУЖЕН (NG NOT DETECTED)	-	-	-	+	+
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)	-	-	-	-	+/-
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)	-	-	-	+/-	-

Возможные результаты приведены в Табл. 2.

Таблица 2. Результаты теста Xpert CT/NG и их интерпретация

Результат	Интерпретация
СТ ОБНАРУЖЕН (CT DETECTED); NG ОБНАРУЖЕН (NG DETECTED) См. рис. 4.	<p>Целевые последовательности ДНК СТ и NG обнаружены.</p> <ul style="list-style-type: none"> В результате ПЦР-амплификации целевой последовательности СТ и двух целевых последовательностей NG получены значения Ct в действительном диапазоне, и конечные точки флуоресценции находятся выше порогового значения. SPC: Не применяется. SPC игнорируется, так как возможна конкуренция амплификации целевых ДНК СТ и NG с данным контролем. SAC: Не применяется. SAC игнорируется, так как возможна конкуренция амплификации целевых ДНК СТ и NG с данным контролем. PCC: ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
СТ НЕ ОБНАРУЖЕН (CT NOT DETECTED); NG ОБНАРУЖЕН (NG DETECTED) См. рис. 5.	<p>Не обнаружена целевая последовательность ДНК СТ, целевые последовательности ДНК NG обнаружены.</p> <ul style="list-style-type: none"> СТ отсутствует или ниже порога обнаружения теста; в результате ПЦР-амплификации двух целевых последовательностей NG получены значения Ct в действительном диапазоне, и конечные точки флуоресценции находятся выше порогового значения. SPC: Не применяется. SPC игнорируется, так как возможна конкуренция амплификации целевых ДНК СТ и NG с данным контролем. SAC: Не применяется. SAC игнорируется, так как возможна конкуренция амплификации целевых ДНК СТ и NG с данным контролем. PCC: ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
СТ ОБНАРУЖЕН (CT DETECTED); NG НЕ ОБНАРУЖЕН (NG NOT DETECTED) См. рис. 6.	<p>Обнаружена целевая последовательность ДНК СТ, не обнаружены целевые последовательности ДНК NG.</p> <ul style="list-style-type: none"> В результате ПЦР-амплификации целевой последовательности СТ получены значения Ct в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции находится выше порогового значения; NG отсутствует или ниже порога обнаружения тестом. SPC: Не применяется. SPC игнорируется, так как возможна конкуренция амплификации целевых ДНК СТ и NG с данным контролем. SAC: Не применяется. SAC игнорируется, так как возможна конкуренция амплификации целевых ДНК СТ и NG с данным контролем. PCC: ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.

Таблица 2. Результаты теста Xpert CT/NG и их интерпретация (продолжение)

Результат	Интерпретация
СТ НЕ ОБНАРУЖЕН (CT NOT DETECTED); NG НЕ ОБНАРУЖЕН (NG NOT DETECTED) См. рис. 7.	<p>Целевые последовательности ДНК СТ или NG не обнаружены.</p> <ul style="list-style-type: none"> СТ и NG отсутствуют или ниже уровня обнаружения тестом. SPC: ПРОЙДЕН (PASS); в результате ПЦР-амплификации целевой последовательности SPC получено значение Ct в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции выше порогового значения. SAC: ПРОЙДЕН (PASS); в результате ПЦР-амплификации целевой последовательности SAC получено значение Ct в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции выше порогового значения. PCC: ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) Пример первого сценария показан на рис. 8.	<p>Невозможно установить наличие или отсутствие целевой ДНК СТ и NG. См. указания раздела «Процедура повторного анализа» для выполнения повторного анализа.</p> <ul style="list-style-type: none"> SPC: НЕ ПРОЙДЕН (FAIL); результат определения целевой последовательности SPC отрицательный, Ct SPC не находится в действительном диапазоне, и конечная точка ниже минимального порогового значения. SAC: ПРОЙДЕН (PASS); значение Ct SAC находится в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции выше порогового значения. PCC: ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены. <p>или</p> <ul style="list-style-type: none"> SPC: ПРОЙДЕН (PASS); значение Ct SPC находится в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции выше порогового значения. SAC: НЕ ПРОЙДЕН (FAIL); результат определения целевой последовательности SAC отрицательный. Значение Ct SAC не находится в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции ниже порогового значения. PCC: ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены. <p>или</p> <ul style="list-style-type: none"> SPC: НЕ ПРОЙДЕН (FAIL); результат определения целевой последовательности SPC отрицательный, Ct SPC не находится в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции ниже минимального порогового значения. SAC: НЕ ПРОЙДЕН (FAIL); результат определения целевой последовательности SAC отрицательный. Значение Ct SAC не находится в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции ниже порогового значения. PCC: ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
ОШИБКА (ERROR)	<p>Невозможно установить наличие или отсутствие целевой ДНК СТ и NG. См. указания раздела «Процедура повторного анализа» для выполнения повторного анализа.</p> <ul style="list-style-type: none"> SPC: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) SAC: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) PCC: НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)*; все или одна из проверок в рамках контроля качества зондов не пройдены (-а). Возможно, что проверка PCC не пройдена из-за ненадлежащего заполнения реакционной пробирки или обнаружена проблема целостности зонда. <p>* Если проверка качества зондов пройдена, ошибка вызвана сбоем компонента системы.</p>

Таблица 2. Результаты теста Хpert CT/NG и их интерпретация (продолжение)

Результат	Интерпретация
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	<p>Невозможно установить наличие или отсутствие целевой ДНК СТ и NG. См. указания раздела «Процедура повторного анализа» для выполнения повторного анализа. Для предоставления результата собрано недостаточно данных (например, оператор прервал выполняющийся процесс анализа).</p> <ul style="list-style-type: none"> • SPC: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) • SAC: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) • RCC: НЕ ПРИМЕНЯЕТСЯ

Примечание

Изображённые в этом разделе экраны (Рисунок 4 — Рисунок 14) получены в приборе GeneXpert Dx при работе программного обеспечения GeneXpert Dx. Формат результата анализа изменяется в зависимости от выбора оператора для определения CT/NG, CT или NG.

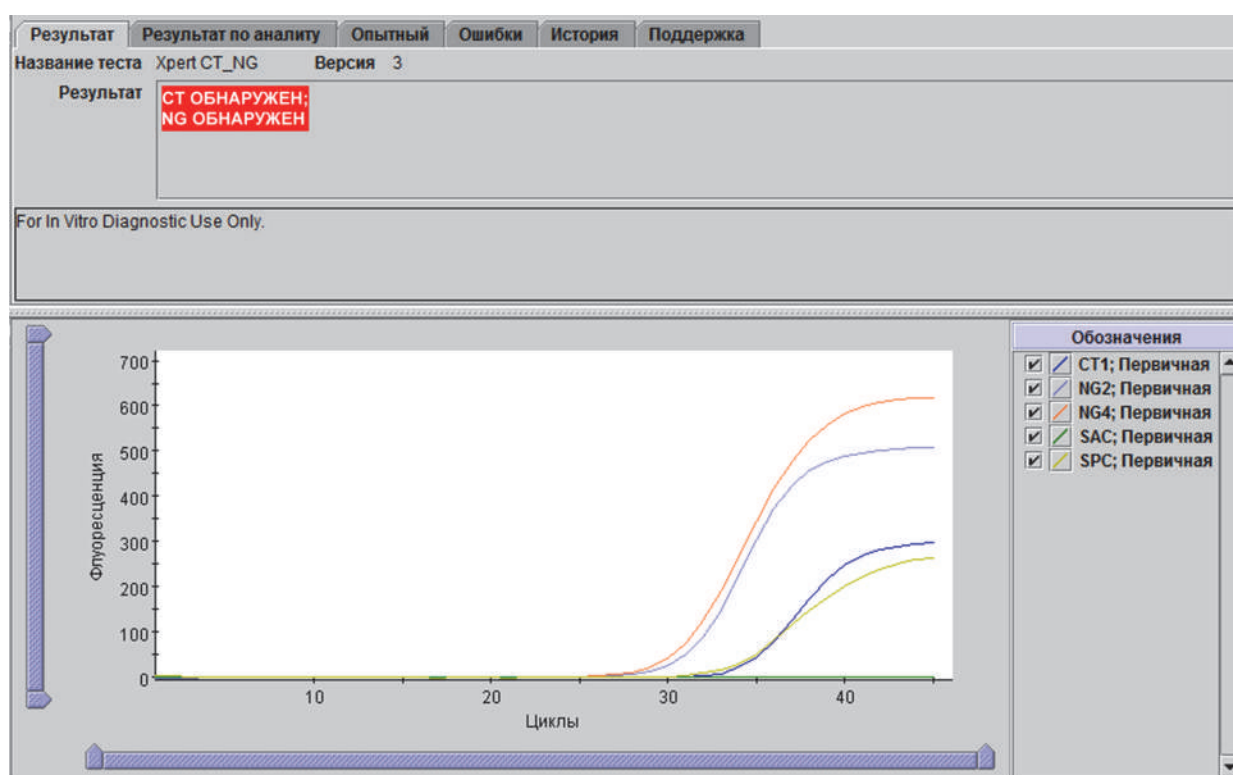


Рисунок 4. Результат теста CT-NG — СТ ОБНАРУЖЕН и NG ОБНАРУЖЕН

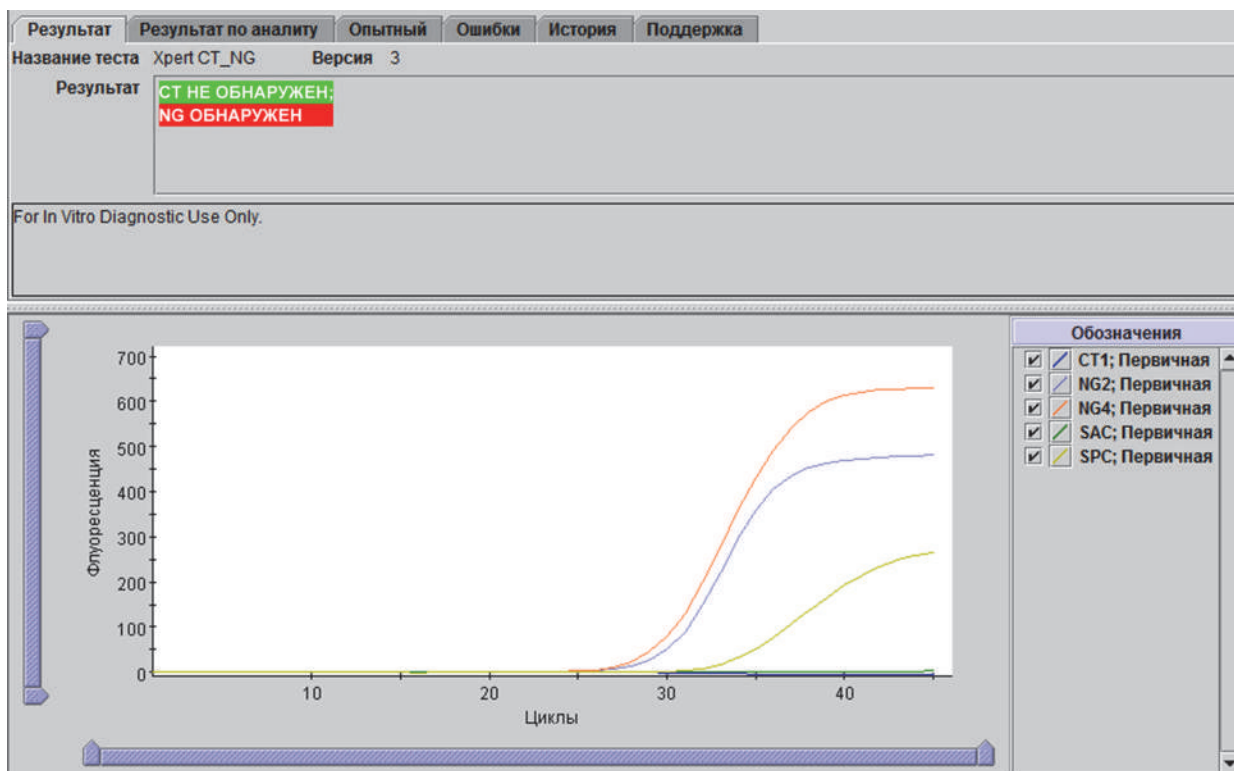


Рисунок 5. Результат теста CT-NG — CT НЕ ОБНАРУЖЕН и NG ОБНАРУЖЕН

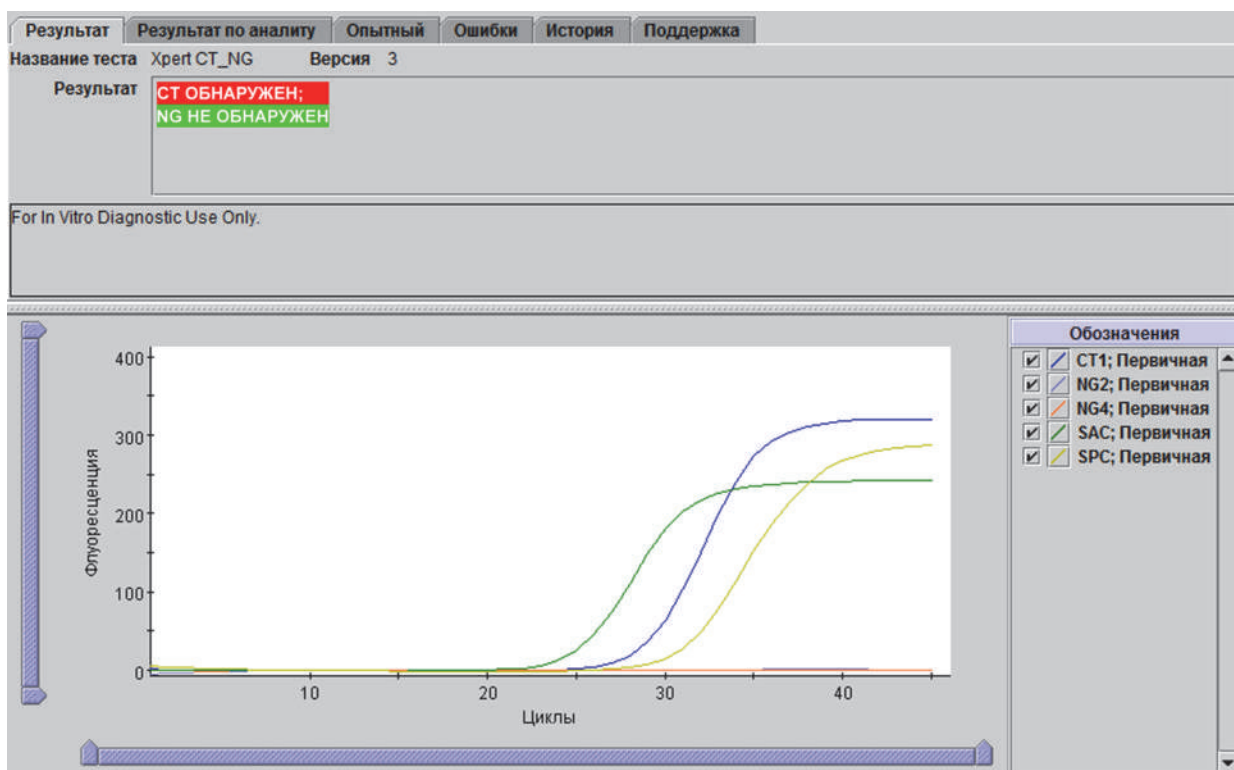


Рисунок 6. Результат теста CT-NG — CT ОБНАРУЖЕН и NG НЕ ОБНАРУЖЕН

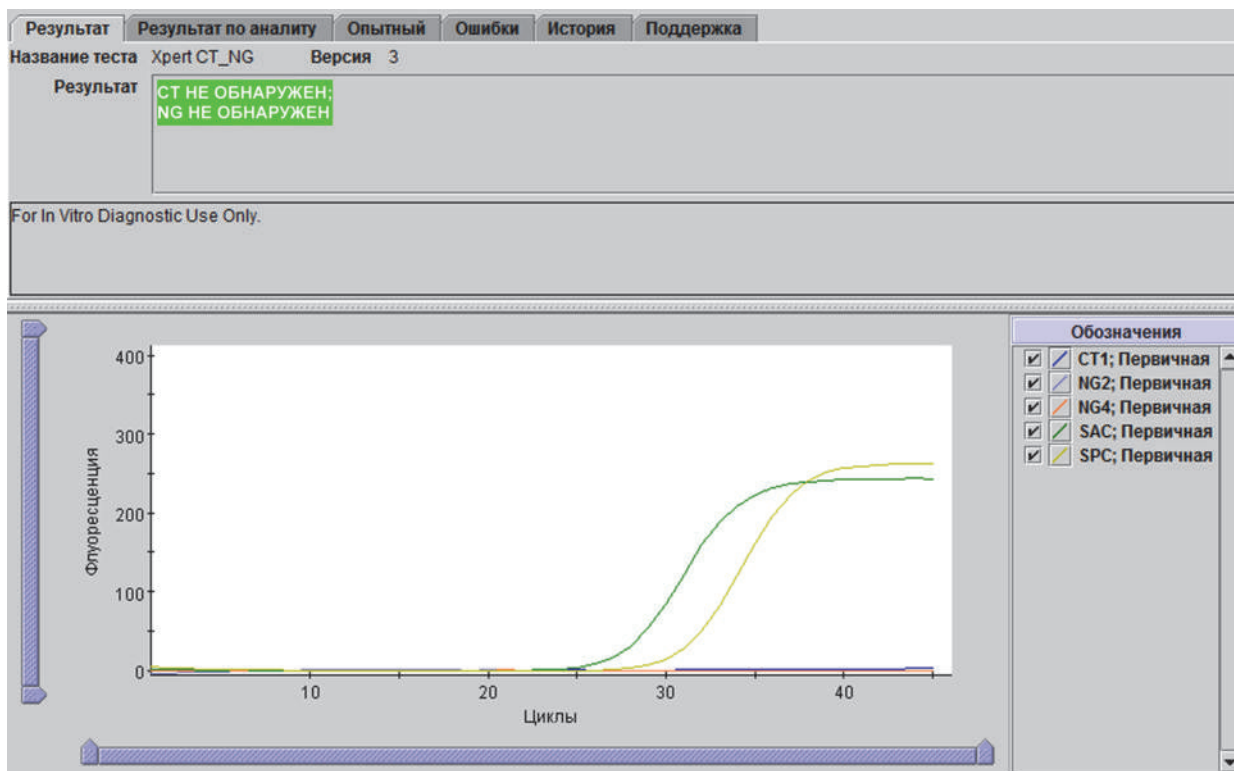


Рисунок 7. Результат теста CT-NG — CT НЕ ОБНАРУЖЕН и NG НЕ ОБНАРУЖЕН

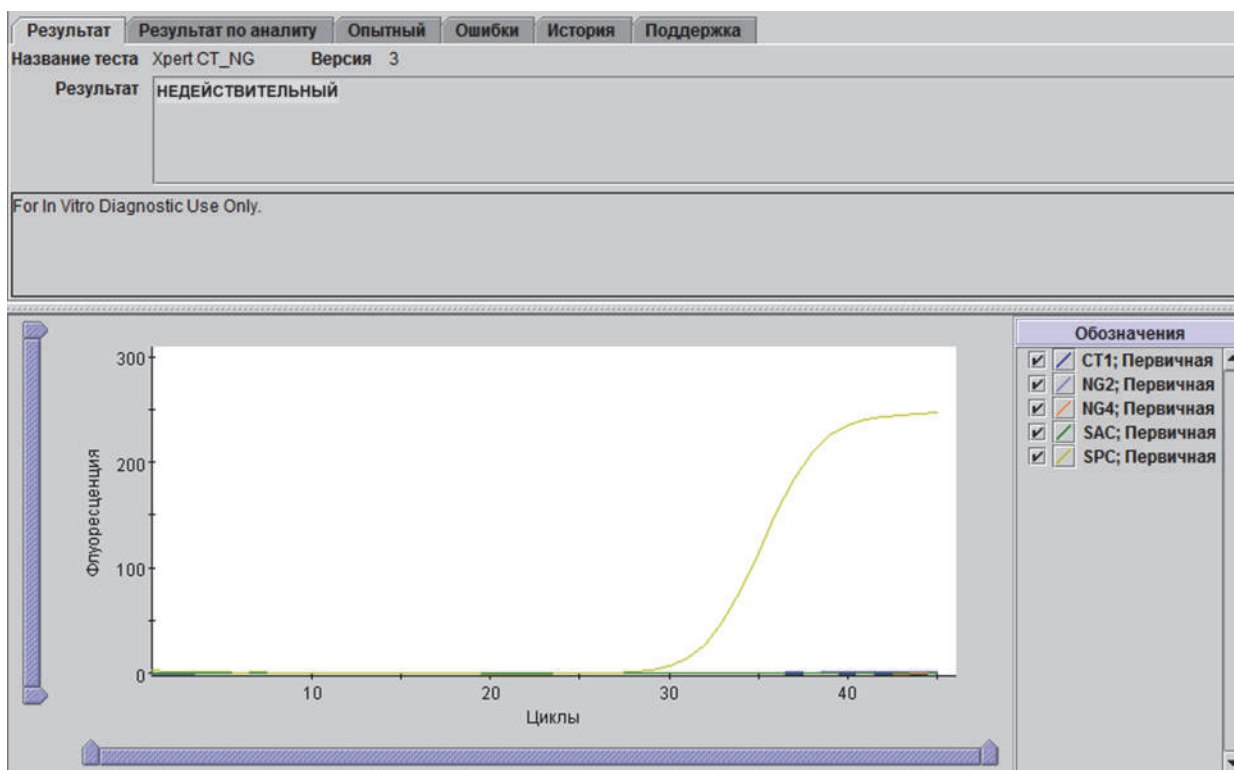


Рисунок 8. Результат теста CT-NG — НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ

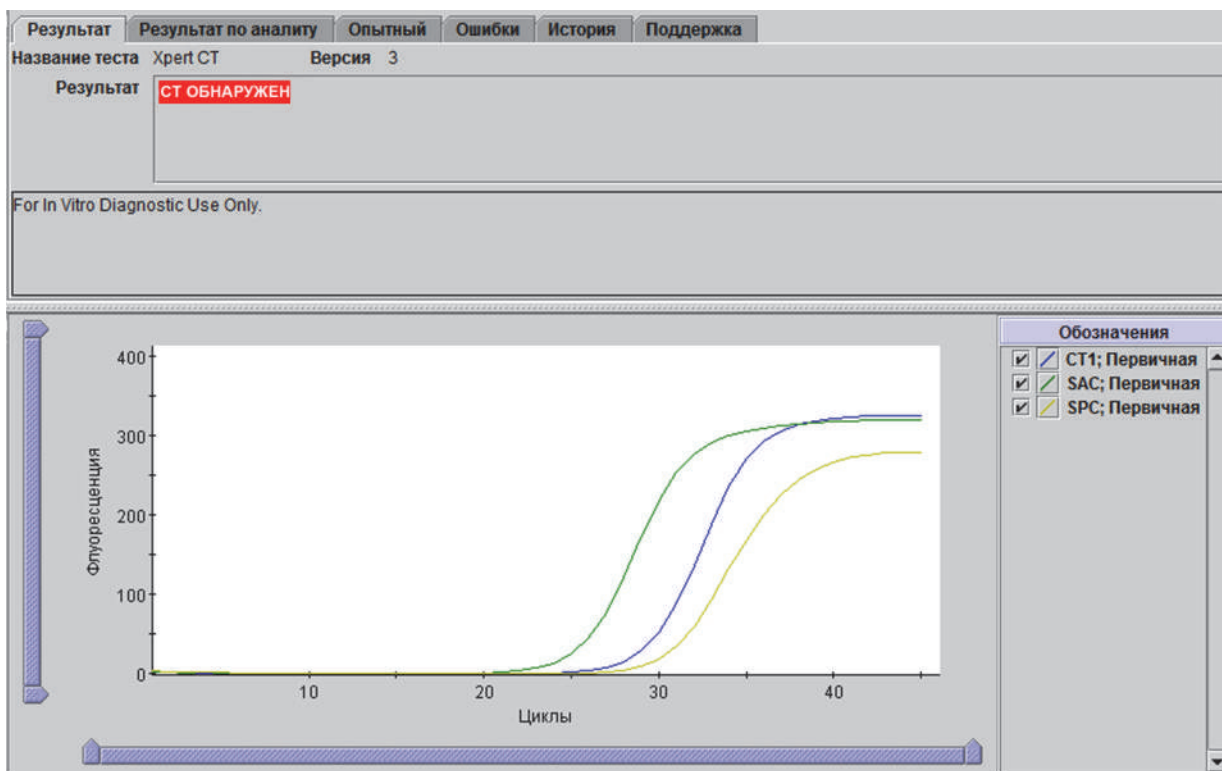


Рисунок 9. Результат теста СТ — СТ ОБНАРУЖЕН

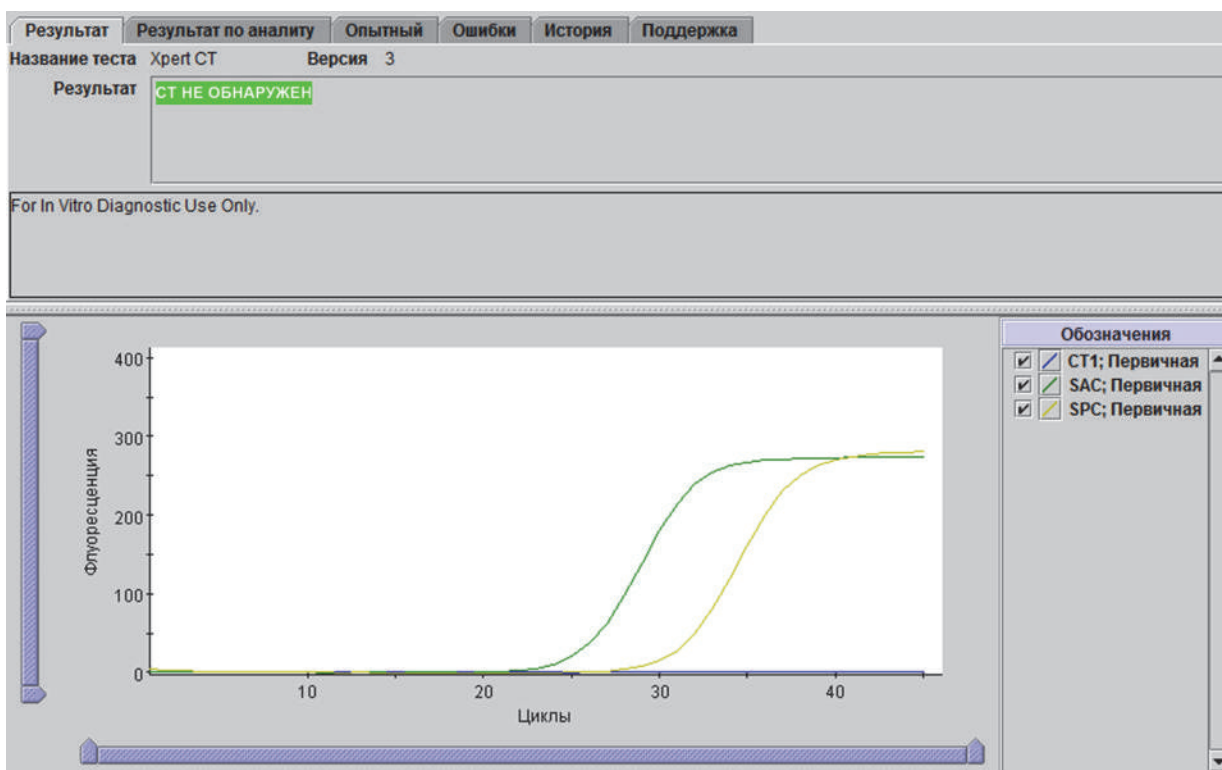


Рисунок 10. Результат теста СТ — СТ НЕ ОБНАРУЖЕН

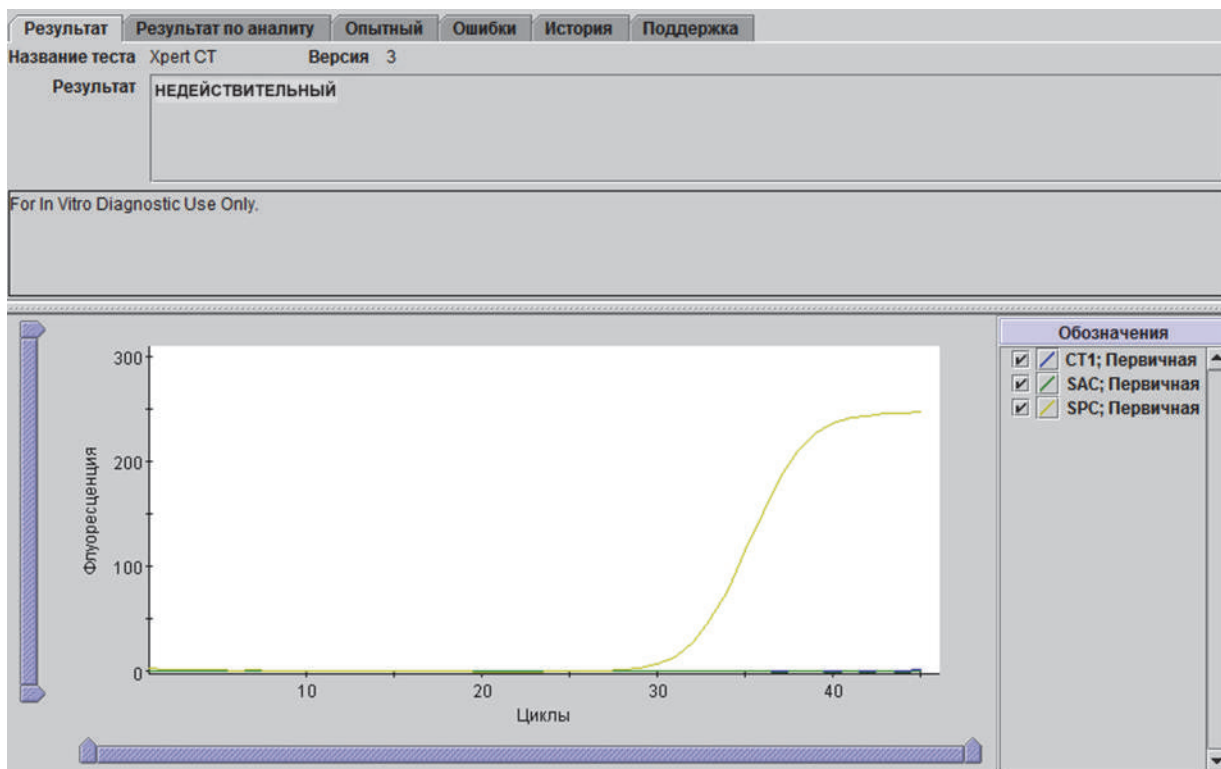


Рисунок 11. Результат теста CT — НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ

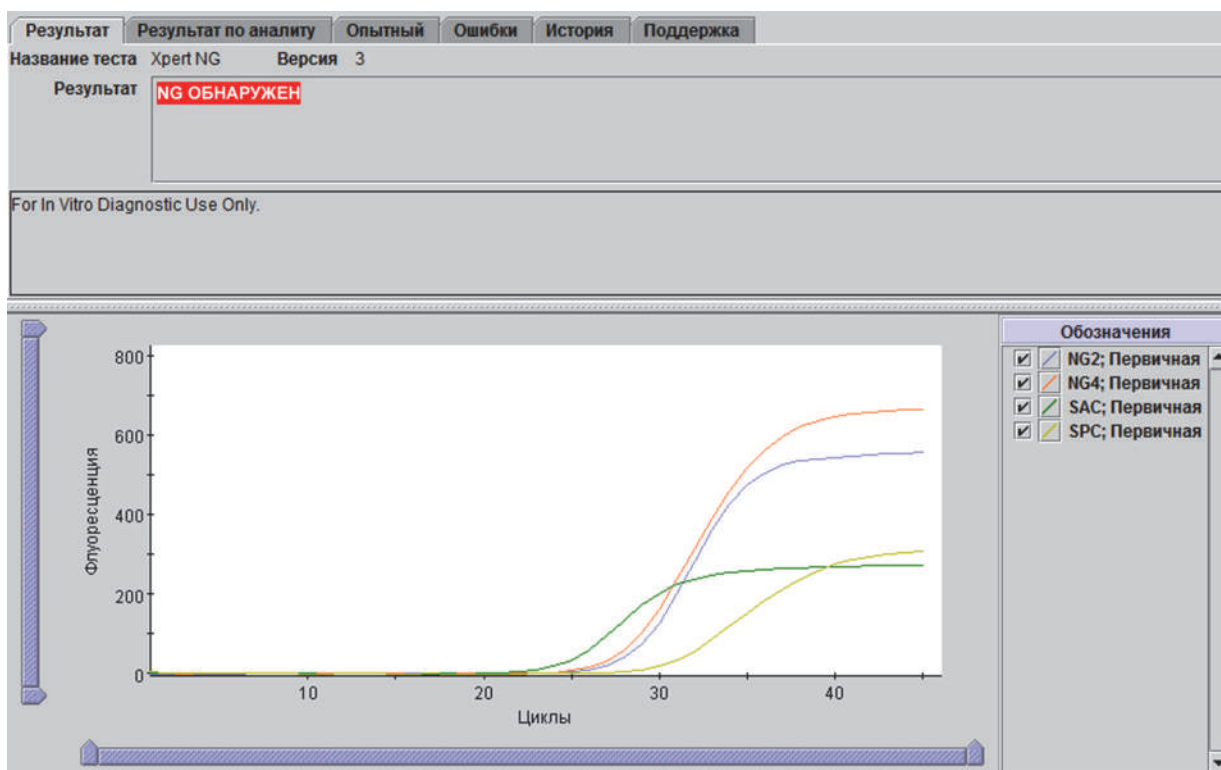


Рисунок 12. Результат теста NG — NG ОБНАРУЖЕН

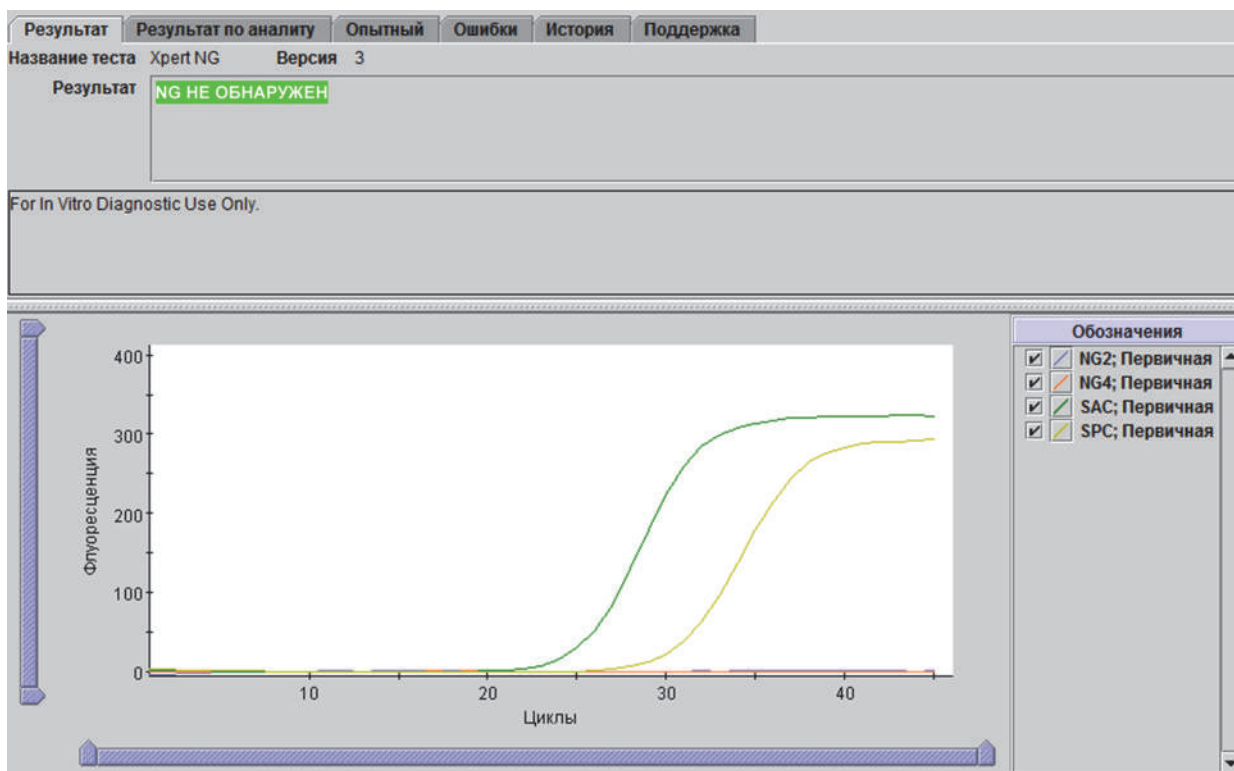


Рисунок 13. Результат теста NG — NG НЕ ОБНАРУЖЕН)

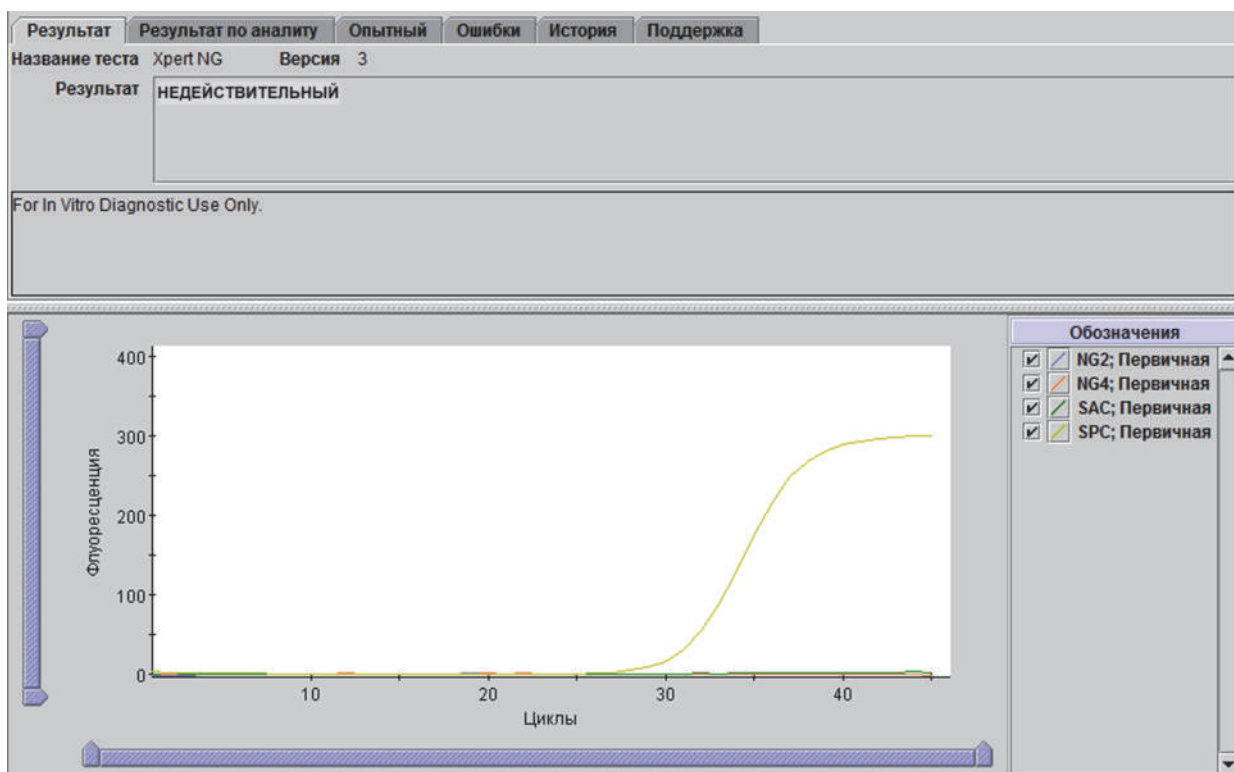


Рисунок 14. Результат теста NG — НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ

17 Причины повторного выполнения анализа

Образец подлежит повторному анализу, если при первом анализе получен любой из перечисленных ниже результатов. Повторите анализ согласно инструкциям, содержащимся в разд. 18, Процедура повторного анализа.

- Результат **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** означает, что не пройден контроль SPC и (или) SAC. Проба не была обработана надлежащим образом, имело место ингибирование ПЦР или проба не соответствовала требованиям.
- Результат **ОШИБКА (ERROR)** означает, что РСС не пройден и тест был прерван по следующим возможным причинам: ненадлежащим образом была заполнена реакционная пробирка, выявлено нарушение целостности зонда, превышены границы давления или обнаружена ошибка позиционирования клапана.
- Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если лаборант прервал текущий процесс анализа.

18 Процедура повторного анализа

Возьмите остаток пробы из пробирки с реактивом CT/NG для транспортировки мазков, пробирки с реактивом Хpert для транспортировки мазков, пробирки с реактивом CT/NG для транспортировки мочи или пробирки с реактивом для транспортировки мочи. Повторите анализ с новым картриджем. Если оставшийся объем обработанной пробы недостаточен, либо повторный анализ вновь выдает результаты **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)**, **ОШИБКА (ERROR)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)**, наберите новую пробу и повторите анализ с новым картриджем.

19 Ограничения

- Тест Хpert CT/NG валидирован только со следующими типами образцов, собранных в наборы компании Cepheid — Хpert CT/NG для вагинального/эндоцервикального образца, Хpert для вагинального/эндоцервикального образца, Хpert CT/NG для образца мочи или Хpert для образца мочи:
 - Эндоцервикальные мазки
 - Вагинальные мазки, полученные пациентками
 - Моча мужчин и женщин
- Ошибочные результаты анализа могут быть связаны с неправильным сбором образца, технической ошибкой, перепутыванием проб или количеством микроорганизмов в образце ниже порога обнаружения данного теста.
- Чтобы избежать получения ошибочных результатов, необходимо тщательно соблюдать инструкции, представленные в данном вкладыше-инструкции и прилагаемые к наборам для сбора мазков и мочи.
- Тест Хpert CT/NG был валидирован только с использованием процедур, рассматриваемых в данном вкладыше-инструкции. Внесение изменений в процедуры может нарушить функциональные характеристики теста.
- Так как обнаружение CT и NG зависит от присутствия в пробе ДНК, достоверность результатов зависит от правильности сбора пробы, обращения с ней и хранения.
- При использовании эндоцервикальных мазков, а также взятых пациентками вагинальных мазков может наблюдаться влияние следующих веществ на результаты теста: крови (>1 % по объему) или муцина (>0,8 % масса/объем).
- При использовании образцов мочи может наблюдаться влияние следующих веществ на результаты теста: крови (>0,3 % по объему), муцина (>0,2 % масса/объем), билирубина (>0,2 мг/мл), или женским порошком Vagisil (>0,2 % масса/объем).
- Сбор и исследование образцов мочи в тесте Хpert CT/NG не заменяет исследование шейки матки и взятие эндоцервикальных проб для диагностики инфекции мочеполового тракта. Другие инфекции мочеполового тракта могут быть вызваны другими возбудителями.
- Влияния других потенциальных вмешивающихся факторов, таких, как вагинальное отделяемое, использование тампонов, спринцеваний и факторов, связанных со сбором образца, не установлено.
- Отрицательные результаты анализа не исключают возможности инфекции, так как на результаты могут влиять неправильный сбор образца, техническая ошибка, неверная идентификация образцов, сопутствующая антибиотикотерапия или количество микроорганизмов в образце, находящееся ниже порога чувствительности данного теста.
- Не следует использовать тест Хpert CT/NG для оценки подозреваемого сексуального насилия или для других судебно-медицинских исследований. Рекомендуется дополнительное исследование в любых случаях, когда ложноположительные или ложноотрицательные результаты могут привести к нежелательным медицинским, социальным или психологическим последствиям.

- Тест Xpert CT/NG дает качественные результаты. Невозможно установить каких-либо корреляций между величиной Ct и количеством клеток в инфицированной пробе.
- Прогностическая значимость теста зависит от распространенности заболевания в той или иной популяции. Гипотетическая прогностическая значимость теста при обследовании различных популяций представлена в Табл. 3 — Табл. 6.
- Характеристики теста Xpert CT/NG не оценивались у пациентов в возрасте до 14 лет.
- Характеристики теста Xpert CT/NG не оценивались у пациенток с гистерэктомией в анамнезе.
- Вагинальные мазки, полученные пациентками, можно применять для скрининга женщин в тех случаях, когда нет других показаний к выполнению вагинального исследования.
- Тест Xpert CT/NG не валидирован с вагинальными мазками, полученными пациентками на дому. Сбор вагинальных мазков пациентками допускается только в медицинских учреждениях, где медицинские работники могут предоставить помощь и разъяснения о процедуре сбора и мерах предосторожности.
- Тест Xpert CT/NG не оценивали у пациентов, получающих антимикробные препараты, активные в отношении СТ или NG.
- Как при использовании других диагностических тестов, результаты теста Xpert CT/NG следует интерпретировать с учетом других лабораторных и клинических данных, имеющихся у врача.
- В результате мутаций или других изменений в областях бактериальных геномов, с которыми связаны праймеры и (или) зонды теста Xpert, целевые микроорганизмы могут не обнаруживаться.

20 Ожидаемые значения

Распространенность инфекции СТ и (или) NG в различных популяциях пациентов зависит от таких факторов риска, как возраст, пол, наличие и отсутствие симптомов, тип клиники и чувствительность теста, использованного для диагностики инфекции. При клинической оценке теста Xpert CT/NG наблюдаемая распространенность СТ у женщин и мужчин составила соответственно 5,4 % и 5,7 %. Наблюдаемая распространенность NG у женщин и мужчин составила соответственно 1,4 % и 3,5 %.

20.1 Прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов

Гипотетически рассчитанные показатели положительной прогностической значимости (positive predictive value, PPV) и отрицательной прогностической значимости (negative predictive value, NPV) теста Xpert CT/NG в зависимости от доли положительных образцов показаны ниже в Табл. 3 — Табл. 6. Эти расчеты основаны на гипотетических частотах положительных образцов и общих показателях чувствительности и специфичности (в сравнении со статусом инфицирования пациента) в многоцентровом клиническом исследовании теста Xpert CT/NG (Табл. 7 и Табл. 8).

Во взятых пациентками вагинальных мазках общая чувствительность и специфичность в отношении СТ составили соответственно 99,5 % и 99,1 % (Табл. 7). Общая чувствительность и специфичность в отношении NG составили соответственно 100 % и 99,9 % (Табл. 8). Табл. 3 показывает значения PPV и NPV для взятых пациентками образцов вагинальных мазков в зависимости от гипотетической доли положительных образцов.

Таблица 3. Гипотетические значения PPV и NPV — вагинальные мазки, полученные пациентками

Доля положительных образцов (%)	СТ				NG			
	Чувствительность (%)	Специфичность (%)	PPV (%)	NPV (%)	Чувствительность (%)	Специфичность (%)	PPV (%)	NPV (%)
1	99,5	99,1	53,6	100	100	99,9	92,6	100
2	99,5	99,1	70,0	100	100	99,9	96,2	100
5	99,5	99,1	85,8	100	100	99,9	98,5	100
10	99,5	99,1	92,7	99,9	100	99,9	99,3	100
15	99,5	99,1	95,3	99,9	100	99,9	99,5	100
20	99,5	99,1	96,6	99,9	100	99,9	99,7	100
25	99,5	99,1	97,4	99,8	100	99,9	99,8	100
30	99,5	99,1	98,0	99,8	100	99,9	99,8	100
50	99,5	99,1	99,1	99,5	100	99,9	99,9	100

В эндоцервикальных мазках общая чувствительность и специфичность в отношении СТ составили соответственно 96,0 % и 99,6 % (Табл. 7). Общая чувствительность и специфичность в отношении NG составили соответственно 100 % и >99,9 % (Табл. 8). Табл. 4 показывает значения PPV и NPV для взятых пациентками образцов эндоцервикальных мазков в зависимости от гипотетической доли положительных образцов.

Таблица 4. Гипотетические значения PPV и NPV — эндоцервикальные мазки

Доля положительных образцов (%)	СТ				NG			
	Чувствительность (%)	Специфичность (%)	PPV (%)	NPV (%)	Чувствительность (%)	Специфичность (%)	PPV (%)	NPV (%)
1	96,0	99,6	68,3	100	100	>99,9	97,4	100
2	96,0	99,6	81,3	99,9	100	>99,9	98,7	100
5	96,0	99,6	91,8	99,8	100	>99,9	99,5	100
10	96,0	99,6	96,0	99,6	100	>99,9	99,8	100
15	96,0	99,6	97,4	99,3	100	>99,9	99,8	100
20	96,0	99,6	98,2	99,0	100	>99,9	99,9	100
25	96,0	99,6	98,6	98,7	100	>99,9	99,9	100
30	96,0	99,6	98,9	98,3	100	>99,9	99,9	100
50	96,0	99,6	99,5	96,2	100	>99,9	100	100

В образцах мочи женщин общая чувствительность и специфичность в отношении СТ составили соответственно 98,1 % и 99,8 % (Табл. 7). Общая чувствительность и специфичность в отношении NG составили соответственно 94,4 % и >99,9 % (Табл. 8). Табл. 5 показывает значения PPV и NPV для взятых пациентками образцов мочи женщин в зависимости от гипотетической доли положительных образцов.

Таблица 5. Гипотетические значения PPV и NPV — моча женщин

Доля положительных образцов (%)	СТ				NG			
	Чувствительность (%)	Специфичность (%)	PPV (%)	NPV (%)	Чувствительность (%)	Специфичность (%)	PPV (%)	NPV (%)
1	98,1	99,8	85,5	100	94,4	>99,9	97,3	99,9
2	98,1	99,8	92,2	100	94,4	>99,9	98,6	99,9
5	98,1	99,8	96,8	99,9	94,4	>99,9	99,5	99,7
10	98,1	99,8	98,5	99,8	94,4	>99,9	99,7	99,4
15	98,1	99,8	99,0	99,7	94,4	>99,9	99,8	99,0
20	98,1	99,8	99,3	99,5	94,4	>99,9	99,9	98,6
25	98,1	99,8	99,5	99,4	94,4	>99,9	99,9	98,2
30	98,1	99,8	99,6	99,2	94,4	>99,9	99,9	97,7
50	98,1	99,8	99,8	98,1	94,4	>99,9	100	94,7

В образцах мочи мужчин общая чувствительность и специфичность в отношении СТ составили соответственно 98,5 % и 99,8 % (Табл. 7). Общая чувствительность и специфичность в отношении NG составили соответственно 98,3 % и 99,9 % (Табл. 8). Табл. 6 показывает значения PPV и NPV для взятых пациентками образцов мочи мужчин в зависимости от гипотетической доли положительных образцов.

Таблица 6. Гипотетические значения PPV и NPV — моча мужчин

Доля положительных образцов (%)	СТ				NG			
	Чувствительность (%)	Специфичность (%)	PPV (%)	NPV (%)	Чувствительность (%)	Специфичность (%)	PPV (%)	NPV (%)
1	98,5	99,8	82,2	100	98,3	99,9	91,7	100
2	98,5	99,8	90,3	100	98,3	99,9	95,7	100
5	98,5	99,8	96,0	99,9	98,3	99,9	98,3	99,9
10	98,5	99,8	98,1	99,8	98,3	99,9	99,2	99,8
15	98,5	99,8	98,8	99,7	98,3	99,9	99,5	99,7
20	98,5	99,8	99,1	99,6	98,3	99,9	99,6	99,6
25	98,5	99,8	99,3	99,5	98,3	99,9	99,7	99,4
30	98,5	99,8	99,5	99,3	98,3	99,9	99,8	99,3
50	98,5	99,8	99,8	98,5	98,3	99,9	99,9	98,3

21 Функциональные характеристики

21.1 Клинические функциональные характеристики

Функциональные характеристики теста Xpert CT/NG устанавливали в многоцентровом проспективном исследовании с участием 36 учреждений в США и Соединенном Королевстве путем сравнения результатов теста Xpert CT/NG с алгоритмом определения статуса инфицирования пациента на основании сочетания результатов двух имеющихся на рынке анализов амплификации нуклеиновых кислот (NAAT).

В исследование включали сексуально активных мужчин и женщин (в том числе беременных), которые дали согласие на участие, имели или не имели симптомы инфекции, наблюдались в следующих учреждениях (список не исчерпывающий): клиники акушерства и гинекологии, клиники лечения заболеваний, передающихся половым путем, клиники для подростков, муниципальные учреждения здравоохранения и центры планирования семьи. Средний возраст женщин-участниц исследования составлял 30,3 года (от 14 до 83 лет); средний возраст мужчин-участников исследования составлял 37,7 года (от 17 до 74 лет).

В исследовании использовали собираемые проспективно образцы мочи мужчин и женщин, мазки из шеечного канала и уретры, а также взятые пациентками (в условиях медицинского учреждения) вагинальные мазки.

Женщину-участницу исследования относили к категории инфицированных (infected, I) в соответствии со статусом инфицирования СТ или NG при наличии не менее одного положительного результата каждого из референсных анализов NAAT. Если два анализа NAAT дали сомнительные результаты исследования обоих типов проб (мазка и мочи), статус инфицирования был определен как сомнительный (equivocal, EQ). Это был единственный сценарий для общей оценки сомнительности статуса инфицирования. Ни один из участников этого исследования не был причислен к этой категории. Женщины-участницы исследования, имевшие положительные результаты исследования обоих референсных образцов мочи и отрицательные результаты обоих референсных мазков были причислены к категории инфицированных (I) по образцам мочи и неинфицированных (NI) по мазкам. Любое другое сочетание результатов попадало в категорию неинфицированных (NI).

Мужчину-участника исследования относили к категории инфицированных (I) в соответствии со статусом инфицирования СТ или NG при наличии не менее одного положительного результата каждого из референсных анализов NAAT. Если два анализа NAAT дали сомнительные результаты исследования обоих типов проб (мазка и мочи), статус инфицирования был определен как сомнительный (equivocal, EQ). Это был единственный сценарий для общей оценки сомнительности статуса инфицирования. Ни один из участников этого исследования не был причислен к этой категории. Любое другое сочетание результатов попадало в категорию неинфицированных (NI).

Функциональные характеристики теста Xpert CT/NG рассчитывали относительно статуса инфицирования пациента для каждого из трех типов образцов у женщин (эндоцервикальные мазки, полученные пациентками вагинальные мазки и моча) и для мочи у мужчин.

При клинической оценке теста Хpert CT/NG инфекция СТ была установлена у 212 женщин. Симптомы зарегистрированы у 41,0 % (87/212) инфицированных и 34,1 % (1221/3579) неинфицированных женщин. Инфекция NG была установлена у 54 женщин. Симптомы зарегистрированы у 53,7 % (29/54) инфицированных и 34,1 % (1273/3729) неинфицированных женщин. Инфекция СТ была установлена у 196 мужчин. Симптомы зарегистрированы у 62,8 % (123/196) инфицированных и 18,0 % (584/3248) неинфицированных мужчин. Инфекция NG была установлена у 119 мужчин. Симптомы зарегистрированы у 89,1 % (106/119) инфицированных и 18,1 % (601/3325) неинфицированных мужчин.

По результатам 14790 выполненных исследований потребовалось повторное исследование 416 случаев из-за результатов **ОШИБКА (ERROR)**, **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** (2,81 %, 95 % ДИ 2,56–3,09). При повторном анализе для 355 из этих образцов получены действительные результаты (18 образцов повторно не исследовали). Общая частота получения действительных результатов теста составила 99,6 % (14729/14790).

21.2 Результаты определения *Chlamydia trachomatis*

Результаты, полученные с использованием теста Хpert CT/NG, сравнивали со статусом инфицирования пациента для определения чувствительности, специфичности и прогностической ценности. Чувствительность и специфичность в отношении СТ в зависимости от пола, типа образца и наличия или отсутствия симптомов представлены в Табл. 7.

Таблица 7. Обнаружение СТ в тесте Хpert CT/NG по сравнению со статусом инфицирования пациента

Образец	Статус Sx	n	ИП	ЛП	ИО	ЛО	Предш. (%)	Чувствительность (%) (95 % ДИ)	Специфичность (%) (95 % ДИ)	PPV% (95 % ДИ)	NPV% (95 % ДИ)
Женщины	ВП-ВМ	Симпт.	1294	79	20	1195	0	6,1 (95,4-100)	100 (97,5-99,0)	79,8 (70,5-87,2)	100 (99,7-100)
		Бессимпт.	2472	121	11	2339	1	4,9 (95,5-100)	99,2 (99,2-99,8)	91,7 (85,6-95,8)	>99,9 (99,8-100)
		Полностью	3766	200	31	3534	1	5,3 (97,3-100)	99,5 (98,8-99,4)	86,6 (81,5-90,7)	>99,9 (99,8-100)
	ЭМ	Симпт.	1293	76	5	1209	3	6,1 (89,3-99,2)	99,6 (99,0-99,9)	93,8 (86,2-98,0)	99,8 (99,3-99,9)
		Бессимпт.	2464	117	11	2331	5	5,0 (90,7-98,7)	99,5 (99,2-99,8)	91,4 (85,1-95,6)	99,8 (99,5-99,9)
		Полностью	3757	193	16	3540	8	5,4 (92,3-98,3)	99,6 (99,3-99,7)	92,3 (87,9-95,6)	99,8 (99,6-99,9)
	Моча	Симпт.	1292	84	4	1203	1	6,6 (93,6-100)	99,7 (99,2-99,9)	95,5 (88,8-98,7)	99,9 (99,5-100)
		Бессимпт.	2475	123	2	2347	3	5,1 (93,2-99,5)	99,9 (99,7-100)	98,4 (94,3-99,8)	99,9 (99,6-100)
		Полностью	3767	207	6	3550	4	5,6 (95,2-99,5)	99,8 (99,6-99,9)	97,2 (94,0-99,0)	99,9 (99,7-100)
Мужчины	Моча	Симпт.	706	120	2	581	3	17,4 (93,0-99,5)	97,6 (98,8-100)	98,4 (94,2-99,8)	99,5 (98,5-99,9)
		Бессимпт.	2730	73	5	2652	0	2,7 (95,1-100)	100,0 (99,6-99,9)	93,6 (85,7-97,9)	100 (99,9-100)
		Полностью	3436	193	7	3233	3	5,7 (95,6-99,7)	99,8 (99,6-99,9)	96,5 (92,9-98,6)	99,9 (99,7-100)

ИП = истинно положительный, ЛП = ложно-положительный, ИО = истинно отрицательный, ЛО = ложно-отрицательный, ЭМ = эндоцервикальный мазок, ВП-ВМ = взятый пациенткой вагинальный мазок

21.3 Результаты определения *Neisseria gonorrhoeae*

Результаты, полученные с использованием теста Xpert CT/NG, сравнивали со статусом инфицирования пациента для определения чувствительности, специфичности и прогностической ценности. Чувствительность и специфичность в отношении NG в зависимости от пола, типа образца и наличия или отсутствия симптомов представлены в Табл. 8.

Таблица 8. Обнаружение NG в тесте Xpert CT/NG по сравнению со статусом инфицирования пациента

Образец		Статус Sx	n	ИП	ЛП	ИО	ЛО	Предш. (%)	Чувствитель- ность (%) (95 ДИ)	Специфич- ность (%) (95 ДИ)	PPV% (95 ДИ)	NPV% (95 ДИ)	
Ж е н щ и н ы	ВП-ВМ	Симпт.	1294	27	2	1265	0	2,1	100 (87,2-100)	99,8 (99,4-100)	93,1 (77,2-99,2)	100 (99,7-100)	
		Бессимпт.	2472	25	1	2446	0	1,0	100 (86,3-100)	>99,9 (99,8-100)	96,2 (80,4-99,9)	100 (99,8-100)	
		Полно- стью	3766	52	3	3711	0	1,4	100 (93,2-100)	99,9 (99,8-100)	94,5 (84,9-98,9)	100 (99,9-100)	
	ЭМ	Симпт.	1293	27	1	1265	0	2,1	100 (87,2-100)	99,9 (99,6-100)	96,4 (81,7-99,9)	100 (99,7-100)	
		Бессимпт.	2464	25	0	2439	0	1,0	100 (86,3-100)	100 (99,8-100)	100 (86,3-100)	100 (99,8-100)	
		Полно- стью	3757	52	1	3704	0	1,4	100 (93,2-100)	>99,9 (99,8-100)	98,1 (89,9-100)	100 (99,9-100)	
	Моча	Симпт.	1292	28	0	1263	1	2,2	96,6 (82,2-99,9)	100 (99,7-100)	100 (87,7-100)	99,9 (99,6-100)	
		Бессимпт.	2475	23	1	2449	2	1,0	92,0 (74,0-99,0)	>99,9 (99,8-100)	95,8 (78,9-99,9)	99,9 (99,7-100)	
		Полно- стью	3767	51	1	3712	3	1,4	94,4 (84,6-98,8)	>99,9 (99,9-100)	98,1 (89,7-100)	99,9 (99,8-100)	
	М у ж ч и н ы	Моча	Симпт.	706	105	0	600	1	15,0	99,1 (94,9-100)	100 (99,4-100)	100 (96,5-100)	99,8 (99,1-100)
			Бессимпт.	2730	12	3	2714	1	0,5	92,3 (64,0-99,8)	99,9 (99,7-100)	80,0 (51,9-95,7)	>99,9 (99,8-100)
Полно- стью			3436	117	3	3314	2	3,5	98,3 (94,1-99,8)	99,9 (99,7-100)	97,5 (92,9-99,5)	99,9 (99,8-100)	

21.4 Плотность распределения значений порога цикла (Ct)

Вагинальные мазки, взятые пациентками, мазки из эндоцервикального канала и образцы мочи были взяты у 3781 женщин, и образцы мочи были взяты у 3444 мужчин в 36 центрах сбора образцов в США и Соединенном Королевстве. Инфекция СТ была установлена у 212 женщин и 196 мужчин, инфекция NG была установлена у 54 женщин и 119 мужчин. Плотность распределения положительных результатов теста Хpert CT/NG у СТ- и NG-инфицированных участников исследования показана соответственно на Рисунок 15 и Рисунок 16.

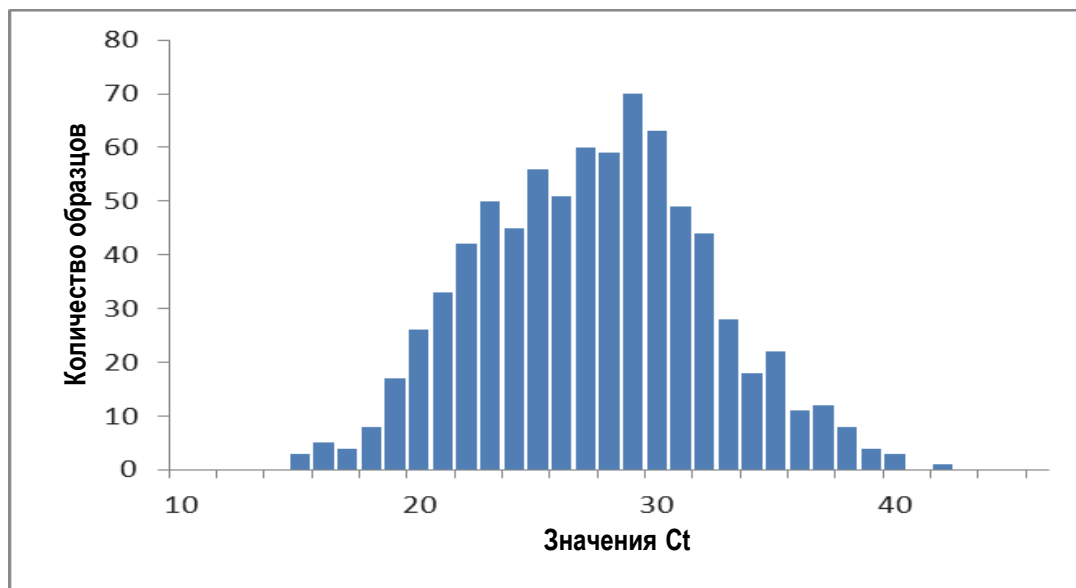


Рисунок 15. Распределение значений Ct для пациенток, положительных на СТ согласно алгоритму определения статуса инфицирования пациента

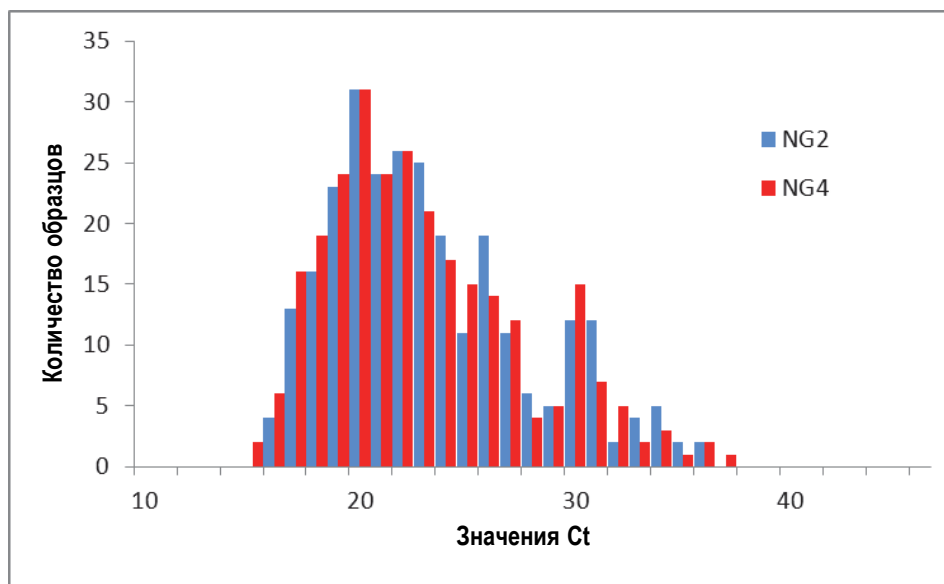


Рисунок 16. Распределение значений Ct для NG-положительных пациенток на основании алгоритма определения статуса инфицирования пациента

Табл. 9 показывает число результатов, полученных у женщин с симптомами и без симптомов инфекции, отнесенных к категории инфицированных или неинфицированных по алгоритму определения статуса инфицирования СТ. Табл. 9

Таблица 9. Статус инфицирования пациента — СТ у женщин

СИП ^а	NAAT1		NAAT2		Xpert			Статус симптомов		Всего
	Мз ^а	Мч ^а	Мз	Мч	ВП-ВМ ^а	ЭМ ^а	Мч	Симпт.	Бессимпт.	
NI ^б	-	-	-	-	-	-	-	1160	2269	3429
NI	-	-	-	-	НЕОПР	-	-	6	8	14
NI	-	-	-	-	-	НЕОПР ^в	-	6	16	22
NI	-	-	-	-	-	-	НЕОПР	5	6	11
NI	-	-	-	-	+	+	-	0	1	1
NI	-	-	-	-	+	-	-	6	4	10
NI	-	-	-	-	-	+	-	3	5	8
NI	-	-	-	-	-	-	+	1	0	1
NI	-	-	-	EQ ^г	-	-	-	6	20	26
NI	-	-	-	EQ	НЕОПР	НЕОПР	-	1	0	1
NI	-	-	EQ	-	-	-	-	3	4	7
NI	-	-	EQ	-	-	-	НЕОПР	1	0	1
NI	-	-	-	+	-	-	-	0	7	7
NI	-	-	+	-	-	-	-	3	0	3
NI	-	-	+	-	-	+	-	0	1	1
NI ^е	-	+	-	+	+	-	+	7	1	8
NI ^е	-	+	-	+	+	-	-	0	1	1
NI ^е	-	+	-	+	-	-	+	0	1	1
NI	-	+	-	-	-	-	-	1	0	1
NI	-	+	-	-	+	-	+	1	0	1
NI	+	-	-	-	-	-	-	4	8	12
NI	+	-	-	-	+	-	-	2	1	3
NI	+	-	-	-	+	+	-	1	2	3
NI	+	-	-	-	-	+	-	0	1	1
NI	+	+	-	-	-	-	-	1	0	1
NI	+	+	-	-	-	-	+	0	1	1
NI	+	+	-	-	+	+	+	1	1	2
NI	+	+	-	-	+	-	+	1	0	1
NI	+	+	-	-	+	-	-	1	0	1
Всего неинфицированных								1221	2358	3579

Таблица 9. Статус инфицирования пациента — СТ у женщин (продолжение)

СИП ^а	NAAT1		NAAT2		Хpert			Статус симптомов		Всего
	Мз ^а	Мч ^а	Мз	Мч	ВП-ВМ ^а	ЭМ ^а	Мч	Симпт.	Бессимпт.	
I ^д	+	+	+	+	+	+	+	65	104	169
I	+	+	+	+	НЕОПР	+	+	0	1	1
I	+	+	+	+	+	НЕОПР	+	0	1	1
I	+	+	+	+	+	+	НЕОПР	1	0	1
I	+	+	+	+	-	+	+	0	1	1
I	+	+	+	+	+	-	+	0	1	1
I ^е	-	+	-	+	+	-	+	7	1	8
I ^е	-	+	-	+	+	-	-	0	1	1
I ^е	-	+	-	+	-	-	+	0	1	1
I	-	+	+	+	+	+	+	0	2	2
I	+	-	+	+	+	+	+	1	0	1
I	+	-	+	+	+	-	+	0	1	1
I	+	-	+	+	+	+	+	1	0	1
I	+	+	-	+	+	-	+	3	2	5
I	+	+	-	+	+	+	+	4	2	6
I	+	+	+	-	+	+	+	3	4	7
I	+	+	+	-	+	+	-	1	1	2
I	+	+	+	-	+	-	+	0	1	1
I	+	-	+	-	+	+	+	1	0	1
I	+	-	EQ	+	+	+	+	0	1	1
Всего инфицированных								87	125	212

- а. СИП — статус инфицирования пациента; Мз — мазок, Мч — моча; ВП-ВМ — взятый пациенткой вагинальный мазок; ЭМ — эндоцервикальный мазок
- б. NI — неинфицированный
- в. НЕОПР — неопределенный: **ОШИБКА (ERROR)**, **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** по тесту Хpert CT/NG; образцы с результатом НЕОПР в тесте Хpert не включены в таблицы характеристик для данного типа образца.
- г. EQ — сомнительный результат только для данного отдельного типа образца; статус инфицирования пациента определен на основании остальных образцов.
- д. I — инфицированный
- е. Эти пробы определены как инфицированные по моче и неинфицированные по мазкам. В этой таблице они приведены дважды.

Табл. 10 показывает число результатов, полученных у женщин с симптомами и без симптомов инфекции, отнесенных к категории инфицированных или неинфицированных по алгоритму определения статуса инфицирования NG.

Таблица 10. Статус инфицирования пациента — NG у женщин

СИП ^а	NAAT1		NAAT2		Xpert			Статус симптомов		Всего
	Мз ^а	Мч ^а	Мз	Мч	ВП-ВМ ^а	ЭМ ^а	Мч	Симпт.	Бессимпт.	
NI ^б	-	-	-	-	-	-	-	1229	2390	3619
NI	-	-	-	-	НЕОПР ^в	-	-	6	9	15
NI	-	-	-	-	-	НЕОПР	-	6	17	23
NI	-	-	-	-	-	-	НЕОПР	6	6	12
NI	-	-	-	-	+	-	+	0	1	1
NI	-	-	-	-	+	-	-	1	0	1
NI	-	-	EQ ^г	-	-	-	-	2	5	7
NI	-	-	-	EQ	-	-	-	9	20	29
NI	-	-	-	+	-	-	-	1	3	4
NI	-	-	+	-	-	-	-	7	4	11
NI ^д	-	+	-	+	+	+	+	1	0	1
NI ^д	-	+	-	+	-	-	+	1	0	1
NI	-	-	+	+	-	-	-	1	0	1
NI	+	-	-	-	-	-	-	1	1	2
NI	-	-	EQ	-	-	-	НЕОПР	1	0	1
NI	-	-	-	EQ	-	НЕОПР	НЕОПР	1	0	1
Всего неинфицированных								1273	2456	3729
I ^е	+	+	+	+	+	+	+	19	19	38
I	+	+	+	-	+	+	+	2	2	4
I	+	-	+	+	+	+	+	1	1	2
I ^д	-	+	-	+	+	+	+	1	0	1
I ^д	-	+	-	+	-	-	+	1	0	1
I	+	-	+	-	+	+	-	1	2	3
I	+	-	+	-	+	+	+	1	0	1
I	+	+	-	+	+	+	+	1	0	1
I	+	+	+	EQ	+	+	+	0	1	1
I	+	+	EQ	+	+	+	+	1	0	1
I	+	EQ	+	-	+	+	+	1	0	1
Всего инфицированных								29	25	54

- а. СИП — статус инфицирования пациента; Мз — мазок, Мч — моча; ВП-ВМ — взятый пациенткой вагинальный мазок; ЭМ — эндоцервикальный мазок
- б. NI — неинфицированный
- в. НЕОПР — неопределенный: **ОШИБКА (ERROR)**, **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** по тесту Xpert CT/NG; образцы с результатом НЕОПР в тесте Xpert не включены в таблицы характеристик для данного типа образца.
- г. EQ — сомнительный результат только для данного отдельного типа образца; статус инфицирования пациента определен на основании остальных образцов.
- д. Эти пробы определены как инфицированные по моче и неинфицированные по мазкам. В этой таблице они приведены дважды.
- е. I — инфицированный

Табл. 11 показывает число результатов, полученных у мужчин с симптомами и без симптомов инфекции, отнесенных к категории инфицированных или неинфицированных по алгоритму определения статуса инфицирования СТ.

Таблица 11. Статус инфицирования пациента — СТ у мужчин

СИП ^а	NAAT1		NAAT2		GX	Статус симптомов		Всего
	Мз ^а	Мч ^а	Мз	Мч	Мч	Симпт.	Бессимпт.	
NI ^б	-	-	-	-	-	568	2621	3189
NI	-	-	-	EQ ^в	-	0	19	19
NI	-	-	+	-	-	2	1	3
NI	+	-	-	-	-	6	1	7
NI	+	+	-	-	-	1	1	2
NI	-	-	-	+	-	2	7	9
NI	-	+	-	-	-	2	1	3
NI	-	-	EQ	-	-	0	1	1
NI	+	+	-	-	+	2	4	6
NI	-	-	-	-	+	0	1	1
NI	-	-	-	-	НЕОПР ^г	1	6	7
NI	-	-	-	EQ	НЕОПР	0	1	1
Всего неинфицированных						584	2664	3248
I ^д	+	+	+	+	+	104	50	154
I	+	+	-	+	+	8	10	18
I	-	+	-	+	+	4	7	11
I	+	+	+	-	+	2	2	4
I	+	-	+	-	+	1	0	1
I	+	-	-	+	+	1	0	1
I	-	+	+	+	+	0	1	1
I	+	+	+	EQ	+	0	2	2
I	EQ	+	-	+	+	0	1	1
I	+	-	+	-	-	2	0	2
I	+	+	+	-	-	1	0	1
Всего инфицированных						123	73	196

а. СИП — статус инфицирования пациента; Мз — мазок, Мч — моча.

б. NI — неинфицированный

в. EQ — сомнительный результат только для данного отдельного типа образца; статус инфицирования пациента определен на основании остальных образцов.

г. НЕОПР — неопределенный: **ОШИБКА (ERROR)**, **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** по тесту Хpert CT/NG; образцы с результатом НЕОПР в тесте Хpert не включены в таблицы характеристик для данного типа образца.

д. I — инфицированный

Табл. 12 показывает число результатов, полученных у мужчин с симптомами и без симптомов инфекции, отнесенных к категории инфицированных или неинфицированных по алгоритму определения статуса инфицирования NG.

Таблица 12. Статус инфицирования пациента — NG у мужчин

СИП ^а	NAAT1		NAAT2		GX	Статус симптомов		Всего
	Мз ^а	Мч ^а	Мз	Мч	Мч	Симпт.	Бессимпт.	
NI ^б	-	-	-	-	-	597	2680	3277
NI	-	-	-	EQ ^в	-	0	21	21
NI	-	-	EQ	-	-	0	1	1
NI	EQ	EQ	-	-	-	1	0	1
NI	-	-	+	-	-	0	3	3
NI	-	-	-	+	-	0	3	3
NI	-	+	-	-	-	0	1	1
NI	+	-	-	-	-	2	5	7
NI	-	EQ	-	-	+	0	1	1
NI	EQ	-	+	-	+	0	1	1
NI	-	-	-	-	+	0	1	1
NI	-	-	-	-	НЕОПР ^г	1	6	7
NI	-	-	-	EQ	НЕОПР	0	1	1
Всего неинфицированных						601	2724	3325
I ^д	+	+	+	+	+	105	11	116
I	+	+	+	-	+	0	1	1
I	+	-	+	-	-	0	1	1
I	+	-	-	+	-	1	0	1
Всего инфицированных						106	13	119

а. СИП — статус инфицирования пациента; Мз — мазок, Мч — моча.

б. NI — неинфицированный

в. EQ — сомнительный результат только для данного отдельного типа образца; статус инфицирования пациента определен на основании остальных образцов.

г. НЕОПР — неопределенный: **ОШИБКА (ERROR)**, **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** по тесту Xpert CT/NG; образцы с результатом НЕОПР в тесте Xpert не включены в таблицы характеристик для данного типа образца.

д. I — инфицированный

22 Аналитические функциональные характеристики

22.1 Аналитическая чувствительность (предел обнаружения)

Аналитический предел обнаружения (LoD) теста Xpert CT/NG устанавливался в исследованиях с использованием очищенных элементарных телец CT, внесенных в объединенный образец отрицательных естественных влагалищных мазков человека и объединенный образец отрицательной мочи мужчин, а также клеток NG, внесенных в объединенный модельный образец отрицательного мазка и объединенный образец мочи мужчин.

Объединенный образец влагалищных мазков

Элементарные тельца двух серотипов CT, ATCC vr885 серотип D и ATCC vr879 серотип H, были очищены центрифугированием через слой 30 % сахарозы и титрованы подсчетом элементарных телец методом трансмиссионной электронной микроскопии. Каждый серотип был разбавлен объединенным отрицательным образцом вагинального мазка и исследован в тесте Xpert CT/NG. По 20 повторов были исследованы в восьми концентрациях CT серотипа D и в семи концентрациях CT серотипа H, после чего пределы обнаружения были определены пробит-анализом. Заявленные значения предела обнаружения были подтверждены путем анализа не менее 20 повторов проб с элементарными тельцами, разбавленными до концентраций, соответствующих предполагаемой аналитической чувствительности. В данном исследовании заявленный предел обнаружения определялся как самая низкая концентрация, при которой 95 % результатов из не менее чем 20 повторов являются положительными.

Заявленный предел обнаружения очищенных элементарных телец (ЭТ) CT серотипа D в образцах вагинального мазка составил 84 ЭТ/мл. Заявленный предел обнаружения очищенных элементарных телец (ЭТ) CT серотипа H в образцах вагинального мазка составил 161 ЭТ/мл (Табл. 13). В этом исследовании были получены следующие значения предела обнаружения для остальных очищенных серотипов CT (в ЭТ/мл): A (600), B (6), Ba (1900), C (34), E (6), F (202), G (96), I (21), J (150), K (117), LGV I (31), LGV II (20) и LGV III (210) ЭТ/мл.

Таблица 13. Пределы обнаружения двух серотипов CT в объединенном образце влагалищных мазков

Микроорганизм	LoD
CT ATCC vr885 серотип D (ЭТ/мл)	84
CT ATCC vr879 серотип H (ЭТ/мл)	161

Были исследованы два штамма NG (ATCC 19424 и ATCC 49226). Шесть различных концентраций анализировались каждая в 20 повторах. Предел обнаружения рассчитывали при помощи пробит-анализа.

Определенный пробит-анализом LoD для NG равен 1,5–1,6 КОЕ/мл в модельном материале мазка (Табл. 14). Еще 30 штаммов NG были исследованы в модельном материале, и LoD подтверждали трехкратным исследованием в LoD или при близких концентрациях.

Таблица 14. Пределы обнаружения двух штаммов NG в объединенном образце влагалищных мазков

Микроорганизм	LoD
NG ATCC19424 (КОЕ/мл)	1,5
NG ATCC49226 (КОЕ/мл)	1,6

Объединенный образец мочи мужчин

Каждый из очищенных и титрованных препаратов элементарных телец двух серотипов СТ (ATCC vt885 серотип D и ATCC vt879 серотип H) был испытан в объединенном образце отрицательной мочи мужчин. По 20 повторов были исследованы в восьми концентрациях СТ серотипа D и в семи концентрациях СТ серотипа H, после чего пределы обнаружения были определены пробит-анализом. Заявленные значения предела обнаружения были подтверждены путем анализа не менее 20 повторов проб с элементарными тельцами, разбавленными до концентраций, соответствующих предполагаемой аналитической чувствительности. В данном исследовании заявленный предел обнаружения определялся как самая низкая концентрация, при которой 95 % результатов из не менее чем 20 повторов являются положительными.

Заявленный предел обнаружения очищенных элементарных телец (ЭТ) СТ серотипа D в образцах мочи мужчин составил 75 ЭТ/мл. Заявленный предел обнаружения очищенных элементарных телец (ЭТ) СТ серотипа H в образцах мочи мужчин составил 134 ЭТ/мл (Табл. 15). В этом исследовании были получены следующие значения предела обнаружения для остальных очищенных серотипов СТ (в ЭТ/мл): A (900), B (11), Ba (3037), C (34), E (12), F (151), G (48), I (43), J (112), K (88), LGV I (31), LGV II (40) и LGV III (157).

Таблица 15. Пределы обнаружения двух серотипов СТ в объединенном образце мочи мужчин

Микроорганизм	LoD
СТ ATCC vt885 серотип D (ЭТ/мл)	75
СТ ATCC vt879 серотип H (ЭТ/мл)	134

В объединенном образце отрицательной мочи мужчин были исследованы два штамма NG (ATCC 19424 и ATCC 49226). Шесть различных концентраций анализировались каждая в 20 повторах. Предел обнаружения рассчитывали при помощи пробит-анализа.

Определенный пробит-анализом LoD для NG равен 1,2–2,7 КОЕ/мл в моче мужчин (Табл. 16). Еще 30 штаммов NG были исследованы трехкратным тестированием в LoD или при близких концентрациях.

Таблица 16. Пределы обнаружения двух штаммов NG в объединенном образце мочи мужчин

Микроорганизм	LoD
NG ATCC19424 (КОЕ/мл)	2,7
NG ATCC49226 (КОЕ/мл)	1,2

22.2 Аналитическая специфичность (перекрестная реактивность)

Пробы 101 микроорганизмов были исследованы в концентрации не менее 10^6 КОЕ/мл или 10^5 копий генома в 1 мл, каждая в трех повторностях (Табл. 17). При исследовании всех изолятов был получен результат **СТ НЕ ОБНАРУЖЕН (СТ NOT DETECTED); NG НЕ ОБНАРУЖЕН (NG NOT DETECTED)**, и ни один из микроорганизмов не был обнаружен в тесте Xpert CT/NG. В исследовании использовали положительный и отрицательный контроли. Аналитическая специфичность составила 100 %.

Таблица 17. Возможные перекрестно реагирующие микроорганизмы в тесте Xpert CT/NG

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Вирус простого герпеса I типа ¹	<i>Neisseria sicca</i> (3)
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Вирус простого герпеса II типа ¹	<i>Neisseria subflava</i> (2)
<i>Aerococcus viridans</i>	Вирус папилломы человека ¹	<i>Paracoccus denitrificans</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Kingella denitrificans</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Brevibacterium linens</i>	<i>Lactobacillus jensenii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Leuconostoc paramensisenteroides</i>	<i>Rahnella aquatilis</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Salmonella minnesota</i>
<i>Chromobacterium violaceum</i>	<i>Moraxella lacunata</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Moraxella osloensis</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>N. meningitidis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>N. meningitidis</i> серогруппа A	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Cумомегалооурис</i> ¹	<i>N. meningitidis</i> серогруппа B	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>N. meningitidis</i> серогруппа C	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>N. meningitidis</i> серогруппа D	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>N. meningitidis</i> серогруппа W135	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>N. meningitidis</i> серогруппа Y	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria cinerea</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Neisseria dentrificans</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	<i>Neisseria elongata</i> (3)	<i>Streptococcus griseus</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria flava</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Elizabethkingia meningoseptica</i> ²	<i>Neisseria flavescens</i> (2)	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Neisseria lactamica</i> (5)	
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Neisseria mucosa</i> (3)	
<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Neisseria perflava</i>	
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Neisseria polysaccharea</i>	

(n) число исследованных штаммов

¹ Исследовано при концентрации 1×10^5 копий генома в 1 мл² Ранее известны как *Flavobacterium meningosepticum*

22.3 Изучение субстанций, препятствующих проведению анализа

Функциональные характеристики теста Xpert CT/NG изучали в присутствии субстанций, которые способны препятствовать проведению анализа. Оцениваемые субстанции были добавлены в образец, моделирующий вагинальный/эндоцервикальный мазок и образец мочи, содержащие 5х LoD CT серотипа D и штамм NG ATCC 49226 или 5х LoD CT серотипа H и штамм NG ATCC 19424.

Не обнаружено влияния на тест в присутствии этих субстанций в указанных концентрациях в модельных образцах вагинального/эндоцервикального мазка (Табл. 18) и мочи (Табл. 19).

Таблица 18. Субстанции, вероятно препятствующие проведению анализа в вагинальном или эндоцервикальном мазке

Субстанция	Концентрация
Кровь	1,0 % по объему
Муцин	0,8 % вес/объем
Сперма	5,0 % по объему
Гормоны	7 мг/мл прогестерона + 0,07 мг/мл бета-эстрадиола
LGV II (ЭТ СТ)	10 ⁶ ЭТ/мл
Крем Vagisil против зуда	0,25 % вес/объем
Клотримазол вагинальный крем	0,25 % вес/объем
Антигеморроидальный крем Препарейшн Эйч	0,25 % вес/объем
Миконазол 3	0,25 % вес/объем
Monistat 1	0,25 % вес/объем
Зовиракс крем от «простуды» на губах	0,25 % вес/объем
Увлажняющее средство Vagisil	0,25 % вес/объем
Увлажняющий гель Vagi-Gard	0,25 % вес/объем
Индивидуальный лубрикант KY Jelly	0,25 % вес/объем
Препарат для спринцевания Yeast Gard	0,25 % вес/объем
Контрацептивная вагинальная губка Delfen	0,25 % вес/объем
Препарат для спринцевания VH Essentials, содержащий повидон-йод	0,25 % по объему
Лейкоциты	10 ⁶ клеток в 1 мл

Таблица 19. Субстанции, вероятно препятствующие проведению анализа в образцах мочи

Субстанция	Концентрация
Кровь	0,3 % по объему
Муцин	0,2 % по объему
Сперма	5,0 % по объему
Гормоны	7 мг/мл прогестерона + 0,07 мг/мл бета-эстрадиола
LGV II (ЭТ СТ)	10 ⁶ ЭТ/мл
Лейкоциты	10 ⁶ клеток в 1 мл
Свечи дезодорирующие Norforms	0,25 % вес/объем
БСА	10 мг/мл
Глюкоза	10 мг/мл
Билирубин	0,2 мг/мл
Аспирин	40 мг/мл
Азитромицин	1,8 мг/мл
Доксициклин	3,6 мг/мл
Микроорганизмы-возбудители инфекции мочевыводящих путей <i>Candida albicans/Staphylococcus aureus/Escherichia coli</i>	2,9 x 10 ⁴ КОЕ/мл
Ацетаминофен	3,2 мг/мл
Женский порошок Vagisil	0,25 % вес/объем
Кислая моча	pH 4,0
Щелочная моча	pH 9,0

При использовании вагинальных/эндоцервикальных мазков может наблюдаться влияние следующих веществ на результаты теста:

- кровь в концентрации выше 1 % по объему;
- муцин в концентрации выше 0,8 % масса/объем.

При использовании образцов мочи может наблюдаться влияние следующих веществ на результаты теста:

- кровь в концентрации выше 0,3 % по объему;
- муцин в концентрации выше 0,2 % масса/объем;
- билирубин в концентрации выше 0,2 мг/мл (20 мг/дл);
- женский порошок Vagisil в концентрации выше 0,2 % масса/объем.

22.4 Исследование контаминации продуктами предыдущей реакции

Исследование проводилось с целью показать, что применение одноразовых автономных картриджей GeneXpert позволяет предотвратить контаминацию отрицательных проб продуктами предыдущей реакции с использованием высокоположительных проб в том же модуле GeneXpert. При этом исследовании обрабатывали отрицательную пробу в модуле GeneXpert, в котором непосредственно перед этим исследовали пробу с высоким содержанием СТ (1,9 x 10⁴ ЭТ/мл) и высоким содержанием NG (5,2 x 10⁵ КОЕ/мл). В этом исследовании были использованы два типа проб: а) известные отрицательные объединенные пробы мочи; б) известные отрицательные объединенные пробы мазков. Каждый тип пробы исследовали в каждом из четырех модулей GeneXpert в общем числе циклов 44, причем получены 20 положительных и 24 отрицательных результатов. Во всех 40 положительных пробах получен правильный результат **СТ ОБНАРУЖЕН (СТ DETECTED);NG ОБНАРУЖЕН (NG DETECTED)**. Во всех 48 отрицательных пробах получен правильный результат **СТ НЕ ОБНАРУЖЕН (СТ NOT DETECTED);NG НЕ ОБНАРУЖЕН (NG NOT DETECTED)**.

22.5 Воспроизводимость

Воспроизводимость теста Xpert CT/NG оценивали в трех центрах с применением образцов, состоящих из микроорганизмов CT и NG, внесенных в объединенные отрицательные образцы мочи мужчин или объединенные отрицательные образцы взятых у женщин влагалищных мазков. Были приготовлены образцы со следующими уровнями концентраций каждого микроорганизма — низкوپоложительный (1X LoD), умеренноположительный (2-3X LoD) и высокوپоложительный (>20X LoD). В панель были также включены отрицательные образцы, состоящие из объединенных отрицательных образцов мочи мужчин и объединенных отрицательных образцов влагалищных мазков. Панель из 22 образцов (11 образцов мочи и 11 образцов мазков) была исследована в пять разных дней двумя различными операторами по четыре раза в день в трех центрах (22 образца x 2 оператора x 5 дней x 4 повтор в день x 3 центра). В исследовании были использованы три партии реактивов Xpert CT/NG (в каждом центре по две партии). Тесты Xpert CT/NG были выполнены согласно процедуре теста Xpert CT/NG. Показатели совпадения полученных результатов определения CT и NG для каждого образца панели в разных центрах представлены в Табл. 20 и Табл. 21.

Таблица 20. Сводные данные по воспроизводимости в разных исследовательских центрах — проценты совпадений в образцах мазков

Проба		Центр 1 (GeneXpert Dx)	Центр 2 (Infinity-80)	Центр 3 (Infinity-48)	Общий % совпадений на пробу
CT >20X LoD; NG >20X LoD	CT	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
	NG	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
CT >20X LoD; NG 1X LoD	CT	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
	NG	87,5 % (35/40)	97,5 % (39/40)	95,0 % (38/40)	93,3 % (112/120)
CT >20X LoD; NG отриц.	CT	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
	NG	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
CT 1X LoD; NG >20X LoD	CT	90,0 % (36/40)	97,5 % (39/40)	95,0 % (38/40)	94,2 % (113/120)
	NG	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
CT 1X LoD; NG 1X LoD	CT	97,5 % (39/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	99,2 % (119/120)
	NG	92,5 % (37/40)	90,0 % (36/40)	90,0 % (36/40)	90,8 % (109/120)
CT 1X LoD; NG отриц.	CT	97,5 % (39/40)	90,0 % (36/40)	90,0 % (36/40)	92,5 % (111/120)
	NG	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
CT 2-3X LoD; NG отриц.	CT	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
	NG	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
CT отриц; NG >20X LoD	CT	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
	NG	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
CT отриц; NG 1X LoD	CT	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
	NG	100 % (40/40)	97,5 % (39/40)	97,5 % (39/40)	98,3 % (118/120)
CT отриц; NG 2-3X LoD	CT	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
	NG	97,5 % (39/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	99,2 % (119/120)
CT отриц; NG отриц.	CT	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
	NG	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)

Таблица 21. Сводные данные по воспроизводимости в разных исследовательских центрах — проценты совпадений в образцах мочи

Проба		Центр 1 (GeneXpert Dx)	Центр 2 (Infinity-80)	Центр 3 (Infinity-48)	Общий % совпадений на пробу
CT >20X LoD; NG >20X LoD	CT	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
	NG	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
CT >20X LoD; NG 1X LoD	CT	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
	NG	92,5 % (37/40)	97,5 % (39/40)	97,5 % (39/40)	95,8 % (115/120)
CT >20X LoD; NG отриц.	CT	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
	NG	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
CT 1X LoD; NG >20X LoD	CT	92,5 % (37/40)	95,0 % (38/40)	90,0 % (36/40)	92,5 % (111/120)
	NG	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
CT 1X LoD; NG 1X LoD	CT	95,0 % (38/40)	80,0 % (32/40)	87,5 % (35/40)	87,5 % (105/120)
	NG	95,0 % (38/40)	85,0 % (34/40)	87,5 % (35/40)	89,2 % (107/120)
CT 1X LoD; NG отриц.	CT	87,5 % (35/40)	97,5 % (39/40)	97,5 % (39/40)	94,2 % (113/120)
	NG	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
CT 2-3X LoD; NG отриц.	CT	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
	NG	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
CT отриц; NG >20X LoD	CT	97,5 % (39/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	99,2 % (119/120)
	NG	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
CT отриц; NG 1X LoD	CT	100 % (40/40)	100 % (40/40)	97,5 % (39/40)	99,2 % (119/120)
	NG	100 % (40/40)	97,5 % (39/40)	100 % (40/40)	99,2 % (119/120)
CT отриц; NG 2-3X LoD	CT	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
	NG	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)
CT отриц; NG отриц.	CT	100 % (40/40)	100 % (40/40)	97,5 % (39/40)	99,2 % (119/120)
	NG	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (40/40)	100 % (120/120)

Воспроизводимость теста Xpert CT/NG также оценивали по флуоресцентному сигналу, выраженному в Ct, для каждой обнаруживаемой целевой последовательности. Средние значения, стандартные отклонения (СО) и коэффициенты вариации (КВ) между центрами, между партиями, между днями, и между циклами для каждого элемента панели представлены в Табл. 22 — Табл. 24.

Таблица 22. Сводные данные по воспроизводимости для образцов мазков и мочи — цель СТ1

Тип	Концентрация цели					Между центрами		Между партиями		Между днями		Между сериями ^а		В пределах серии		Всего	
	СТ (LoD)	NG (LoD)	Согл./N	Процент согл.	Среднее Ct	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)
Мазки	>20X	>20X	120/120	100	20,67	0,21	1,0	0,11	0,5	0,11	0,5	0,00	0,0	0,29	1,4	0,39	1,9
	>20X	1X	112/120	93,3	20,73	0,29	1,4	0,37	1,8	0,00	0,0	0,00	0,0	1,59	7,7	1,66	8,0
	>20X	ОТРИЦ.	120/120	100	20,59	0,00	0,0	0,21	1,0	0,06	0,3	0,08	0,4	0,26	1,3	0,35	1,7
	1X	>20X	113/120	94,2	37,20	0,10	0,3	0,21	0,6	0,00	0,0	0,00	0,0	1,15	3,1	1,18	3,2
	1X	1X	106/120	88,3	37,04	0,17	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,12	0,3	1,08	2,9	1,10	3,0
	1X	ОТРИЦ.	111/120	92,5	37,04	0,06	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	1,12	3,0	1,12	3,0
	2-3X	ОТРИЦ.	120/120	100	35,63	0,13	0,4	0,00	0,0	0,15	0,4	0,10	0,3	0,77	2,2	0,80	2,3
	ОТРИЦ.	>20X	120/120	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	ОТРИЦ.	1X	118/120	98,3	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	ОТРИЦ.	2-3X	119/120	99,2	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	ОТРИЦ.	ОТРИЦ.	120/120	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
Моча	>20X	>20X	120/120	100	21,46	0,23	1,0	0,00	0,0	0,12	0,5	0,02	0,1	0,31	1,4	0,40	1,9
	>20X	1X	115/120	95,8	21,33	0,13	0,6	0,05	0,2	0,13	0,6	0,00	0,0	0,43	2,0	0,47	2,2
	>20X	ОТРИЦ.	120/120	100	21,36	0,19	0,9	0,00	0,0	0,12	0,6	0,02	0,1	0,47	2,2	0,52	2,4
	1X	>20X	111/120	92,5	37,24	0,36	1,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	1,33	3,6	1,38	3,7
	1X	1X	97/120	80,8	37,15	0,40	1,1	0,18	0,5	0,17	0,4	0,00	0,0	1,02	2,8	1,13	3,0
	1X	ОТРИЦ.	113/120	94,2	37,39	0,10	0,3	0,32	0,9	0,00	0,0	0,00	0,0	1,38	3,7	1,42	3,8
	2-3X	ОТРИЦ.	120/120	100	35,26	0,24	0,7	0,00	0,0	0,30	0,9	0,00	0,0	0,80	2,3	0,89	2,5
	ОТРИЦ.	>20X	119/120	99,2	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	ОТРИЦ.	1X	118/120	98,3	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	ОТРИЦ.	2-3X	120/120	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	ОТРИЦ.	ОТРИЦ.	119/120	99,2	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П

а. Серия определяется как четыре пробы на каждый элемент панели, исследованные одним оператором в одном центре в один день.

Согл. — согласие, КВ — коэффициент вариации, Н/П — неприменимо к отрицательным пробам, СО — стандартное отклонение

Примечание Вариабельность, связанная с некоторыми факторами, могла быть отрицательной в численном выражении, если была очень небольшой. В таких случаях значение вариабельности (измеряемое по СО и КВ) устанавливалось на 0.

Таблица 23. Сводные данные по воспроизводимости для образцов мазков и мочи — целевая последовательность NG2

Тип	Концентрация цели					Между центрами		Между партиями		Между днями		Между сериями ^а		В пределах серии		Всего	
	СТ (LoD)	NG (LoD)	Согл./N	Процент согл.	Среднее Ct	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)
Мазки	>20X	>20X	120/120	100	19,65	0,03	0,1	0,09	0,4	0,07	0,3	0,02	0,1	0,24	1,2	0,26	1,3
	>20X	1X	112/120	93,3	35,38	0,22	0,6	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	1,98	5,6	1,99	5,6
	>20X	ОТРИЦ.	120/120	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	1X	>20X	113/120	94,2	19,69	0,12	0,6	0,00	0,0	0,19	1,0	0,00	0,0	0,43	2,2	0,49	2,5
	1X	1X	106/120	88,3	35,61	0,00	0,0	0,53	1,5	0,00	0,0	0,80	2,2	1,37	3,9	1,67	4,7
	1X	ОТРИЦ.	111/120	92,5	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	2-3X	ОТРИЦ.	120/120	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	ОТРИЦ.	>20X	120/120	100	19,60	0,10	0,5	0,07	0,4	0,00	0,0	0,07	0,4	0,20	1,0	0,25	1,3
	ОТРИЦ.	1X	118/120	98,3	35,43	0,39	1,1	0,00	0,0	0,04	0,1	0,22	0,6	0,94	2,6	1,04	2,9
	ОТРИЦ.	2-3X	119/120	99,2	33,97	0,00	0,0	0,15	0,4	0,00	0,0	0,15	0,4	0,71	2,1	0,74	2,2
	ОТРИЦ.	ОТРИЦ.	120/120	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
Моча	>20X	>20X	120/120	100	20,34	0,06	0,3	0,09	0,4	0,00	0,0	0,07	0,3	0,23	1,1	0,26	1,3
	>20X	1X	115/120	95,8	35,41	0,00	0,0	0,00	0,0	0,19	0,5	0,30	0,8	1,15	3,3	1,20	3,4
	>20X	ОТРИЦ.	120/120	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	1X	>20X	111/120	92,5	20,40	0,06	0,3	0,07	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,39	1,9	0,40	2,0
	1X	1X	97/120	80,8	35,57	0,20	0,6	0,00	0,0	0,13	0,4	0,10	0,3	1,28	3,6	1,31	3,7
	1X	ОТРИЦ.	113/120	94,2	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	2-3X	ОТРИЦ.	120/120	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	ОТРИЦ.	>20X	119/120	99,2	20,39	0,00	0,0	0,07	0,4	0,14	0,7	0,05	0,3	0,26	1,3	0,31	1,5
	ОТРИЦ.	1X	118/120	98,3	35,35	0,00	0,0	0,11	0,3	0,00	0,0	0,36	1,0	0,92	2,6	0,99	2,8
	ОТРИЦ.	2-3X	120/120	100	33,80	0,00	0,0	0,18	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,54	1,6	0,57	1,7
	ОТРИЦ.	ОТРИЦ.	119/120	99,2	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П

а. Серия определяется как четыре пробы на каждый элемент панели, исследованные одним оператором в одном центре в один день.

Согл. — согласие, КВ — коэффициент вариации, Н/П — неприменимо к отрицательным пробам, СО — стандартное отклонение

Примечание Вариабельность, связанная с некоторыми факторами, могла быть отрицательной в численном выражении, если была очень небольшой. В таких случаях значение вариабельности (измеряемое по СО и КВ) устанавливалось на 0.

Таблица 24. Сводные данные по воспроизводимости для образцов мазков и мочи — целевая последовательность NG4

Тип	Концентрация цели					Между центрами		Между партиями		Между днями		Между сериями ^а		В пределах серии		Всего	
	СТ (LoD)	NG (LoD)	Согл./N	Процент согл.	Среднее Ct	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)
Мазки	>20X	>20X	120/120	100	19,34	0,00	0,0	0,12	0,6	0,11	0,6	0,00	0,0	0,39	2,0	0,42	2,2
	>20X	1X	112/120	93,3	35,00	0,41	1,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,32	0,9	1,89	5,4	1,96	5,6
	>20X	ОТРИЦ.	120/120	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	1X	>20X	113/120	94,2	19,41	0,07	0,4	0,00	0,0	0,14	0,7	0,03	0,2	0,49	2,5	0,52	2,7
	1X	1X	106/120	88,3	35,47	0,32	0,9	0,00	0,0	0,00	0,0	0,70	2,0	0,90	2,5	1,19	3,3
	1X	ОТРИЦ.	111/120	92,5	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	2-3X	ОТРИЦ.	120/120	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	ОТРИЦ.	>20X	120/120	100	19,35	0,02	0,1	0,04	0,2	0,00	0,0	0,07	0,4	0,28	1,5	0,29	1,5
	ОТРИЦ.	1X	118/120	98,3	35,05	0,00	0,0	0,16	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,00	2,9	1,01	2,9
	ОТРИЦ.	2-3X	119/120	99,2	33,57	0,14	0,4	0,17	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,78	2,3	0,81	2,4
	ОТРИЦ.	ОТРИЦ.	120/120	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
Моча	>20X	>20X	120/120	100	20,06	0,12	0,6	0,12	0,6	0,09	0,4	0,00	0,0	0,39	1,9	0,43	2,1
	>20X	1X	115/120	95,8	35,27	0,17	0,5	0,13	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	1,04	2,9	1,06	3,0
	>20X	ОТРИЦ.	120/120	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	1X	>20X	111/120	92,5	20,16	0,00	0,0	0,08	0,4	0,00	0,0	0,12	0,6	0,56	2,8	0,58	2,9
	1X	1X	97/120	80,8	35,25	0,00	0,0	0,00	0,0	0,41	1,2	0,00	0,0	1,17	3,3	1,24	3,5
	1X	ОТРИЦ.	113/120	94,2	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	2-3X	ОТРИЦ.	120/120	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	ОТРИЦ.	>20X	119/120	99,2	20,12	0,09	0,5	0,10	0,5	0,06	0,3	0,00	0,0	0,41	2,0	0,43	2,2
	ОТРИЦ.	1X	118/120	98,3	35,05	0,24	0,7	0,00	0,0	0,15	0,4	0,12	0,4	1,09	3,1	1,13	3,2
	ОТРИЦ.	2-3X	120/120	100	33,67	0,00	0,0	0,33	1,0	0,00	0,0	0,16	0,5	0,83	2,5	0,91	2,7
	ОТРИЦ.	ОТРИЦ.	119/120	99,2	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П

а. Серия определяется как четыре пробы на каждый элемент панели, исследованные одним оператором в одном центре в один день.

Согл. — согласие, КВ — коэффициент вариации, Н/П — неприменимо к отрицательным пробам, СО — стандартное отклонение

Примечание Вариабельность, связанная с некоторыми факторами, могла быть отрицательной в численном выражении, если была очень небольшой. В таких случаях значение вариабельности (измеряемое по СО и КВ) устанавливалось на 0.

23 Прецизионность системы

Внутреннее исследование компании по оценке прецизионности проводилось для сравнения функциональных характеристик систем приборов GeneXpert Dx и Infinity-80 с использованием образцов, состоящих из микроорганизмов CT и NG, внесенных в отрицательные пробы мочи или модельные пробы влагалищных мазков. Были приготовлены образцы со следующими уровнями концентраций каждого микроорганизма — низкочисленный (0,25-0,5X LoD), умеренноположительный (2-3X LoD) и высокочисленный (>20X LoD). В панель были также включены отрицательные образцы, состоящие из отрицательных образцов мочи и отрицательного разбавителя. Панель, состоящую из 20 образцов (10 образцов мочи и 10 образцов мазков) были исследованы в течение 12 разных дней двумя операторами. Каждый оператор выполнял по четыре серии каждой панели образцов в день на каждой из двух систем приборов (20 образцов x 4 раза в день x 12 дней x 2 оператора x 2 системы приборов). В исследовании использована одна партия теста Xpert CT/NG. Тесты Xpert CT/NG были выполнены согласно процедуре теста Xpert CT/NG. Показатели совпадения полученных результатов определения CT и NG для каждого образца панели на каждом приборе представлены в Табл. 25 и Табл. 26.

Таблица 25. Сводные результаты определения прецизионности систем приборов: процент совпадения в пробах мазков

Проба		GeneXpert Dx	Infinity-80	Общий % совпадений на пробу
CT >20X LoD; NG >20X LoD	CT	100 % (96/96)	100 % (95/95) ^а	100 % (191/191)
	NG	100 % (96/96)	100 % (95/95) ^а	100 % (191/191)
CT >20X LoD; NG 0,25-0,5X LoD	CT	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
	NG	62,5 % (60/96)	52,1 % (50/96)	57,3 % (110/192)
CT >20X LoD; NG отриц.	CT	100 % (96/96)	100 % (95/95) ^б	100 % (191/191)
	NG	100 % (96/96)	100 % (95/95) ^б	100 % (191/191)
CT 0,25-0,5X LoD; NG >20X LoD	CT	46,9 % (45/96)	42,7 % (41/96)	44,8 % (86/192)
	NG	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
CT 0,25-0,5X LoD; NG 0,25-0,5X LoD	CT	55,2 % (53/96)	60,4 % (58/96)	57,8 % (111/192)
	NG	50,0 % (48/96)	66,7 % (64/96)	58,3 % (112/192)
CT 0,25-0,5X LoD; NG отриц.	CT	61,5 % (59/96)	62,1 % (59/95) ^в	61,8 % (118/191)
	NG	100 % (96/96)	100 % (95/95) ^в	100 % (191/191)
CT 2-3X LoD; NG 2-3X LoD	CT	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
	NG	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
CT отриц; NG >20X LoD	CT	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
	NG	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
CT отриц; NG 0,25-0,5X LoD	CT	100 % (95/95) ^б	100 % (96/96)	100 % (191/191)
	NG	58,9 % (56/95) ^б	62,5 % (60/96)	60,7 % (116/191)
CT отриц; NG отриц.	CT	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
	NG	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)

а. Результат для одной пробы оказался неопределенным при первом и повторном анализе.

б. По одной пробе из CT >20X LoD, NG отриц., CT отриц. и NG 0,25-0,5X LoD дали при первом исследовании результат **ОШИБКА (ERROR)** и не были исследованы повторно.

в. Одна проба по ошибке не была исследована.

Таблица 26. Сводные результаты определения прецизионности систем приборов: процент совпадения в пробах мочи

Проба		GeneXpert Dx	Infinity-80	Общий % совпадений на пробу
СТ >20X LoD; NG >20X LoD	СТ	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
	NG	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
СТ >20X LoD; NG 0,25-0,5X LoD	СТ	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
	NG	46,9 % (45/96)	49,0 % (47/96)	47,9 % (92/192)
СТ >20X LoD; NG отриц.	СТ	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
	NG	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
СТ 0,25-0,5X LoD; NG >20X LoD	СТ	50,0 % (48/96)	52,1 % (50/96)	51,0 % (98/192)
	NG	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
СТ 0,25-0,5X LoD; NG 0,25-0,5X LoD	СТ	44,8 % (43/96)	39,6 % (38/96)	42,2 % (81/192)
	NG	62,5 % (60/96)	58,3 % (56/96)	60,4 % (116/192)
СТ 0,25-0,5X LoD; NG отриц.	СТ	46,9 % (45/96)	46,9 % (45/96)	46,9 % (90/192)
	NG	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
СТ 2-3X LoD; NG 2-3X LoD	СТ	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
	NG	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
СТ отриц; NG >20X LoD	СТ	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
	NG	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
СТ отриц; NG 0,25-0,5X LoD	СТ	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
	NG	36,5 % (35/96)	33,3 % (32/96)	34,9 % (67/192)
СТ отриц; NG отриц.	СТ	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
	NG	100 % (96/96)	100 % (96/96)	100 % (192/192)

Прецизионность теста Хpert СТ/NG также оценивали по флуоресцентному сигналу, выраженному в Ct, для каждой обнаруживаемой цели. Средние значения, стандартные отклонения (СО) и коэффициенты вариации (КВ) между приборами, между днями и между циклами для каждого элемента панели представлены в Табл. 27 — Табл. 29.

Таблица 27. Сводные данные по прецизионности для образцов мазков и мочи — целевая последовательность СТ1

Тип	Концентрация цели					Между приборами		Между днями		Между сериями ^а		В пределах серии		Всего	
	СТ (LoD)	NG (LoD)	Согл./N	Процент согл.	Среднее Ct	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)
Мазки	>20X	>20X	191/191	100	23,52	0,05	0,2	0,02	0,1	0,00	0,0	0,25	1,1	0,26	1,1
	>20X	0,25-0,5X	110/192	57,3	23,52	0,00	0,0	0,00	0,0	0,08	0,3	0,18	0,7	0,19	0,8
	>20X	ОТРИЦ.	191/191	100	23,55	0,03	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,22	0,9	0,22	0,9
	0,25-0,5X	>20X	86/192	44,8	38,77	0,00	0,0	0,00	0,0	0,32	0,8	1,38	3,6	1,42	3,7
	0,25-0,5X	0,25-0,5X	59/192	30,7	38,46	0,00	0,0	0,30	0,8	0,00	0,0	1,35	3,5	1,39	3,6
	0,25-0,5X	ОТРИЦ.	118/191	61,8	38,05	0,08	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	1,26	3,3	1,26	3,3
	2-3X	2-3X	192/192	100	31,49	0,04	0,1	0,00	0,0	0,06	0,2	0,24	0,8	0,25	0,8
	ОТРИЦ.	>20X	192/192	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	ОТРИЦ.	0,25-0,5X	116/191	60,7	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	ОТРИЦ.	ОТРИЦ.	192/192	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
Моча	>20X	>20X	192/192	100	24,35	0,05	0,2	0,20	0,8	0,10	0,4	0,30	1,2	0,38	1,6
	>20X	0,25-0,5X	92/192	47,9	24,25	0,00	0,0	0,06	0,3	0,00	0,0	0,62	2,6	0,62	2,6
	>20X	ОТРИЦ.	192/192	100	24,12	0,00	0,0	0,15	0,6	0,19	0,8	0,34	1,4	0,41	1,7
	0,25-0,5X	>20X	98/192	51,0	38,33	0,12	0,3	0,00	0,0	0,84	2,2	1,03	2,7	1,33	3,5
	0,25-0,5X	0,25-0,5X	48/192	25,0	38,26	0,00	0,0	0,00	0,0	0,56	1,5	1,05	2,7	1,19	3,1
	0,25-0,5X	ОТРИЦ.	90/192	46,9	38,39	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	1,09	2,8	1,09	2,8
	2-3X	2-3X	192/192	100	31,85	0,00	0,0	0,11	0,4	0,18	0,6	0,32	1,0	0,39	1,2
	ОТРИЦ.	>20X	192/192	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	ОТРИЦ.	0,25-0,5X	67/192	34,9	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	ОТРИЦ.	ОТРИЦ.	192/192	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П

а. Серия определяется как четыре пробы на каждый элемент панели, исследованные одним оператором в одном центре в один день.

Согл. — согласие, КВ — коэффициент вариации, Н/П — неприменимо к отрицательным пробам, СО — стандартное отклонение

Примечание Вариабельность, связанная с некоторыми факторами, могла быть отрицательной в численном выражении, если была очень небольшой. В таких случаях значение вариабельности (измеряемое по СО и КВ) устанавливалось на 0.

Таблица 28. Сводные данные по прецизионности для образцов мазков и мочи — целевая последовательность NG2

Тип	Концентрация цели					Между приборами		Между днями		Между сериями ^а		В пределах серии		Всего	
	СТ (LoD)	NG (LoD)	Согл./N	Процент согл.	Среднее Ct	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)
Мазки	>20X	>20X	191/191	100	19,03	0,01	0,0	0,02	0,1	0,00	0,0	0,21	1,1	0,21	1,1
	>20X	0,25-0,5X	110/192	57,3	37,63	0,07	0,2	0,46	1,2	0,00	0,0	1,55	4,1	1,62	4,3
	>20X	ОТРИЦ.	191/191	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	0,25-0,5X	>20X	86/192	44,8	19,08	0,00	0,0	0,00	0,0	0,10	0,5	0,31	1,6	0,32	1,7
	0,25-0,5X	0,25-0,5X	59/192	30,7	36,78	0,00	0,0	0,24	0,6	0,00	0,0	1,47	4,0	1,49	4,0
	0,25-0,5X	ОТРИЦ.	118/191	61,8	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	2-3X	2-3X	192/192	100	31,35	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,33	1,1	0,33	1,1
	ОТРИЦ.	>20X	192/192	100	19,02	0,00	0,0	0,00	0,0	0,07	0,4	0,22	1,2	0,23	1,2
	ОТРИЦ.	0,25-0,5X	116/191	60,7	36,77	0,00	0,0	0,46	1,2	0,00	0,0	1,65	4,5	1,71	4,7
	ОТРИЦ.	ОТРИЦ.	192/192	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
Моча	>20X	>20X	192/192	100	19,85	0,00	0,0	0,15	0,7	0,00	0,0	0,34	1,7	0,37	1,8
	>20X	0,25-0,5X	92/192	47,9	36,72	0,15	0,4	0,00	0	0,00	0,0	1,36	3,7	1,37	3,7
	>20X	ОТРИЦ.	192/192	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	0,25-0,5X	>20X	98/192	51,0	19,51	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	1,20	6,1	1,20	6,1
	0,25-0,5X	0,25-0,5X	48/192	25,0	36,38	0,26	0,7	0,00	0,0	1,98	5,5	1,13	3,1	2,30	6,3
	0,25-0,5X	ОТРИЦ.	90/192	46,9	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	2-3X	2-3X	192/192	100	31,53	0,00	0,0	0,09	0,3	0,16	0,5	0,42	1,3	0,46	1,4
	ОТРИЦ.	>20X	192/192	100	19,26	0,14	0,7	0,00	0,0	0,17	0,9	0,43	2,3	0,49	2,4
	ОТРИЦ.	0,25-0,5X	67/192	34,9	36,88	0,00	0,0	0,31	0,8	0,00	0	1,45	3,9	1,48	7,5
	ОТРИЦ.	ОТРИЦ.	192/192	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П

а. Серия определяется как четыре пробы на каждый элемент панели, исследованные одним оператором в одном центре в один день.

Согл. — согласие, КВ — коэффициент вариации, Н/П — неприменимо к отрицательным пробам, СО — стандартное отклонение

Примечание

Вариабельность, связанная с некоторыми факторами, могла быть отрицательной в численном выражении, если была очень небольшой. В таких случаях значение вариабельности (измеряемое по СО и КВ) устанавливалось на 0.

Таблица 29. Сводные данные по прецизионности для образцов мазков и мочи — целевая последовательность NG4

Тип	Концентрация цели					Между приборами		Между днями		Между сериями ^а		В пределах серии		Всего	
	СТ (LoD)	NG (LoD)	Согл./N	Процент согл.	Среднее Ct	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)
Мазки	>20X	>20X	191/191	100	18,67	0,00	0,0	0,00	0,0	0,19	1,0	0,34	1,8	0,39	2,1
	>20X	0,25-0,5X	110/192	57,3	36,94	0,49	1,3	0,00	0,0	0,10	0,3	1,63	4,4	1,71	4,6
	>20X	ОТРИЦ.	191/191	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	0,25-0,5X	>20X	86/192	44,8	18,72	0,06	0,3	0,00	0,0	0,21	1,1	0,41	2,2	0,46	2,5
	0,25-0,5X	0,25-0,5X	59/192	30,7	36,57	0,00	0,0	0,50	1,4	0,00	0,0	1,55	4,3	1,63	4,5
	0,25-0,5X	ОТРИЦ.	118/191	61,8	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	2-3X	2-3X	192/192	100	31,06	0,00	0,0	0,05	0,2	0,00	0,0	0,42	1,4	0,43	1,4
	ОТРИЦ.	>20X	192/192	100	18,69	0,00	0,0	0,00	0,0	0,22	1,2	0,38	2,0	0,44	2,3
	ОТРИЦ.	0,25-0,5X	116/191	60,7	36,31	0,08	0,2	0,13	0,4	0,00	0,0	1,24	3,4	1,25	3,4
	ОТРИЦ.	ОТРИЦ.	192/192	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
Моча	>20X	>20X	192/192	100	19,44	0,01	0,1	0,10	0,5	0	0	0,45	2,3	0,46	2,4
	>20X	0,25-0,5X	92/192	47,9	36,31	0	0	0,04	0,1	0,17	0,5	1,18	3,2	1,19	6,1
	>20X	ОТРИЦ.	192/192	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	0,25-0,5X	>20X	98/192	51,0	19,08	0	0	0	0	0	0	1,35	7,1	1,35	6,9
	0,25-0,5X	0,25-0,5X	48/192	25,0	36,16	0	0	0,24	0,7	0	0	1,98	5,5	2,00	10,3
	0,25-0,5X	ОТРИЦ.	90/192	46,9	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	2-3X	2-3X	192/192	100	31,09	0	0	0,16	0,5	0,11	0,4	0,49	1,6	0,53	2,7
	ОТРИЦ.	>20X	192/192	100	18,80	0,04	0,2	0	0	0,14	0,7	0,47	2,5	0,50	2,6
	ОТРИЦ.	0,25-0,5X	67/192	34,9	36,58	0,18	0,5	0	0	0,74	2,0	1,40	3,8	1,60	8,2
	ОТРИЦ.	ОТРИЦ.	192/192	100	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П

а. Серия определяется как четыре пробы на каждый элемент панели, исследованные одним оператором в одном центре в один день.

Согл. — согласие, КВ — коэффициент вариации, Н/П — неприменимо к отрицательным пробам, СО — стандартное отклонение

Примечание Вариабельность, связанная с некоторыми факторами, могла быть отрицательной в численном выражении, если была очень небольшой. В таких случаях значение вариабельности (измеряемое по СО и КВ) устанавливалось на 0.

24 Справочная литература

1. Schachter, J. 1985. Chlamydiae (Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum-Trachoma group), p. 856-862. In E. H. Lennette, *et al.* (ed.), Manual of Clinical Microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Cates, Jr., W., and J. N. Wasserheit. 1991. Genital chlamydia infections: epidemiology and reproductive sequelae. Am. J. Obstet. Gynecol. 164:1771-1781.
3. Holmes, K. K., H. H. Handsfield, S. P. Wang, *et al.* 1975. Etiology of nongonococcal urethritis. *NEJM* 292:1199-1205.
4. Schachter, J. 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). *NEJM* 298:540-549.
5. Schachter, J., E. C. Hill, E. B. King, *et al.* 1975. Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. Am. J. Obstet. Gynecol. 123:753-757.
6. Centers for Disease Control and Prevention. 2006. Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2006. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. (refer to latest edition).
8. CLSI Publication M29. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. (refer to latest edition).
9. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

25 Расположение штаб-квартир корпорации Cepheid

Головной офис

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Соединенные Штаты Америки
Телефон: + 1 408 541 4191
Факс: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Европейский офис

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Франция
Телефон: + 33 563 825 300
Факс: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

26 Техническая поддержка

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

Контактная информация

Соединенные Штаты Америки
Телефон: + 1 888 838 3222
Адрес электронной почты:
techsupport@cepheid.com

Франция
Телефон: + 33 563 825 319
Адрес электронной почты:
support@cepheideurope.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Cepheid доступна на нашем веб-сайте:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

27 Условные обозначения

Символ	Значение
	Каталожный номер
	Для диагностических тестов in vitro
	Не использовать повторно
	Код партии
	Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно
	Производитель
	Место производства
	Содержимого достаточно для проведения <n> анализов
	Контроль
	Срок годности
	Марка CE – Европейское соответствие
	Температурные ограничения
	Биологическая опасность
	Предостережение



Cepheid AB
 Röntgenvägen 5
 SE-171 54 Solna
 Швеция
www.cepheidinternational.com



Xpert® HPV

REF GXHPV-CE-10

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert® and Xpert® are trademarks of Cepheid.

Windows® is a trademark of Microsoft Corporation.

ThinPrep® and PreservCyt® are trademarks of Hologic, Inc.

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

Copyright © 2020 Cepheid. All rights reserved.

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

Cepheid®, логотип Cepheid, GeneXpert® и Xpert® являются товарными знаками компании Cepheid.

Windows® является товарным знаком Microsoft Corporation.

ThinPrep® и PreservCyt® являются товарными знаками компании Hologic, Inc.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩЕЙ ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

Авторские права © 2020 Cepheid. Все права защищены.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Xpert® HPV

Только для диагностического применения *in vitro*

1 Фирменное название

Xpert® HPV

2 Общепринятое название

Тест Xpert HPV Assay

3 Назначение

Xpert HPV Assay представляет собой качественный *in vitro* диагностический тест для обнаружения региона E6/E7 в геномной ДНК вируса папилломы человека (ВПЧ) высокого онкогенного риска в образцах, полученных у пациентов. В тесте выполняется мультиплексная амплификация целевой ДНК в полимеразной цепной реакции (ПЦР) реального времени 14 типов ВПЧ высокого онкогенного риска в одном анализе. Тест Xpert HPV осуществляет специфическую идентификацию типов HPV 16 и HPV 18/45 в двух отдельных каналах детекции и сообщает о наличии других 11 типов вируса высокого онкогенного риска (31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 и 68) в виде объединенного результата. Допускаются к использованию только образцы цервикальных клеток, собранные в раствор PreservCyt® Solution (корпорация Hologic). Также для использования в тесте Xpert HPV Assay валидированы цервикальные образцы, собранные в раствор PreservCyt и предварительно обработанные для цитологического исследования безводной уксусной кислотой с целью лизиса присутствующих эритроцитов.

Показания к проведению теста Xpert HPV Assay:

- Xpert HPV Assay может использоваться для анализа образца, взятого для исследования по Папаниколау, на наличие или отсутствие ВПЧ высокого онкогенного риска. Данная информация вместе с оценкой врачом истории болезни пациентки, других факторов риска и рекомендациями из профессиональных руководств, может использоваться при лечении пациентки.
- Xpert HPV Assay может использоваться для анализа образца, взятого для исследования по Папаниколау, на наличие или отсутствие ВПЧ генотипов 16 и 18/45. Данная информация вместе с оценкой врачом истории болезни пациентки, других факторов риска и рекомендациями из профессиональных руководств, может использоваться при лечении пациентки.

4 Краткие сведения и разъяснения

Персистирующая инфекция, вызванная ВПЧ высокого онкогенного риска, является основной причиной рака шейки матки и предшественником цервикальной интраэпителиальной неоплазии. С присутствием ВПЧ связаны более чем 99% случаев рака шейки матки во всем мире.¹ ВПЧ является небольшим безоболочечным вирусом с двухцепочечной ДНК, геном которого содержит около 8000 нуклеотидов. Существует более 150 различных типов ВПЧ, и около 40 типов ВПЧ могут инфицировать слизистую оболочку аногенитальной области человека.² Однако считается, что только подгруппа из примерно 14 таких типов ВПЧ несет высокий риск развития рака шейки матки и предшествующих поражений. Недавно полученные данные указывают на то, что типоспецифические скрининговые тесты на ДНК ВПЧ высокого онкогенного риска и протоколы должны быть ориентированы на определение ВПЧ типов 16, 18 и 45.³ По данным, полученным во всем мире, ВПЧ типов 16, 18 и 45 обнаруживались в 75% всех образцов плоскоклеточного рака; установлено, что эти типы ВПЧ связаны примерно с 80% всех случаев инвазивного рака шейки матки.^{4,5}

Примечание

В данном документе термины «ВПЧ» [HPV] и «HR HPV» используются в значении «ВПЧ высокого онкогенного риска», если не указано иное.

5 Принципы выполнения анализа

Xpert HPV Assay представляет собой автоматизированный тест для качественного определения и дифференциации ДНК ВПЧ. Анализ выполняется на системе Cepheid GeneXpert.

В системе GeneXpert объединены и автоматически выполняются следующие процессы: обработка проб, лизис клеток, очистка, амплификация нуклеиновых кислот и обнаружение целевых последовательностей в клинических пробах с использованием ПЦР в реальном времени. Система состоит из прибора, персонального компьютера и предустановленного программного обеспечения для выполнения тестов и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи GeneXpert, содержащие реактивы для ПЦР. В эти картриджи вносится проба, и в них происходит ПЦР. Поскольку картриджи представляют собой замкнутые системы для проведения реакции, вероятность перекрестной контаминации между образцами сводится к минимуму. Полное описание системы представлено в соответствующем *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*.

Тест Xpert HPV Assay содержит реактивы для обнаружения ВПЧ высокого онкогенного риска. Тест Xpert HPV Assay предназначен для использования с цервикальными образцами, собранными в раствор PreservCyt при помощи устройства типа метелки или комбинации эндоцервикальной щетки и шпателя. Также могут использоваться цервикальные образцы, предварительно обработанные определенными методами обработки безводной уксусной кислотой. Для использования в тесте Xpert HPV Assay валидированы цервикальные образцы, собранные в раствор PreservCyt. Следуйте инструкции изготовителя по сбору цервикальных образцов.

Кроме того, в картридже содержится контроль адекватности пробы (Sample Adequacy Control, SAC) и контроль качества зондов (Probe Check Control, PCC). Контроль адекватности пробы определяет наличие однокопийного гена человеческого происхождения и отслеживает, содержит ли образец надлежащее количество клеток человека для проведения качественной оценки ВПЧ-статуса. Контроль качества зондов (Probe Check Control, PCC) проверяет регидратацию реактивом, заполнение пробирки в картридже, целостность зонда и стабильность красителя.

Каналы содержат праймеры и зонды для обнаружения конкретных генотипов или объединенных результатов, как указано далее: «SAC; Primary» для контроля достаточности образца, «HPV 16; Primary» для ВПЧ 16, «HPV 18_45; Primary» для объединенного результата ВПЧ 18/45, «P3; Primary» для объединенного результата любых типов ВПЧ 31, 33, 35, 52 или 58, «P4; Primary» для объединенного результата любого из типов ВПЧ 51 или 59 и «P5; Primary» для объединенного результата любых типов ВПЧ 39, 56, 66 или 68. Пример условных обозначений теста приведен на рисунке 5.

6 Реактивы и приборы

6.1 Комплект поставки

 Набор теста Xpert HPV Assay (GXHPV-CE-10) содержит достаточно реактивов для обработки 10 проб контроля качества и (или) образцов.

В набор входят:

Картриджи Xpert HPV Assay со встроенными реакционными пробирками	10
• Гранулы 1 и 2 (лиофилизированные)	1 каждого из типов в одном картридже
• Буферный реактив	2,0 мл в одном картридже
Пипетки для переноса (1 мл)	10
Компакт-диск	1
• Файлы с описанием теста (Assay Definition File, ADF)	
• Инструкция по импортированию файла ADF в программное обеспечение GeneXpert	
• Инструкция по применению (вкладыш-инструкция)	

Примечание

Паспорта безопасности вещества (Safety Data Sheet, SDS) можно найти по адресам www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com, на вкладке **ПОДДЕРЖКА (SUPPORT)**.

Примечание

Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использована только плазма крови крупного рогатого скота, взятая в США. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время производства не происходило смешивания сырья с другими материалами животного происхождения.

6.2 Хранение и обращение



- Храните картриджи и реактивы Xpert HPV Assay при температуре от 2 °C до 28 °C.

- Не открывайте крышку картриджа, пока не будете готовы к выполнению анализа. Используйте картридж в течение 30 минут после открывания крышки.



- Не используйте реактивы или картриджи с истекшим сроком годности.
- Не используйте картриджи с вытекшими реактивами.

6.3 Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Цервикальные образцы, собранные в раствор PreservCyt при помощи устройства типа метелки или комбинации эндоцервикальной щетки и шпателя
- Прибор GeneXpert DX или системы GeneXpert Infinity (номер по каталогу зависит от конфигурации): Прибор GeneXpert, компьютер, сканер штрих-кодов и руководство оператора.
 - Для системы GeneXpert Dx: программное обеспечение GeneXpert Dx версии 4.3 или выше
 - Для систем GeneXpert Infinity-80 и Infinity-48s: программное обеспечение Xpertise версии 6.1 или выше
- Соответствующее руководство оператора системы GeneXpert
- Принтер (если необходим принтер, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.)

7 Предупреждения и меры предосторожности

7.1 Общие

- Для диагностического применения *in vitro*.



- В клинических пробах могут присутствовать патогенные микроорганизмы, в том числе вирусы гепатита и иммунодефицита человека (ВИЧ). При работе со всеми биологическими пробами, в том числе и с использованными картриджами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими пробами требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются агентством «Центры по контролю и профилактике заболеваний» США (Centers for Disease Control and Prevention) и Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute).^{6,7}
- Следуйте принятым в учреждении правилам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.
- Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, и они требуют соблюдения стандартных мер предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реактивов следуйте принятым в вашем учреждении правилам защиты окружающей среды. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых национальных или региональных процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе правила не дают ясных указаний по правильному удалению в отходы, биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их удаления.
- С целью избежать контаминации образцов рекомендуется соблюдать принципы надлежащей лабораторной практики и правило замены перчаток перед началом работы с образцом следующего пациента.

7.2 Сбор, транспортировка и хранение образца

- **Сбор образца**

Для использования в тесте Xpert HPV Assay валидированы цервикальные образцы, собранные в раствор PreservCyt. Следуйте инструкции изготовителя по сбору цервикальных образцов.

- **Транспортировка образца**



Цервикальные образцы, собранные в раствор PreservCyt, можно транспортировать при температуре 2 °C – 30 °C. При транспортировке образцов, подлежащих исследованию на ВПЧ, следует соблюдать местные, региональные и федеральные нормативные требования по транспортировке возбудителей.⁸

- **Хранение образца**



Цервикальные образцы, собранные в раствор PreservCyt, могут храниться при температуре 2 °C – 30 °C до шести месяцев после даты сбора.

7.3 Тест/реактив

- Не заменяйте реактивы теста Xpert HPV Assay другими реактивами.
- Не открывайте крышку картриджа Xpert HPV Assay до тех пор, пока не будете готовы внести пробу в процессе выполнения анализа.
- Не используйте картридж, если он упал после извлечения из упаковки.
- Не встряхивайте картридж. Встряхивание или падение картриджа после вскрытия его крышки может привести к получению недействительных результатов.
- Не размещайте этикетку с идентификационным номером образца на крышке картриджа или на этикетке со штрих-кодом.
- Не использовать картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- ② • Каждый одноразовый картридж Xpert HPV Assay применяется для проведения одного теста. Не использовать повторно уже применявшиеся для анализа картриджи.
- Пользуйтесь чистыми лабораторными халатами и перчатками. Перчатки подлежат замене перед обработкой каждой следующей пробы.
- В случае загрязнения рабочей зоны или оборудования пробами или контролями тщательно протрите контаминированный участок разбавленным в соотношении 1:10 хлорсодержащим хозяйственным отбеливателем, а затем 70% этиловым или 70% изопропиловым спиртом. Прежде чем продолжать, протрите рабочие поверхности насухо.

8 Химические опасные факторы^{9,10}

Компоненты не считаются опасными согласно директивам ЕС в отношении классификации и маркировке веществ или смесей или по Согласованной на глобальном уровне системе классификации опасности и маркировки химической продукции.

9 Процедура

Перед началом этих процедур убедитесь, что в приборе GeneXpert работает программное обеспечение GeneXpert Dx версии 4.3 или выше или программное обеспечение Xpertise версии 6.1 или выше.

Важно Начните выполнение анализа в течение 30 минут после открывания крышки картриджа.

9.1 Подготовка картриджа

Для внесения пробы в картридж Xpert HPV Assay:

1. Подготовьте следующие материалы:
 - Картридж теста Xpert HPV.
 - Пипетка для переноса (предоставляется). Линия на пипетке указывает на объем заполнения, равный 1 мл.
 - Надлежащим образом собранная и маркированная исследуемая проба.
- ⚠ 2. Осмотрите подлежащий использованию картридж на предмет отсутствия повреждений. В случае повреждения не используйте его.
3. Откройте крышку картриджа.
4. Перемешайте пробу, осторожно переворачивая флакон с образцом 8–10 раз, или при помощи вихревой мешалки (непрерывно на половинной скорости в течение 5 секунд).
5. Снимите обертку с пипетки для переноса.
6. Откройте крышку флакона с пробой, сожмите головку пипетки для переноса, введите пипетку во флакон и освободите головку так, чтобы пипетка для переноса заполнилась до линии заполнения, соответствующей 1 мл. См. рисунок 1. Убедитесь в заполнении пипетки и отсутствии пузырьков воздуха.

Важно Не допускайте попадания избытка слизи в картридж.

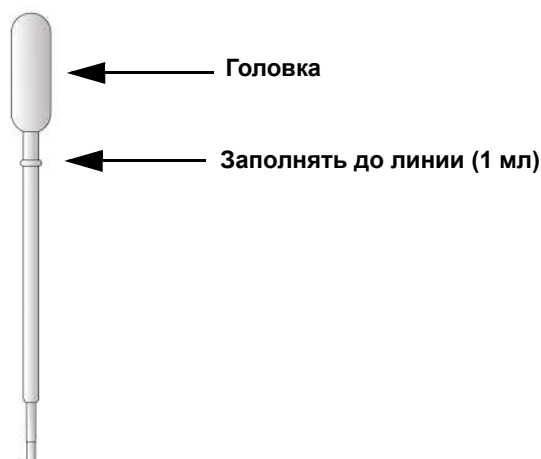


Рисунок 1. Пипетка для переноса и метка заполнения

7. Освободите содержимое пипетки в камеру для пробы картриджа. См. рисунок 2.

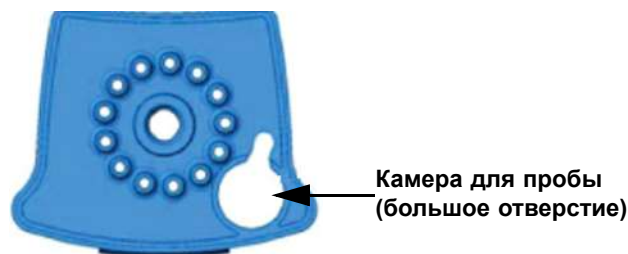


Рисунок 2. Камеры картриджа, вид сверху

8. Закройте крышку картриджа.

9.2 Запуск теста

Важно

Прежде чем начинать анализ, убедитесь, что файлы с описанием теста (Assay Definition File, ADF) Xpert HPV Assay импортированы в программное обеспечение. В данном разделе перечисляются основные действия при выполнении теста. Подробные инструкции приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*.

Примечание

Выполняемые вами действия могут быть другими, если системный администратор изменит установленный по умолчанию порядок работы системы.

В данном разделе описаны требуемые по умолчанию действия для работы с прибором GeneXpert. Подробные инструкции приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемой модели.

1. Включите систему GeneXpert:
 - При использовании GeneXpert Dx вначале следует включить прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически либо после двойного щелчка на ярлыке программного обеспечения GeneXpert Dx, находящегося на рабочем столе Windows®.
 - или
 - При использовании GeneXpert Infinity следует включить прибор. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически либо после двойного щелчка на ярлыке программного обеспечения Xpertise, находящегося на рабочем столе Windows.
2. Войдите в программное обеспечение GeneXpert System под своим именем пользователя и паролем.
3. В окне GeneXpert System выберите пункт **Создать анализ (Create Test)** (для GeneXpert Dx) или выберите пункт **Команды (Orders)**, а затем **Заказать анализ (Order Test)** (для Infinity). Появится окно Создать анализ (Create Test). См. рисунок 3.

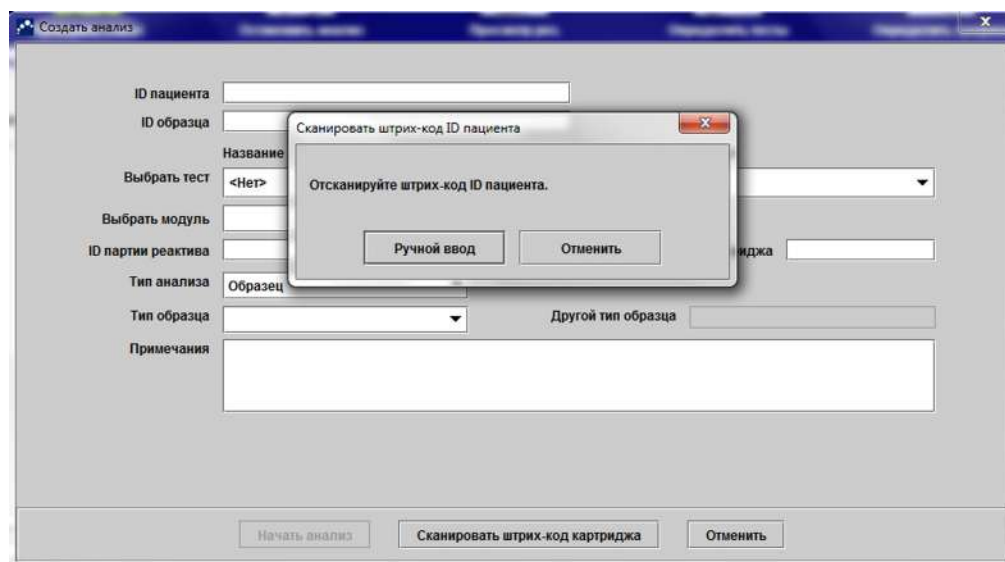


Рисунок 3. Окно «Создать анализ» GeneXpert Dx

4. Отсканируйте или введите вручную идентификационный номер пациента (Patient ID) (необязательно). Удостоверьтесь в правильности введенного вручную идентификационного номера пациента (Patient ID). Идентификационный номер пациента (Patient ID) связывается с результатом теста и указывается в окне «Просмотреть результаты (View Results)».
5. Отсканируйте или введите вручную идентификационный номер образца (Sample ID). Удостоверьтесь в правильности введенного вручную идентификационного номера образца (Sample ID). Идентификационный номер образца (Sample ID) связывается с результатами анализа и указывается в окне «Просмотреть результаты (View Results)» и во всех отчетах. Появится диалоговое окно «Сканировать штрих-код картриджа (Scan Cartridge)».
6. Просканируйте штрих-код на картридже Xpert HPV. Появится окно «Создать анализ (Create Test)». На основе информации, считанной со штрих-кода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «Выбрать тест (Select Assay)», «ID партии реактива (Reagent Lot ID)», «С/Н картриджа (Cartridge S/N)» и «Срок годности (Expiration Date)».

Примечание

Если штрих-код картриджа Xpert HPV Assay не сканируется, повторите анализ с новым картриджем, следуя процедуре, описанной в раздел 14, «Повторный анализ».

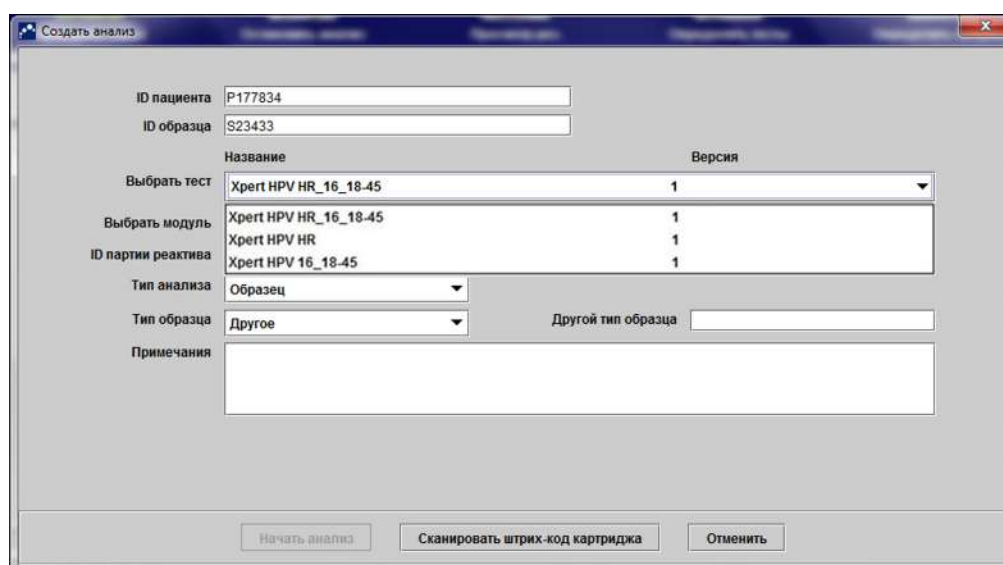


Рисунок 4. Окно GeneXpert Dx «Создать анализ» с выпадающим меню «Выбрать тест»

7. В выпадающем меню **Выбрать тест** (см. рисунок 4) выберите соответствующий файл с описанием теста (Assay Definition File, ADF) для требуемого анализа на ВПЧ.

Тест Xpert HPV Assay можно настроить по умолчанию на один из трех файлов ADF по усмотрению лаборатории. Запрос клинического специалиста на генотипирование ВПЧ 16 или ВПЧ 18/45 может быть реализован при помощи теста на определенный генотип или, при наличии показаний, в рамках теста на все типы ВПЧ высокого онкогенного риска и генотипирование.

- Тест только на ВПЧ высокого онкогенного риска: при выборе скринингового теста **Xpert HPV HR** будет сообщаться общий положительный или отрицательный результат в отношении наличия любого из 14 обнаруженных типов ВПЧ высокого онкогенного риска. Пример показан на рисунок 5.
- Тест на генотипирование ВПЧ 16, 18/45: при выборе теста **Xpert HPV 16_18-45** будет сообщаться положительный или отрицательный результат в отношении:
 - ВПЧ генотипа 16, и
 - ВПЧ генотипа 18 или ВПЧ генотипа 45.

Соответствующие результаты в отношении всех других типов ВПЧ не собираются и не отображаются. Пример показан на рисунок 6.

- Комбинированный тест на ВПЧ высокого онкогенного риска и генотипирование ВПЧ: при выборе теста **Xpert HPV HR_16_18-45** будут сообщаться следующие результаты: положительный или отрицательный результат в отношении наличия ВПЧ типа 16, ВПЧ типов 18/45 и любого из остальных 11 типов ВПЧ высокого онкогенного риска (как «Other HR HPV»). Пример показан на рисунок 7.

Примечание

После начала анализа будут собираться данные по результатам только для выбранного на данном этапе теста. Несобранные данные не поддаются восстановлению.

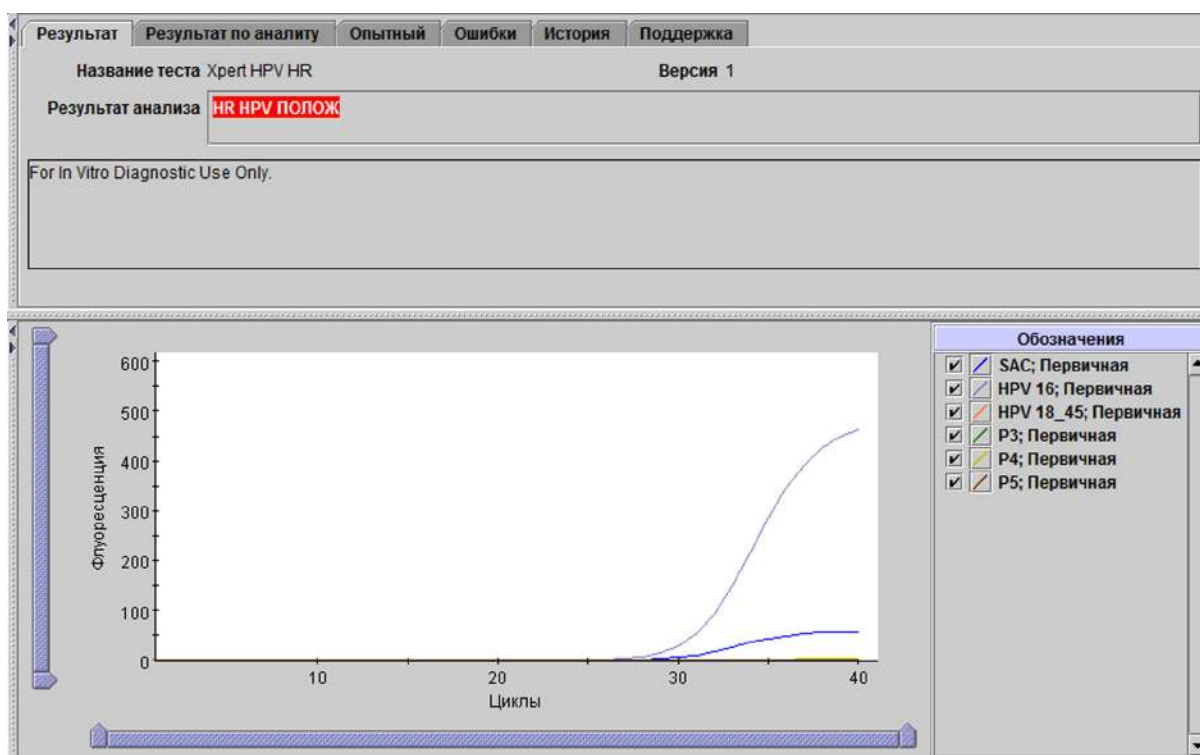


Рисунок 5. Положительный результат анализа на ВПЧ высокого риска

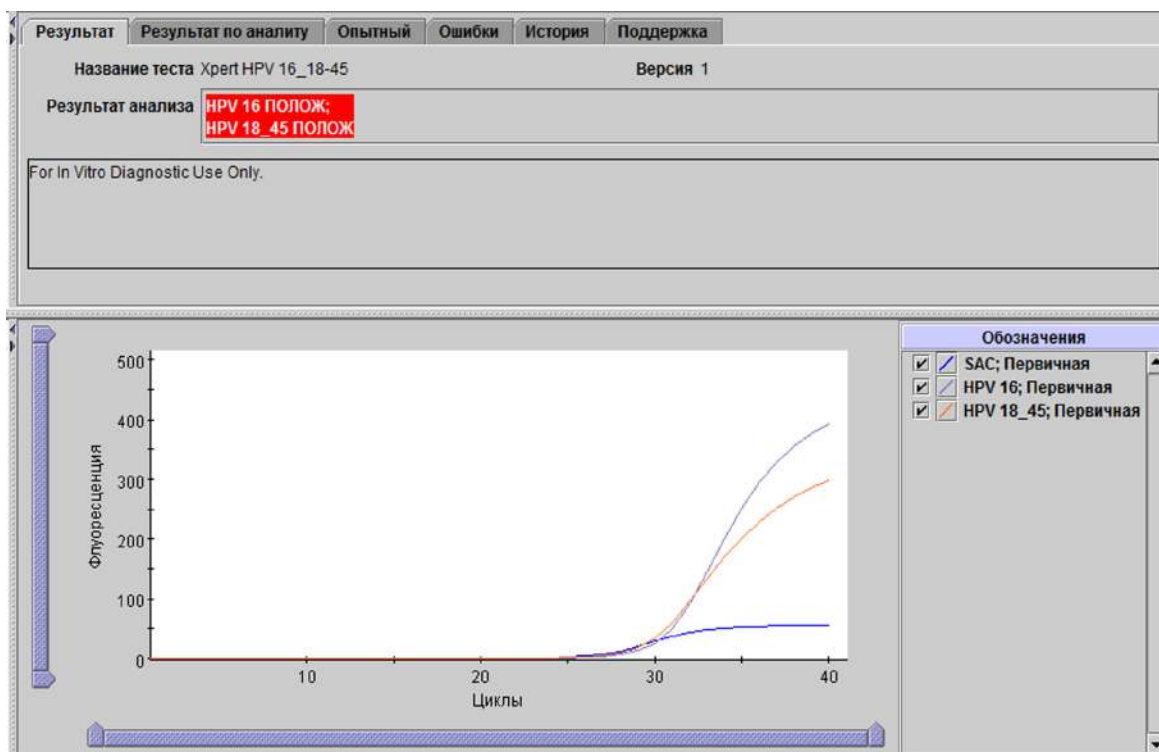


Рисунок 6. Положительный результат анализа на ВПЧ типа 16 и ВПЧ 18/45

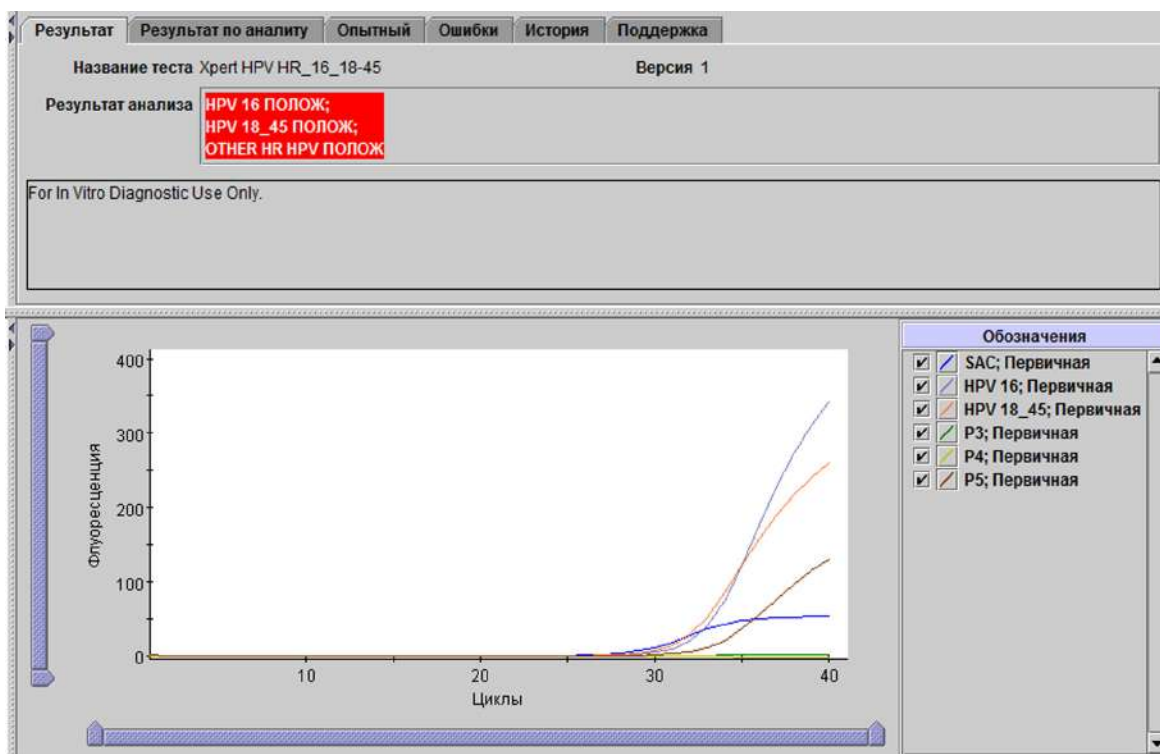


Рисунок 7. Положительный результат анализа на ВПЧ типа 16, ВПЧ 18/45 и другие типы ВПЧ высокого онкогенного риска

8. Выберите пункт **Начать анализ (Start Test)** (для GeneXpert Dx) или **Отправить (Submit)** (для Infinity). При необходимости введите пароль.
9. При использовании системы GeneXpert Infinity поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, будет выполнен анализ, а использованный картридж удален в контейнер для отходов.

или

Для прибора GeneXpert Dx:

- A. Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
- B. Закройте дверцу. После этого начинается анализ, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса анализа индикаторная лампа выключается.
- C. Перед открытием модуля и извлечением картриджа дождитесь разблокирования системой замка дверцы.
- D. Использованные картриджи следует удалять в подходящие контейнеры для сбора отходов образцов согласно стандартным правилам, принятым в вашем учреждении.

Примечание Продолжительность анализа до получения результата составляет примерно 60 минут.

10 Просмотр и печать результатов

Подробные инструкции по просмотру и печати результатов приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*.

11 Контроль качества

CONTROL

В каждом анализе используется контроль качества зондов (Probe Check Control, PCC) и контроль адекватности пробы (Sample Adequacy Control, SAC).

- **Контроль качества зондов (PCC):** перед началом ПЦР прибором GeneXpert измеряется флуоресцентный сигнал от зондов для проверки регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль PCC считается пройденным, если его результат соответствует установленным критериям приемлемости.
- **Контроль адекватности пробы (SAC):** реактивы контроля SAC позволяют определить наличие однокопийного гена человеческого происхождения (одной копии на одну клетку) и отслеживает, содержит ли проба ДНК человека.
- **Внешние контроли:** внешние контроли могут использоваться в порядке, установленном применимыми требованиями местных, региональных и федеральных уполномоченных органов.

12 Интерпретация результатов

Результаты интерпретируются системой GeneXpert на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета и отображаются во вкладке «Результат (Test Result)» окна «Просмотреть результаты (View Results)». Тест Xpert HPV Assay выдает результаты для целевых аналитов (ВПЧ) в соответствии с данными по результатам и их интерпретации, представленными в таблице 1.

Примечание После начала анализа будут собираться данные по результатам только для выбранного теста.

таблица 1. Результаты теста Xpert HPV Assay и их интерпретация

Результат	Интерпретация
HPV HR ПОЛОЖ (HR HPV POS) См. рисунок 9.	Получен положительный результат обнаружения ДНК типов ВПЧ высокого онкогенного риска. <ul style="list-style-type: none"> Значение Ct целевой ДНК типов ВПЧ высокого онкогенного риска находится в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции выше порогового значения. SAC: Не применяется. SAC игнорируется, так как возможна конкуренция амплификации целевой ДНК ВПЧ с данным контролем. PCC: ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
HPV 16 ПОЛОЖ (HPV 16 POS) См. рисунок 11, рисунок 13 и рисунок 16.	Получен положительный результат обнаружения ДНК ВПЧ типа 16. <ul style="list-style-type: none"> Значение Ct целевой ДНК ВПЧ типа 16 находится в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции выше порогового значения. SAC: Не применяется. SAC игнорируется, так как возможна конкуренция амплификации целевой ДНК ВПЧ с данным контролем. PCC: ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
HPV 18_45 ПОЛОЖ (HPV 18_45 POS) См. рисунок 14 и рисунок 16.	Получен положительный результат обнаружения ДНК ВПЧ типов 18/45. <ul style="list-style-type: none"> Значение Ct целевой ДНК ВПЧ типов 18/45 находится в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции выше порогового значения. SAC: Не применяется. SAC игнорируется, так как возможна конкуренция амплификации целевой ДНК ВПЧ с данным контролем. PCC: ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
OTHER HR HPV ПОЛОЖ (OTHER HR HPV POS) См. рисунок 15 и рисунок 16.	Получен положительный результат обнаружения ДНК других типов ВПЧ высокого онкогенного риска. <ul style="list-style-type: none"> Значение Ct целевой ДНК других типов ВПЧ высокого онкогенного риска находится в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции выше порогового значения. SAC: Не применяется. SAC игнорируется, так как возможна конкуренция амплификации целевой ДНК других типов ВПЧ высокого онкогенного риска с данным контролем. PCC: ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
HR HPV ОТРИЦ (HR HPV NEG) См. рисунок 8.	Количество ДНК ВПЧ высокого онкогенного риска ниже предела обнаружения. <ul style="list-style-type: none"> Значение Ct целевой ДНК типов ВПЧ высокого онкогенного риска не находится в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции ниже порогового значения. SAC: ПРОЙДЕН (PASS); в результате ПЦР-амплификации целевой последовательности SAC получено значение Ct в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции выше порогового значения. PCC: ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
HPV 16 ОТРИЦ (HPV 16 NEG) См. рисунок 10, рисунок 12, рисунок 14 и рисунок 15.	Содержание ДНК ВПЧ типа 16 ниже предела обнаружения. <ul style="list-style-type: none"> Значение Ct целевой ДНК ВПЧ типа 16 не находится в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции ниже порогового значения. SAC: ПРОЙДЕН (PASS); в результате ПЦР-амплификации целевой последовательности SAC получено значение Ct в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции выше порогового значения. PCC: ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
HPV 18_45 ОТРИЦ (HPV 18_45 NEG) См. рисунок 10, рисунок 11, рисунок 12, рисунок 13 и рисунок 15.	Содержание ДНК ВПЧ типа 18/45 ниже предела обнаружения. <ul style="list-style-type: none"> Значение Ct целевой ДНК ВПЧ типа 18/45 не находится в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции ниже порогового значения. SAC: ПРОЙДЕН (PASS); в результате ПЦР-амплификации целевой последовательности SAC получено значение Ct в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции выше порогового значения. PCC: ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.

таблица 1. Результаты теста Xpert HPV Assay и их интерпретация (продолжение)

Результат	Интерпретация
OTHER HR HPV ОТРИЦ (OTHER HR HPV NEG) См. рисунок 12, рисунок 13 и рисунок 14.	<p>Содержание ДНК других типов ВПЧ высокого онкогенного риска ниже предела обнаружения.</p> <ul style="list-style-type: none"> Значение Ct целевой ДНК других типов ВПЧ высокого онкогенного риска не находится в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции ниже порогового значения. SAC: ПРОЙДЕН (PASS); в результате ПЦР-амплификации целевой последовательности SAC получено значение Ct в действительном диапазоне, и конечная точка флуоресценции выше порогового значения. PCC: ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) См. рисунок 17.	<p>Невозможно установить наличие или отсутствие целевой ДНК ВПЧ. Повторите анализ в соответствии с указаниями раздел 14, «Повторный анализ».</p> <ul style="list-style-type: none"> SAC: НЕ ПРОЙДЕН (FAIL); Ct SAC не находится в действительном диапазоне и (или) конечная точка флуоресценции ниже порогового значения. PCC: ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
ОШИБКА (ERROR)	<p>Невозможно установить наличие или отсутствие целевой ДНК ВПЧ. Повторите анализ в соответствии с указаниями раздел 14, «Повторный анализ».</p> <ul style="list-style-type: none"> SAC: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) PCC: НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)*; все или одна из проверок в рамках контроля качества зондов не пройдены (-а). <p>* Если проверка качества зондов пройдена, ошибка вызвана выходом за границы приемлемого диапазона предельного максимального давления или сбоем компонента системы.</p>
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	<p>Невозможно установить наличие или отсутствие целевой ДНК ВПЧ. Повторите анализ в соответствии с указаниями раздел 14, «Повторный анализ». Сообщение НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Например, если оператор прервал выполняющийся процесс анализа или произошел перебой в подаче электроэнергии.</p> <ul style="list-style-type: none"> ВПЧ: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) SAC: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) PCC: NA (неприменимо)

Примечание

На снимках экрана в данном разделе показаны примеры использования данных трех тестов. На рисунок 8 и рисунок 9 показано использование теста Xpert HPV HR, на рисунок 10 и рисунок 11 — теста генотипирования Xpert HPV 16_18-45, и на рисунок 12 до рисунок 14 — теста Xpert HPV HR_16_18-45, выбранных в выпадающем меню. (См. раздел 9.2, «Запуск теста»; выпадающее меню показано на рисунок 4).

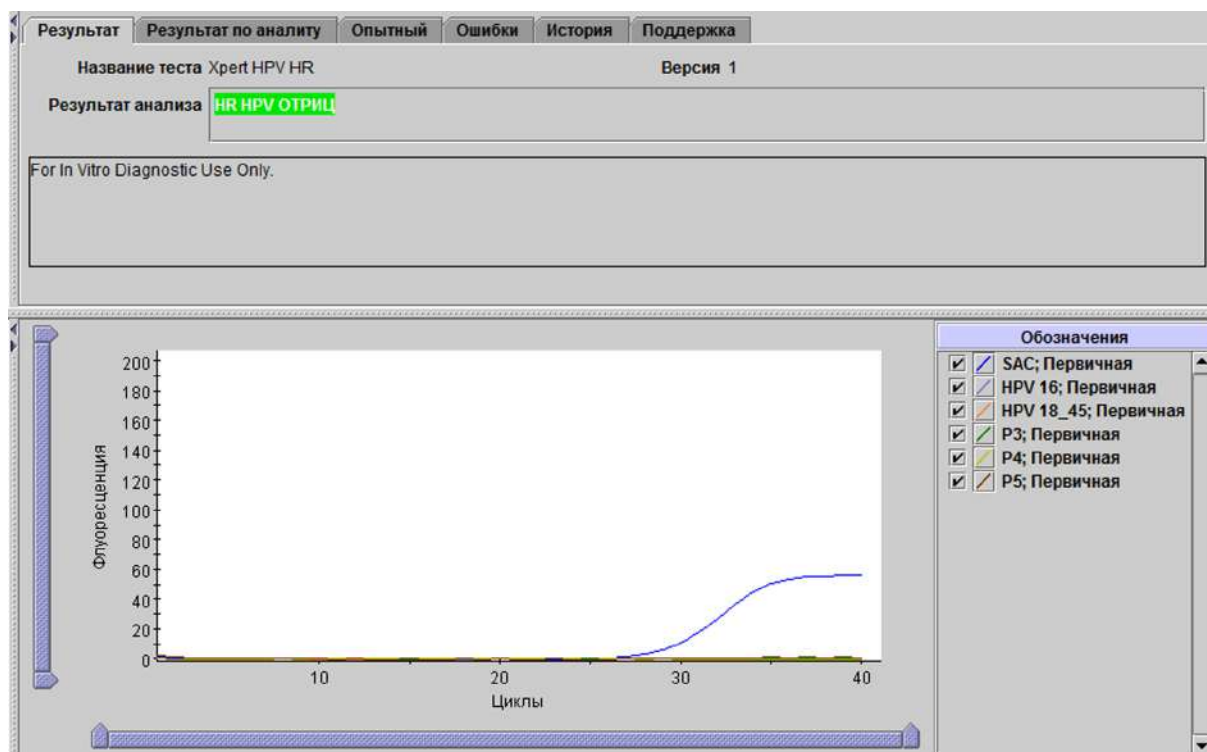


Рисунок 8. Отрицательный результат анализа на ВПЧ высокого онкогенного риска (результаты теста Xpert HPV HR Assay)

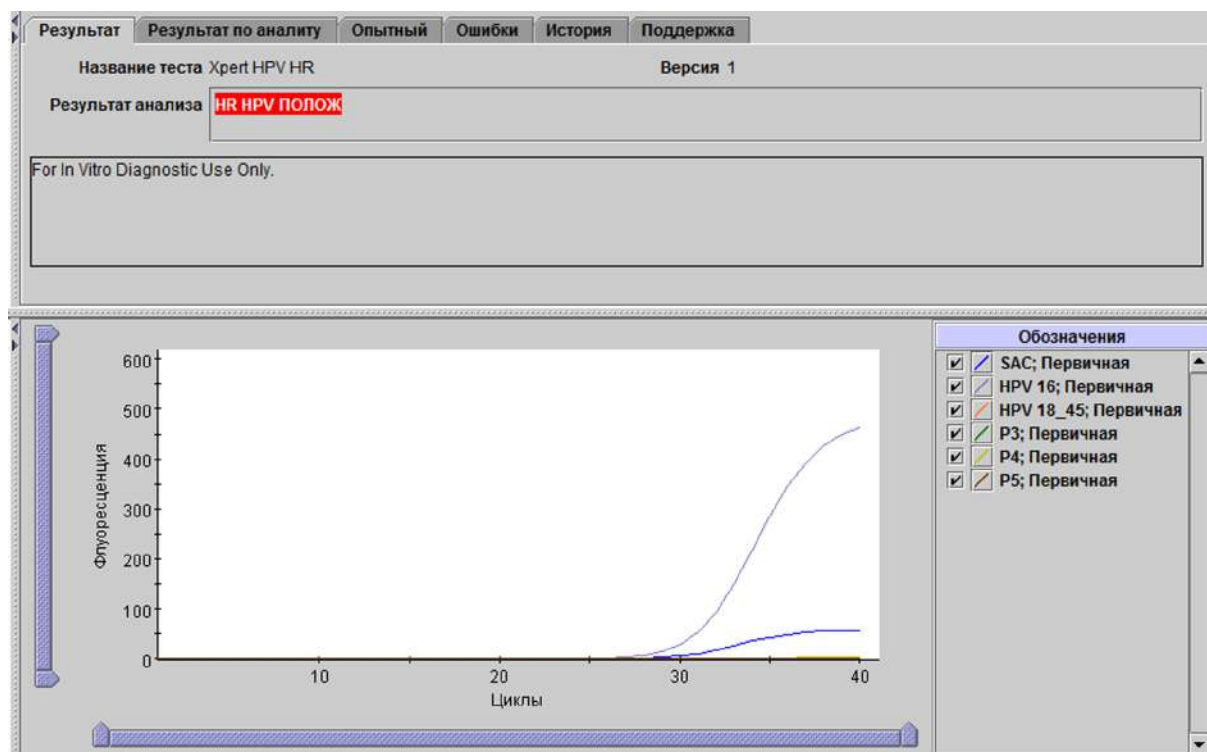


Рисунок 9. Положительный результат анализа на ВПЧ высокого онкогенного риска (результаты теста Xpert HPV HR Assay)

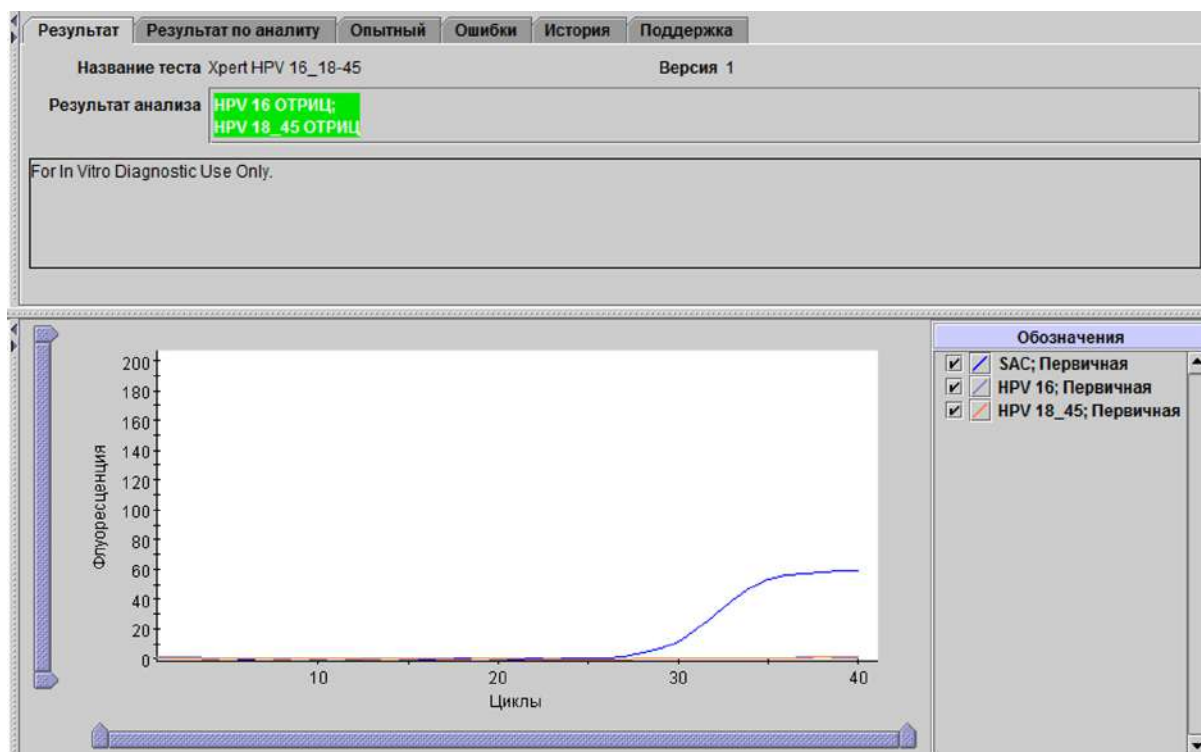


Рисунок 10. Отрицательный результат анализа на ВПЧ типа 16 и ВПЧ 18/45
(результаты теста Xpert HPV 16_18-45 Assay)

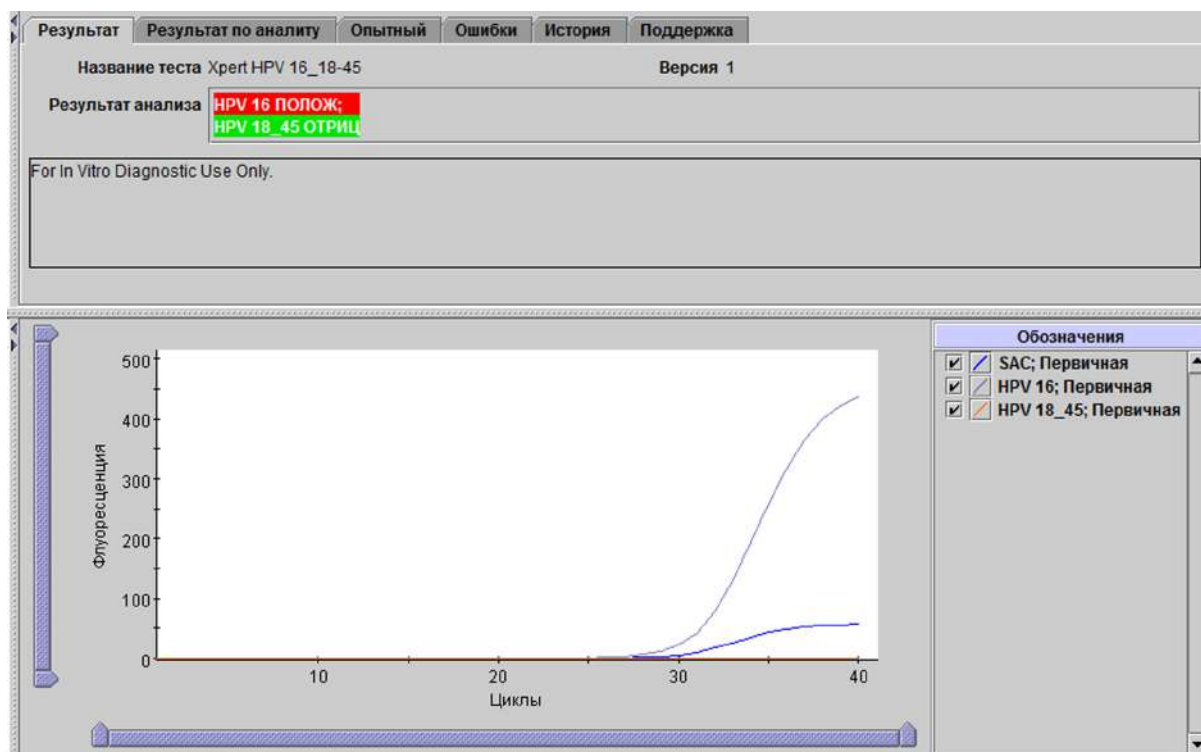


Рисунок 11. Положительный результат анализа на ВПЧ типа 16 и отрицательный — на ВПЧ 18/45
(результаты теста Xpert HPV 16_18-45 Assay)

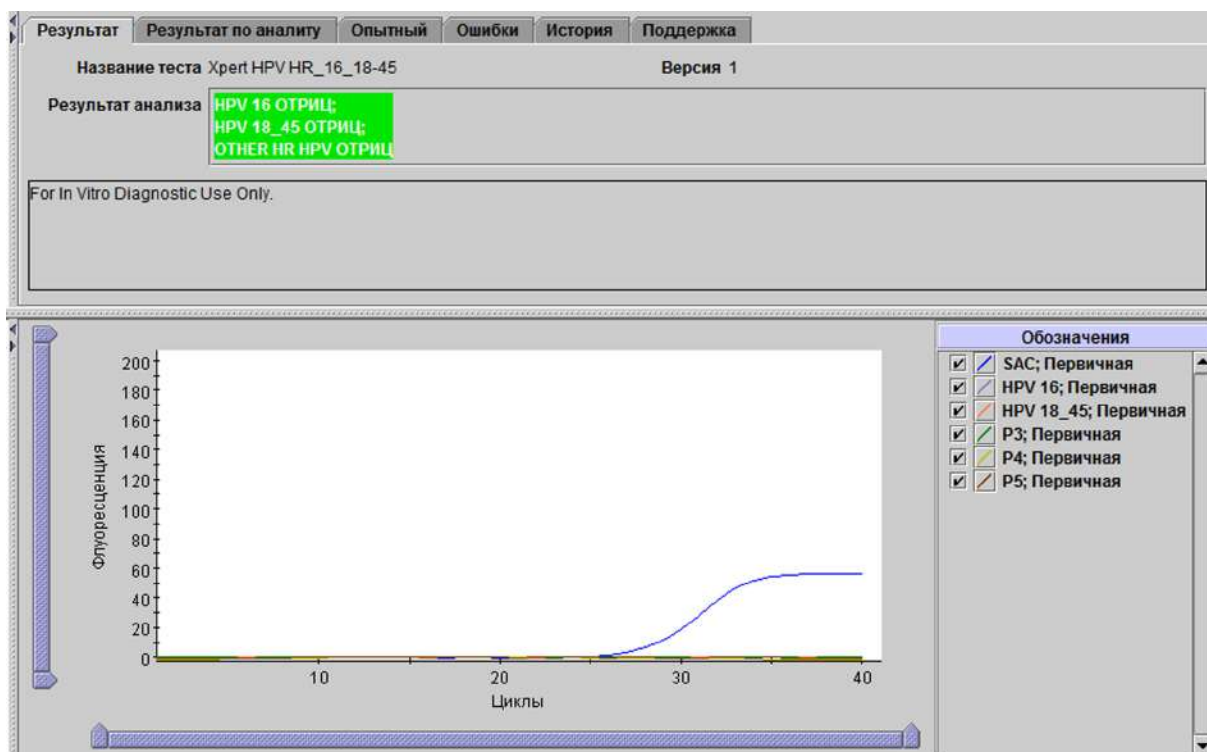


Рисунок 12. Отрицательный результат анализа на ВПЧ типа 16, ВПЧ 18/45 и другие типы ВПЧ высокого онкогенного риска (результаты теста Xpert HPV HR_16_18-45 Assay)

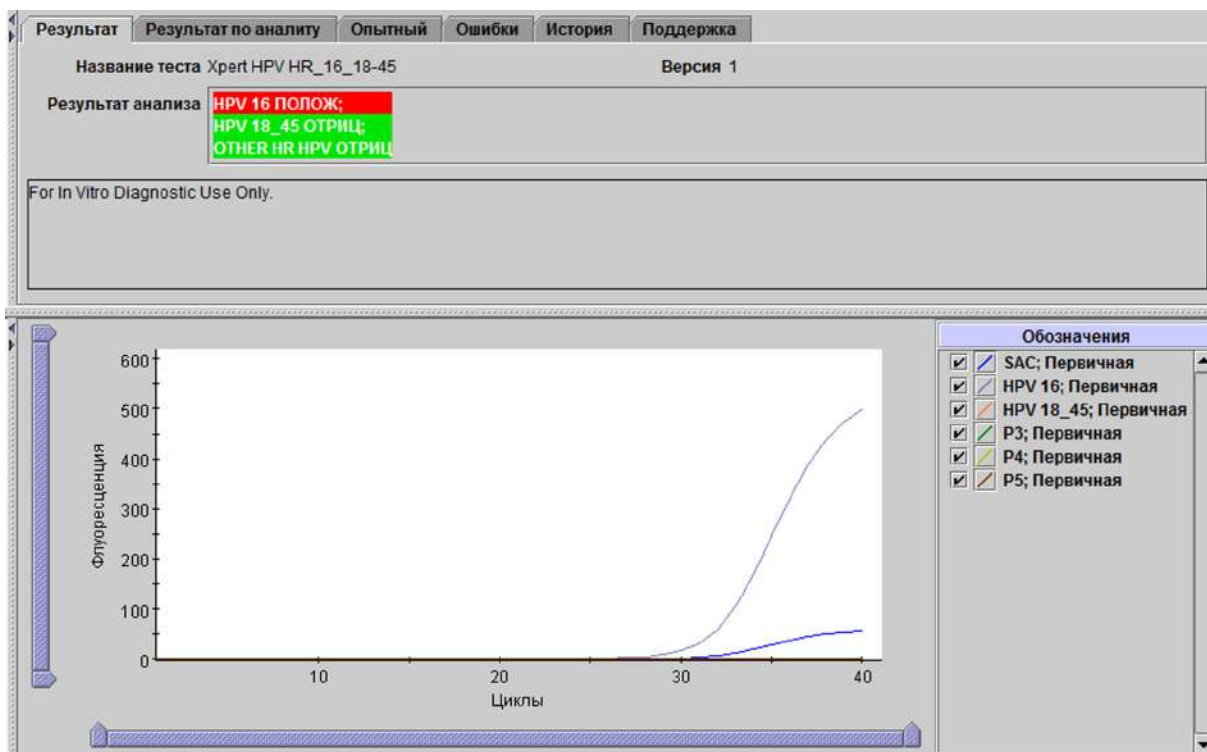


Рисунок 13. Положительный результат анализа на ВПЧ типа 16 и отрицательный — на ВПЧ 18/45 и другие типы ВПЧ высокого онкогенного риска (результаты теста Xpert HPV HR_16_18-45 Assay)

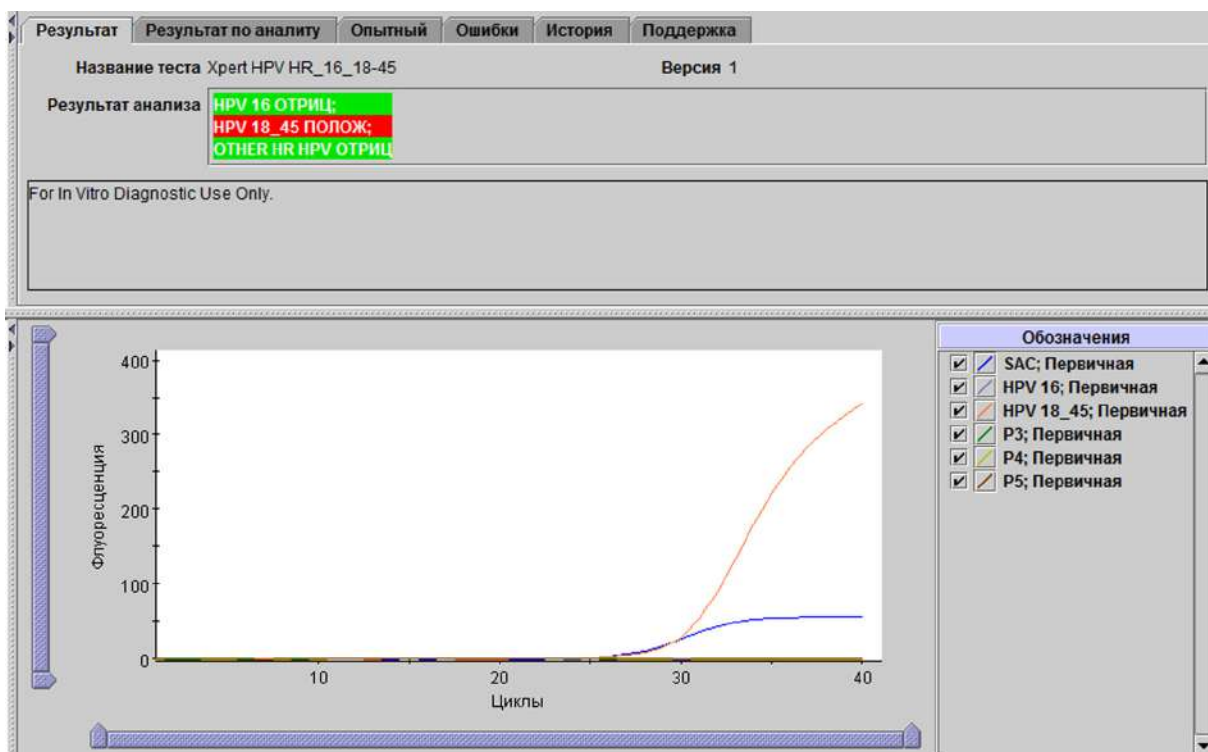


Рисунок 14. Отрицательный результат анализа на ВПЧ типа 16, положительный — на ВПЧ 18/45, отрицательный — на другие типы ВПЧ высокого онкогенного риска (результаты теста Xpert HPV HR_16_18-45 Assay)

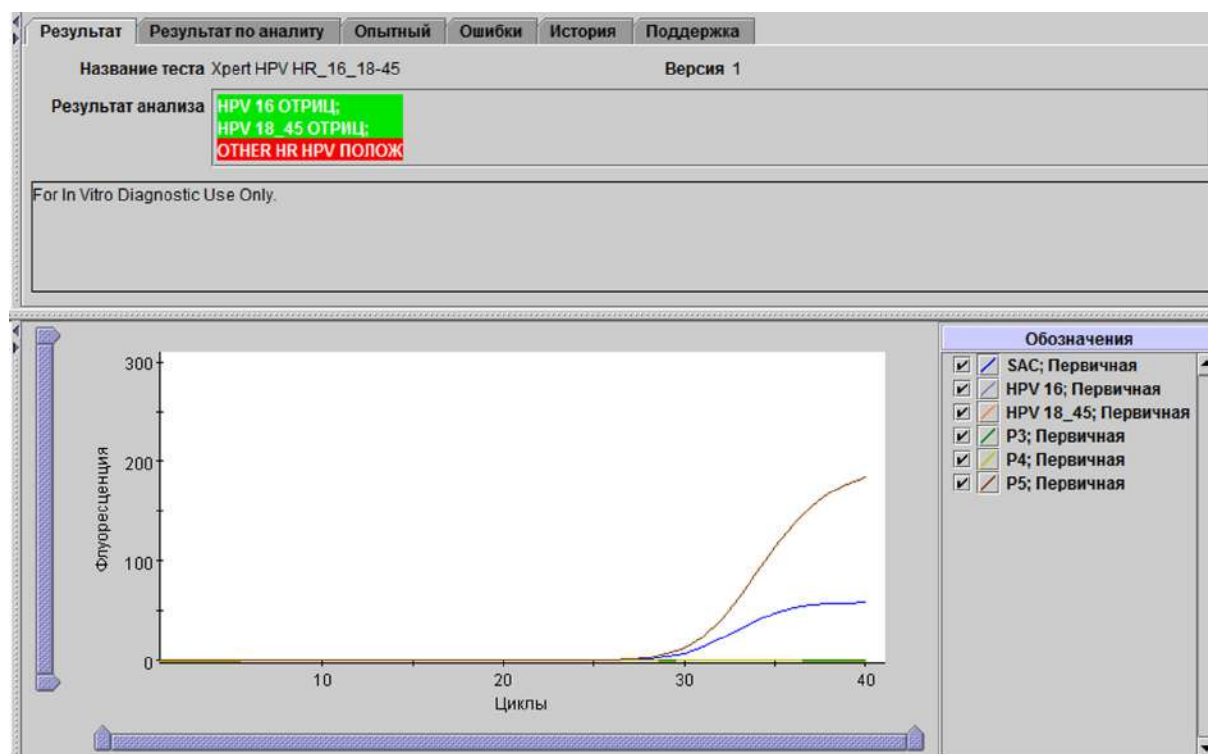


Рисунок 15. Отрицательный результат анализа на ВПЧ типа 16 и ВПЧ 18/45, положительный — на другие типы ВПЧ высокого онкогенного риска (результаты теста Xpert HPV HR_16_18-45 Assay)

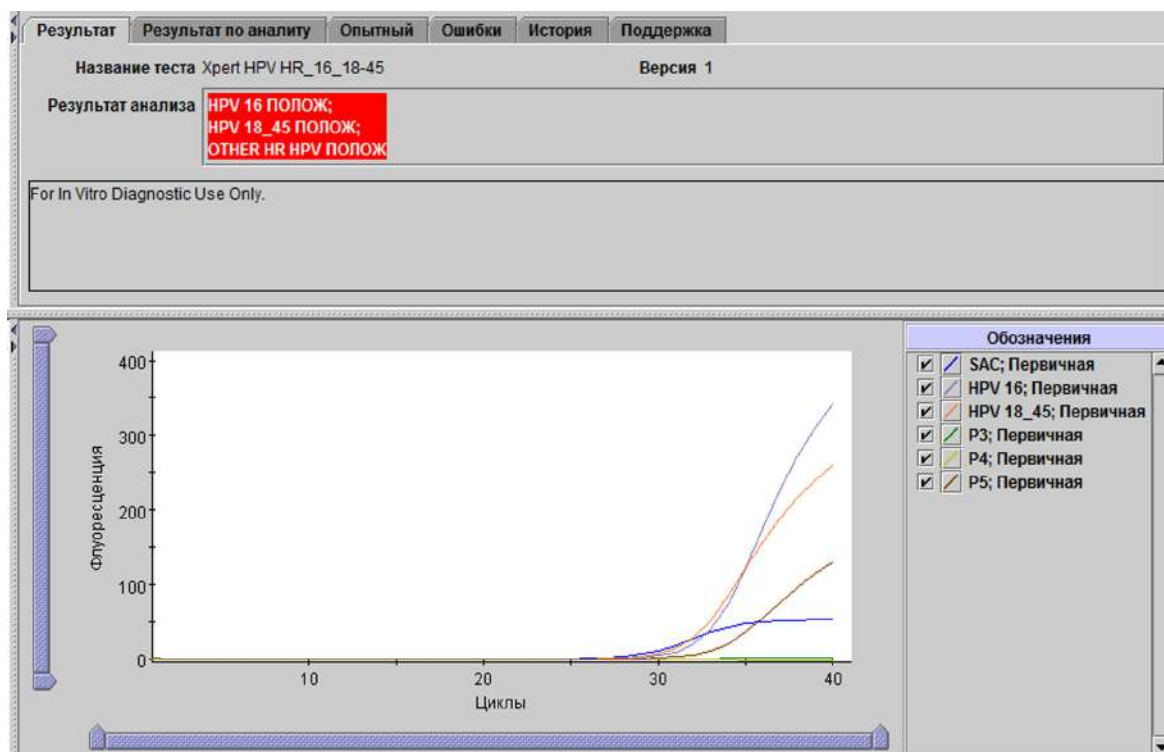


Рисунок 16. Положительный результат анализа на ВПЧ типа 16, ВПЧ 18/45 и другие типы ВПЧ высокого онкогенного риска (результаты теста Xpert HPV HR_16_18-45 Assay)

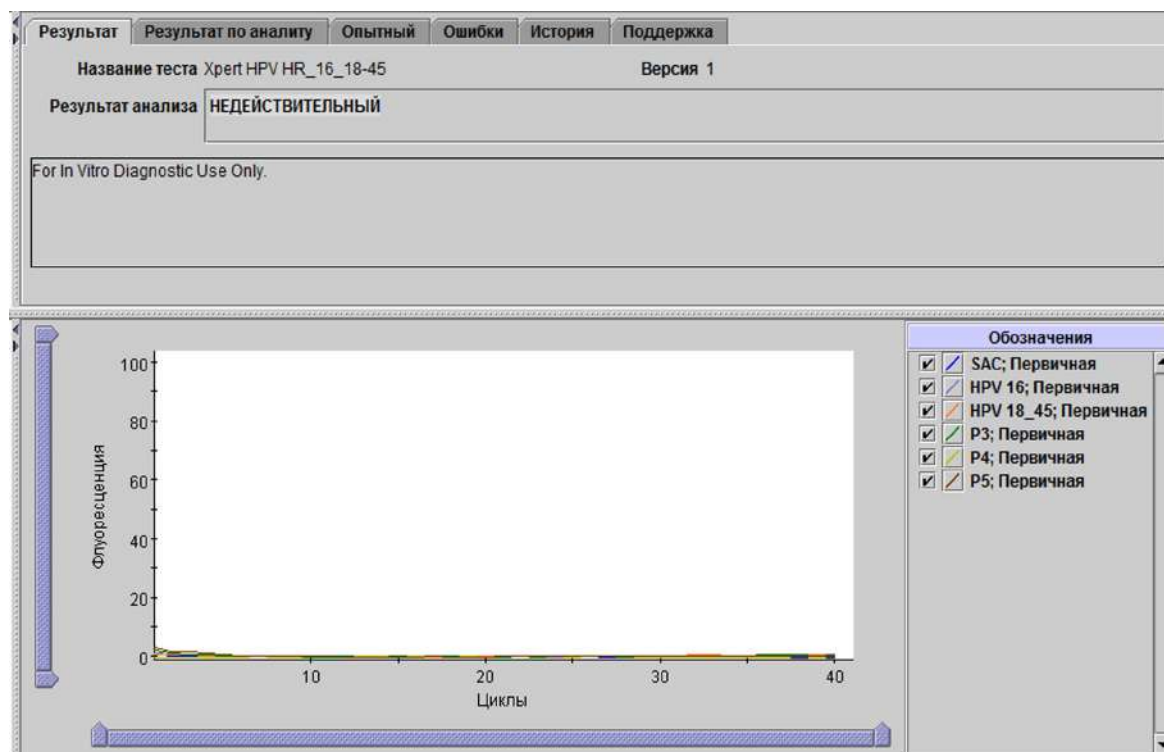


Рисунок 17. Недействительный результат анализа на ВПЧ типа 16, ВПЧ 18/45 и другие типы ВПЧ высокого онкогенного риска (результаты теста Xpert HPV HR_16_18-45 Assay)

13 Причины повторного выполнения теста

При получении одного из следующих результатов повторите анализ в соответствии с указаниями раздел 14, «Повторный анализ».

- Результат **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** означает, что не пройден контроль SAC, процесс обработки пробы прошел ненадлежащим образом, имело место ингибирование ПЦР или проба не соответствовала требованиям.
- Результат **ОШИБКА (ERROR)** означает, что анализ был прерван по следующим возможным причинам: ненадлежащим образом была заполнена реакционная пробирка, выявлено нарушение целостности зонда, превышено максимально допустимое давление, не пройдена проверка качества зонда или обнаружена ошибка позиционирования клапана.
- Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Например, если оператор прервал выполняющийся процесс анализа или произошел перебой в подаче электроэнергии.

14 Повторный анализ

- Повторите анализ с новым картриджем (не используйте картридж повторно). См. раздел 9, «Процедура».
- Возьмите остаток пробы.
- Если оставшийся объем пробы недостаточен, либо повторный анализ вновь выдает результаты **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)**, **ОШИБКА (ERROR)**, или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)**, соберите новую пробу и повторите анализ с новым картриджем.

15 Ограничения

- Так как возможность обнаружения ВПЧ зависит от присутствия в пробе ДНК, достоверность результатов зависит от правильности сбора пробы, обращения с ней и хранения.
- Тест Xpert HPV Assay валидировался только с цервикальными образцами, собранными в раствор PreservCyt при помощи устройства типа метелки или комбинации эндоцервикальной щетки и шпателя.
- Ошибочные результаты анализа могут быть связаны с неправильным сбором образца, технической ошибкой, перемешиванием проб или если количество копий ДНК в образце ниже предела обнаружения данного теста.
- Тест Xpert HPV Assay валидировался только с использованием процедур, рассматриваемых в данном вкладыше-инструкции. Внесение изменений в процедуры может нарушить функциональные характеристики теста.
- Может наблюдаться интерференция в результате присутствия: цельной крови ($\geq 0,25\%$ по объему), моноядерных клеток периферической крови ($\geq 1 \times 10^6$ клеток в 1 мл), *Candida albicans* ($\geq 1 \times 10^8$ клеток в 1 мл), вагинального крема против зуда Vagisil ($\geq 0,25\%$ вес/объем) или увлажняющего геля Vagi Gard ($\geq 0,5\%$ вес/объем).
- Присутствие в пробе плотных вагинальных кремов ($> 0,25\%$ вес/объем) может приводить к прерыванию анализа вследствие повышения давления.
- Влияния других потенциальных вмешивающихся факторов, таких, как вагинальное отделяемое, использование тампонов, спринцеваний и факторов, связанных со сбором образца, не установлено.
- Результаты теста Xpert HPV Assay являются качественными. Невозможно установить каких-либо корреляций между величиной Ct и количеством клеток в инфицированной пробе.
- Функциональные характеристики теста Xpert HPV Assay не оценивались у пациенток младше 18 лет.
- Функциональные характеристики теста Xpert HPV Assay не оценивались у женщин, перенесших гистерэктомию.
- Тест Xpert HPV Assay не валидировался для использования с материалом, полученным путем вагинального соскоба врачом или пациенткой.
- Тест Xpert HPV Assay не оценивался у пациенток, проходящих лечение антимикробными препаратами по поводу таких инфекций, как хламидиоз или гонорея.
- Как при использовании других диагностических тестов, результаты, полученные при помощи теста Xpert HPV Assay, следует интерпретировать с учетом других лабораторных и клинических данных, имеющихся у врача.
- Функциональные характеристики теста Xpert HPV Assay не оценивались у лиц, вакцинированных против ВПЧ.
- Тест Xpert HPV Assay не оценивался в случаях подозреваемого сексуального насилия.
- Распространенность ВПЧ-инфекции в популяции может повлиять на функциональные характеристики теста.
- Пробы, содержащие менее 1 мл раствора PreservCyt, считаются несоответствующими требованиям для использования в тесте Xpert HPV Assay.

- Функциональные характеристики теста Xpert HPV Assay не оценивались при использовании цервикальных образцов, предварительно обработанных для цитологической оценки на других приборах для подготовки образцов, кроме ThinPrep 2000.
- Отрицательные результаты теста Xpert HPV Assay не исключают вероятности цитологических аномалий либо наличия или развития в будущем 2-й или 3-й степени цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN2 или CIN3) либо рака.
- В тесте Xpert HPV Assay выполняется обнаружение региона E6/E7 вирусной ДНК ВПЧ высокого онкогенного риска типов 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 и 68. В данном тесте не обнаруживается регион E6/E7 ДНК ВПЧ низкого онкогенного риска (например, типов 6, 11, 42, 43, 44), так как оценка наличия типов ВПЧ низкого онкогенного риска не имеет клинической пользы при скрининге на рак шейки матки.
- Возможность обнаружения ДНК ВПЧ высокого онкогенного риска зависит от количества копий ДНК, находящихся в образце; возможно влияние методов сбора образца, факторов, связанных с пациентом, стадии заболевания и присутствие субстанций, препятствующих проведению анализа.
- Данное изделие разрешается использовать только персоналу, прошедшему обучение принципам работы с тестом Xpert HPV Assay.
- В данном тесте возможно получение ложноположительных и ложноотрицательных результатов.
- Мутации или полиморфизм регионов присоединения праймеров или зондов могут повлиять на возможность обнаружения целевых типов ВПЧ и приводить к ложноотрицательным результатам.

16 Клинические функциональные характеристики

Клинические функциональные характеристики теста Xpert HPV Assay оценивались в двухэтапном многоцентровом [семь центров в США] проспективном исследовании с участием женщин всех возрастов, направленных для прохождения кольпоскопии. Показанием к кольпоскопии служили отклоняющиеся от нормы результаты одного или более предшествующих обследований по Папаниколу, отклоняющийся от нормы результат обследования по Папаниколу в комбинации с положительным результатом анализа на ВПЧ высокого онкогенного риска или наличие других подозрений на рак шейки матки. У каждой пациентки при проведении кольпоскопии было получено по два образца, приготовленных при помощи прибора ThinPrep (образец А и образец В), для проведения цитологической оценки и сравнения результатов теста Xpert HPV Assay и двух одобренных FDA методов обнаружения ВПЧ высокого онкогенного риска. Процедуры анализа с использованием методов сравнения проводились в соответствии с их вкладышами-инструкциями по исследованиям *in vitro* для США. Образец А обрабатывался для цитологической оценки с последующим анализом при помощи теста Xpert HPV Assay. Образец В резервировался для анализа на ВПЧ указанными методами сравнения и при помощи теста Xpert HPV Assay. Оба образца собирались с использованием комбинации эндоцервикальной щетки и шпателя, в соответствии с вкладышем-инструкцией прибора ThinPrep. У каждой пациентки собирались не менее чем по два образца путем пункционной биопсии, а также выполнялся эндоцервикальный кюретаж, если не удавалось получить убедительные результаты кольпоскопии вследствие недостаточной визуализации зоны перехода плоского эпителия в цилиндрический. Гистологическая оценка материала, полученного при биопсии и эндоцервикальном кюретаже, сначала проводилась в исследовательском центре, согласно стандартам лечения и ведения пациентов. Затем образцы изучались ретроспективно в маскированном режиме тремя специалистами-патогистологами для получения итогового согласительного заключения относительно имеющейся патологии шейки матки. На этапе I в исследование были зачислены 144 пациентки (в возрасте от 20 до 70 лет), в 31 случае имелась цервикальная интраэпителиальная неоплазия 2 степени (CIN2) или более тяжелое состояние. Данные, полученные на этапе I, использовались для расчета клинических пороговых значений для теста в отношении таких конечных точек, как поражения степени $\geq$ CIN2 и $\geq$ CIN3, с построением кривых операционных характеристик диагностического теста (ROC-кривых). На этапе II в исследование были зачислены 564 пациентки (в возрасте от 18 до 75 лет), в 111 случаях имелась цервикальная интраэпителиальная неоплазия 2 степени (CIN2) или более тяжелое состояние. Данные, полученные на этапе II, использовались для уточнения клинических пороговых значений в отношении таких конечных точек, как поражения степени $\geq$ CIN2 и $\geq$ CIN3, с построением кривых операционных характеристик диагностического теста (ROC-кривых). Ретроспективно выполнялся анализ гомогенности с целью подтвердить возможность объединения результатов, полученных на этапах I и II; анализ показал, что возможно объединение результатов, полученных в разных популяциях пациенток и при различных характеристиках образцов.

Клиническая чувствительность и специфичность теста Xpert HPV Assay, метода сравнения 1 и метода сравнения 2 при обнаружении статуса $\geq$ CIN2 по выборке данных этапа II обобщены в таблице 2.

таблица 2. Клинические функциональные характеристики в отношении статуса $\geq$ CIN2^a

	Xpert HPV Assay (образец А) ^b	Xpert HPV Assay (образец В) ^c	Метод сравнения 1 ^d	Метод сравнения 2 ^e
Чувствительность	(99/109) 90,8% (83,8 – 95,5%)	(100/110) 90,9% (83,9 – 95,6%)	(103/111) 92,8% (86,3 – 96,8%)	(96/111) 86,5% (78,7 – 92,2%)
Специфичность	(182/429) 42,4% (37,7 – 47,3%)	(194/446) 43,5% (38,8 – 48,2%)	(178/453) 39,3% (34,8 – 44,0%)	(212/451) 47,0% (42,3 – 51,7%)
Положительная прогностическая значимость	(99/346) 28,6% (23,8 – 33,7%)	(100/352) 28,4% (23,8 – 33,4%)	(103/378) 27,2% (22,8 – 32,0%)	(96/335) 28,7% (23,9 – 33,8%)
Отрицательная прогностическая значимость	(182/192) 94,8% (90,6 – 97,5%)	(194/204) 95,1% (91,2 – 97,6%)	(178/186) 95,7% (91,7 – 98,1%)	(212/227) 93,4% (89,3 – 96,3%)

- a. Точечные оценки соответствуют указанным. 95% доверительные интервалы по точному критерию Фишера.
b. n = 538. Объем 9 образцов был недостаточным для анализа при помощи Xpert; результаты для 17 образцов были сомнительными при первоначальном и повторном анализе.
c. n = 556. Результаты для 8 образцов были сомнительными при первоначальном и повторном анализе.
d. n = 564.
e. n = 562. Результаты для 2 образцов были сомнительными при первоначальном и повторном анализе.

Клиническая чувствительность и специфичность теста Xpert HPV Assay, метода сравнения 1 и метода сравнения 2 при обнаружении статуса $\geq$ CIN3, по выборке данных этапа II, обобщены в таблице 3.

таблица 3. Клинические функциональные характеристики в отношении статуса $\geq$ CIN3^a

	Xpert HPV Assay (образец А) ^b	Xpert HPV Assay (образец В) ^c	Метод сравнения 1 ^d	Метод сравнения 2 ^e
Чувствительность	(68/72) 94,4% (86,4 – 98,5%)	(69/73) 94,5% (86,6 – 98,5%)	(71/74) 95,9% (88,6 – 99,2%)	(64/74) 86,5% (76,5 – 93,3%)
Специфичность	(187/465) 40,2% (35,7 – 44,8%)	(199/482) 41,3% (39,6 – 45,8%)	(182/489) 37,2% (32,9 – 41,7%)	(216/487) 44,4% (39,9 – 48,9%)
Положительная прогностическая значимость	(68/346) 19,7% (15,6 – 24,2%)	(69/352) 19,6% (15,6 – 24,1%)	(71/378) 18,8% (15,0 – 23,1%)	(64/335) 19,1% (15,0 – 23,7%)
Отрицательная прогностическая значимость	(187/191) 97,9% (94,7 – 99,4%)	(199/203) 98,0% (95,0 – 99,5%)	(182/185) 98,4% (95,3 – 99,7%)	(216/226) 95,6% (92,0 – 97,9%)

- a. Точечные оценки соответствуют указанным. 95% доверительные интервалы по точному критерию Фишера.
b. n = 537. Объем 9 образцов был недостаточным для анализа при помощи Xpert; результаты для 17 образцов были сомнительными при первоначальном и повторном анализе; согласительное заключение по статусу CIN2 или CIN3 не было получено для одного образца.
c. n = 555. Результаты для 8 образцов были сомнительными при первоначальном и повторном анализе; согласительное заключение по статусу CIN2 или CIN3 не было получено для одного образца.
d. n = 563. Согласительное заключение по статусу CIN2 или CIN3 не было получено для одного образца.
e. n = 561. Результаты для 2 образцов были сомнительными при первоначальном и повторном анализе; согласительное заключение по статусу CIN2 или CIN3 не было получено для одного образца.

При оценке совпадений результатов в совокупности данных этапа II общее совпадение результатов теста Xpert HPV Assay (образец А и образец В; n = 533 парных сравнений) составило 94,6% (95% ДИ 92,3 – 96,3; коэффициент каппа 0,88). Общее совпадение результатов теста Xpert HPV Assay (образец В) и метода сравнения 1 (n = 556 парных сравнений) составило 92,4% (95% ДИ 89,9 – 94,5; коэффициент каппа 0,83). Общее совпадение результатов теста Xpert HPV Assay (образец В) и метода сравнения 2 (n = 554 парных сравнений) составило 87,4% (95% ДИ 84,3 – 90,0; коэффициент каппа 0,73).

Клинические функциональные характеристики теста Xpert HPV Assay для образцов А и В, собранных для исследования по Папаниколу, с распределением по возрастным группам участниц, устанавливались в отношении статуса $\geq$ CIN2 и $\geq$ CIN3. Клинические функциональные характеристики в отношении статуса $\geq$ CIN2 представлены в таблице 4, а в отношении статуса $\geq$ CIN3 — в таблице 5.

таблица 4. Функциональные характеристики теста Xpert HPV Assay в отношении статуса $\geq$ CIN2, по возрастным группам

Возрастная группа	Образец А для исследования по Папаниколу		Образец В для исследования по Папаниколу	
	Чувствительность (95% ДИ)	Специфичность (95% ДИ)	Чувствительность (95% ДИ)	Специфичность (95% ДИ)
20–29	95,7% (85,5 – 99,5)	25,8% (19,1 – 33,4)	95,7% (85,5 – 99,5)	32,1% (24,9 – 39,9)
30–39	91,7% (77,5 – 98,2)	46,4% (38,3 – 54,6)	94,6% (81,8 – 99,3)	44,3% (36,4 – 52,4)
40–49	88,9% (65,3 – 98,6)	44,8% (32,6 – 57,4)	88,9% (65,3 – 98,6)	45,8% (34,0 – 58,0)
50–59	71,4% (29,0 – 96,3)	62,8% (46,7 – 77,0)	71,4% (29,0 – 96,3)	64,4% (48,8 – 78,1)
≥ 60	100% (2,5 – 100)	33,3% (9,9 – 65,1)	100% (2,5 – 100)	30,8% (9,1 – 61,4)

таблица 5. Функциональные характеристики теста Xpert HPV Assay в отношении статуса $\geq$ CIN3, по возрастным группам

Возрастная группа	Образец А для исследования по Папаниколу		Образец В для исследования по Папаниколу	
	Чувствительность (95% ДИ)	Специфичность (95% ДИ)	Чувствительность (95% ДИ)	Специфичность (95% ДИ)
20–29	96,7% (82,8 – 99,9)	23,8% (17,7 – 30,9)	100% (88,4 – 100)	30,1% (23,4 – 37,5)
30–39	90,9% (70,8 – 98,9)	43,1% (35,5 – 51,0)	91,3% (72,0 – 98,9)	40,7% (33,3 – 48,4)
40–49	92,9% (66,1 – 99,8)	43,7% (31,9 – 56,0)	92,9% (66,1 – 99,8)	44,7% (33,3 – 56,6)
50–59	100% (39,8 – 100)	62,2% (46,5 – 76,2)	100% (39,8 – 100)	63,8% (48,5 – 77,3)
≥ 60	100% (2,5 – 100)	33,3% (9,9 – 65,1)	100% (2,5 – 100)	30,8% (9,1 – 61,4)

Второе клиническое исследование проводилось для оценки функциональных характеристик теста Xpert HPV Assay у пациенток (участвующих в программах скрининга на рак шейки матки), более близких по своим характеристикам к группам пациенток, для которых предназначен данный тест. В данном многоцентровом исследовании по сравнению методов использовался оставшийся материал образцов, собранный в раствор PreservCyt, и полученный у женщин в возрасте 20–60 лет, участвующих в программах скрининга на рак шейки матки, проходивших в Соединенном Королевстве. За редким исключением, все образцы для данного исследования собирались при помощи устройства типа метелки в соответствии с вкладышем-инструкцией прибора ThinPrep. В исследовании применялись такие же методы сравнения; при этом метод 1 считался основным, а метод 2 — дополнительным. Размеры выборок исследования рассчитывались для двух возрастных групп (женщины в возрасте 20–29 лет и 30–60 лет) так, чтобы можно было провести оценку совпадений результатов (с 95% ДИ) и расчет коэффициента каппа (с 95% ДИ) относительно каждого метода сравнения.

В данном исследовании оставшийся объем образца, для которого были получены результаты цитологической оценки, делился на три аликвоты для исследования при помощи теста Xpert HPV Assay и метода сравнения 1. Последовательность взятия аликвот на анализ с использованием теста Xpert HPV Assay и методов сравнения 1 и 2 была рандомизирована таким образом, что около 50% первых аликвот использовались в тесте Xpert HPV, и 50% — в методе сравнения 1. Все третьи аликвоты исследовались методом сравнения 2. Независимо от последовательности взятия аликвот, флакон с образцом перемешивался перед извлечением каждой из аликвот для обеспечения гомогенности образца. Анализ образцов методами сравнения выполнялся согласно соответствующим вкладышам-инструкциям для стран ЕС (описанные в них процедуры были идентичны представленным во вкладышах-инструкциях для США); для анализа результатов использовались пороговые значения из вкладышей-инструкций по исследованиям *in vitro* для США.

Анализ данных исследования показал высокую степень совпадения результатов, полученных с использованием теста Xpert HPV Assay и метода сравнения 1. Это совпадение результатов не зависело от возрастной категории (20–29 лет и 30–60 лет) и результатов цитологической оценки [нормальная картина (отсутствие интраэпителиального поражения или злокачественности [NILM, Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy]) или отклонение от нормы (хуже, чем NILM)]. Сводные данные по совпадению результатов при использовании теста Xpert HPV Assay и метода сравнения 1 показаны в таблице 6.

таблица 6. Совпадение результатов Xpert HPV Assay и метода сравнения 1

Сравнение совпадений	n	Процент совпадений положительных результатов	Процент совпадений отрицательных результатов	Общий процент совпадений	Коэффициент каппа
Всего^а	3438	90,4% (87,9 – 92,6%)	97,1% (96,4 – 97,7%)	95,8% (95,1 – 96,5%)	0,87 (0,85 – 0,89)
Возраст 20–29 лет	829	92,9% (89,7 – 95,4%)	94,9% (92,5 – 96,7%)	94,1% (92,3 – 95,6%)	0,88 (0,84 – 0,91)
Возраст 30–60 лет	2609	87,8% (83,8 – 91,2%)	97,6% (96,9 – 98,2%)	96,4% (95,6 – 97,0%)	0,84 (0,81 – 0,87)
Цитологическая картина в норме	2798	85,3% (81,0 – 88,9%)	97,4% (96,6 – 98,0%)	95,9% (95,1 – 96,6%)	0,81 (0,78 – 0,84)
Цитологическая картина отклоняется от нормы	441	96,7% (93,9 – 98,4%)	90,8% (84,9 – 95,0%)	94,8% (92,3 – 96,7%)	0,88 (0,83 – 0,93)

а. Точечные оценки соответствуют указанным. 95% доверительные интервалы по точному критерию Фишера.

Анализ данных исследования указывает на существенную степень совпадения результатов, полученных при помощи теста Xpert HPV Assay и метода сравнения 2. Это совпадение результатов не зависело от возрастной категории (20–29 лет и 30–60 лет) и результатов цитологической оценки [нормальная картина (отсутствие интраэпителиального поражения или злокачественности [NILM, Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy]) или отклонение от нормы (хуже, чем NILM)]. Сводные данные по совпадению результатов при использовании теста Xpert HPV Assay и метода сравнения 2 показаны в таблице 7.

таблица 7. Совпадение результатов Хpert HPV Assay и метода сравнения 2

Сравнение совпадений	n	Процент совпадений положительных результатов	Процент совпадений отрицательных результатов	Общий процент совпадений	Коэффициент каппа
Всего^а	3313	84,5% (81,5 – 87,1%)	96,3% (95,5 – 97,0%)	93,9% (93,0 – 94,7%)	0,81 (0,79 – 0,84)
Возраст 20–29 лет	835	94,2% (91,1 – 96,5%)	93,1% (90,5 – 95,1%)	93,5% (91,6 – 95,1%)	0,87 (0,83 – 0,90)
Возраст 30–60 лет	2478	75,5% (70,7 – 79,9%)	97,1% (96,3 – 97,8%)	94,0% (93,0 – 94,9%)	0,75 (0,71 – 0,79)
Цитологическая картина в норме	2798	76,9% (72,3 – 82,2%)	96,5% (95,5 – 97,2%)	94,0% (93,0 – 95,0%)	0,73 (0,69 – 0,77)
Цитологическая картина отклоняется от нормы	441	92,5% (89,0 – 95,1%)	93,5% (87,6 – 97,2%)	92,7% (89,9 – 95,0%)	0,83 (0,77 – 0,88)

а. Точечные оценки соответствуют указанным. 95% доверительные интервалы по точному критерию Фишера.

Дополнительно для оценки совпадения результатов анализа в данном исследовании рассматривались доли ВПЧ-положительных образцов по цитологическому статусу. В похожих по размеру выборках образцов, исследованных каждым из трех методов, доли ВПЧ-положительных результатов были сравнимы и в целом соответствовали долям ВПЧ-положительных результатов, наблюдавшимся в других популяциях пациенток с низкой распространенностью заболевания (например, в исследовании ALTS). Сводные данные по доле ВПЧ-положительных результатов для каждого метода согласно цитологическому статусу представлены в таблице 8.

таблица 8. ВПЧ-положительные результаты с распределением по методу и цитологическому статусу

Категория (Соединенное Королевство/США)	Тест Хpert HPV Assay			Метод сравнения 1			Метод сравнения 2		
	Всего	Полож.	% полож.	Всего	Полож.	% полож.	Всего	Полож.	% полож.
Норма / NILM	3003	383	12,8	2968	363	12,2	2882	366	12,7
Пограничное состояние / атипичные клетки плоского эпителия неясного значения (ASC-US)	219	113	51,6	218	110	50,5	221	123	55,7
Дискариоз низкой степени (незначительный) / LSIL^а	151	118	78,1	151	121	80,1	152	129	84,9
Дискариоз высокой степени (умеренный) / HSIL^б	30	30	100,0	29	28	96,6	31	31	100,0
Дискариоз высокой степени (тяжелый) / HSIL	36	36	100,0	36	35	97,2	36	36	100,0
Другое	17	11	64,7	17	11	64,7	17	10	58,8
Всего	3456	691	20,0	3419	668	19,5	3339	695	20,8

а. Плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени
 б. Плоскоклеточное интраэпителиальное поражение высокой степени

Одна подгруппа [249/3538 (7,8%)] образцов, использовавшихся в данном исследовании, перед анализом на ВПЧ с использованием теста Xpert HPV Assay и методов сравнения обрабатывалась безводной уксусной кислотой. В одном центре использовался модифицированный вариант коммерческой методики ([71/1169 (6,1%)]); Cytolyt, Hologic, Crawley, Соединенное Королевство, ЕС), а в двух других центрах процедуры были разработаны лабораториями на основе метода Espostis [153/1170 (13,1%) и 25/1198 (2,1%) соответственно].¹¹⁻¹³ Отмечалась существенная степень совпадения результатов, полученных при помощи теста Xpert HPV Assay и методов сравнения вне зависимости от того, проводилась ли предварительная обработка безводной уксусной кислотой. См. таблице 9 и таблице 10.

таблица 9. Совпадение результатов, полученных при помощи теста Xpert HPV Assay и метода сравнения 1 при предварительной обработке образцов безводной уксусной кислотой^а

Сравнение совпадений	n	Процент совпадений положительных результатов	Процент совпадений отрицательных результатов	Общий процент совпадений	Коэффициент каппа
Обработанные безводной уксусной кислотой	243	94,2% (85,8 – 98,4%)	96,6% (92,6 – 98,7%)	95,9% (92,6 – 98,0%)	0,90 (0,84 – 0,96)
Без обработки	3180	89,7% (87,0 – 92,0%)	97,2% (96,5 – 97,8%)	95,8% (95,0 – 96,5%)	0,86 (0,84 – 0,89)

а. Точечные оценки соответствуют указанным. 95% доверительные интервалы по точному критерию Фишера.

таблица 10. Совпадение результатов, полученных при помощи теста Xpert HPV Assay и метода сравнения 2 при предварительной обработке образцов безводной уксусной кислотой^а

Сравнение совпадений	n	Процент совпадений положительных результатов	Процент совпадений отрицательных результатов	Общий процент совпадений	Коэффициент каппа
Обработанные безводной уксусной кислотой	246	87,7% (97,9 – 94,2%)	94,2% (89,6 – 97,2%)	92,3% (88,2 – 95,3%)	0,82 (0,74 – 0,90)
Без обработки	3067	84,1% (81,0 – 86,9%)	96,5% (95,7 – 97,2%)	94,0% (93,1 – 94,8%)	0,81 (0,78 – 0,84)

а. Точечные оценки соответствуют указанным. 95% доверительные интервалы по точному критерию Фишера.

17 Предел обнаружения

Аналитическая чувствительность или предел обнаружения (LoD) теста Xpert HPV Assay оценивалась с использованием:

1. ВПЧ-положительных клеточных линий: ВПЧ 16 (SiHa), ВПЧ 18 (HeLa S3), ВПЧ 45 (MS751) и ВПЧ 68 (ME180) в растворе PreservCyt, содержащем ВПЧ-отрицательную клеточную линию (C33A), и
2. плазмид, содержащих ДНК 14 целевых подтипов ВПЧ высокого онкогенного риска, в женской геномной ДНК человека.

17.1 ВПЧ-положительные клеточные линии

Для оценки предела обнаружения (LoD) для ВПЧ 16, ВПЧ 18, ВПЧ 45 и ВПЧ 68 не менее шести различных концентраций каждой клеточной линии анализировались каждая в 20 повторах с использованием одной партии реактивов Xpert HPV Assay. Значения пределов обнаружения рассчитывались при помощи пробит-анализа. Заявленные пределы обнаружения подтверждались путем анализа не менее чем в 20 повторах образцов, концентрация которых была разведена до рассчитанных пределов обнаружения, с использованием трех партий реактивов the Xpert HPV Assay. Заявленный предел обнаружения определялся как концентрация, при которой 95% результатов не менее чем 20 повторов на партию реактивов являются положительными (таблица 11).

17.2 Плазмиды, содержащие ДНК ВПЧ

Предел обнаружения (LoD) для плазмид, содержащих ДНК 14 подтипов ВПЧ высокого онкогенного риска, подтверждался минимум в 60 повторах, проводившихся двумя операторами с использованием трех партий реактивов. Анализы выполнялись в разные дни. Для каждой из плазмид, содержащих ДНК ВПЧ, определялся уровень (кол-во копий на реакцию ПЦР), при котором общая доля истинно положительных результатов была статистически выше, чем 95% объединенных результатов для трех партий реактивов (таблица 12).

таблица 11. Предел обнаружения: ВПЧ-положительные клеточные линии

Тип ВПЧ	Порог Ct	Расчетн. предел обнаружения, пробит-анализ (клеток в 1 мл)	95% ДИ	99,9% ДИ	Подтвержд. уровень (клеток в 1 мл)	Партия реактивов	Полож. из 20 повторов	Средн. Ct (целев.)	Станд. откл. Ct (целев.)	Общее средн. Ct (целев.)	Общее станд. откл. Ct (целев.)	% полож.	Общий% полож.
16	40	71	55 – 87	52 – 127	122	Партия 1	19	35,6	1,0	35,3	1,2	95	95,0
						Партия 2	19	35,0	1,4			95	
						Партия 3	19	35,4	1,2			95	
18	40	46	35 – 56	33 – 90	53	Партия 1	20	36,0	1,2	35,6	1,1	100	96,7
						Партия 2	19	35,3	0,9			95	
						Партия 3	19	35,6	1,1			95	
45	40	180	150 – 211	142 – 266	173	Партия 1	19	37,0	1,2	37,1	1,1	95	96,7
						Партия 2	20	37,0	1,2			100	
						Партия 3	19	37,4	0,9			95	
68	38	267	231 – 304	221 – 366	366	Партия 1	20	35,9	0,6	36,0	0,6	100	96,7
						Партия 2	19	35,9	0,7			95	
						Партия 3	20	36,2	0,5			100	

таблица 12. Предел обнаружения: ДНК-плазмиды ВПЧ

Целев. аналит	Исследова- вшийся уровень копий	Коли- чество проб	Ложно- триц.	% полож.	Нижн. предел одно- стор. 95% ДИ	Суммарн. средн. Ct	Станд. откл. Ct	Порого- вое значе- ние	(Средн. порогов. знач.)/ станд. откл.
ВПЧ 35	15	60	0	100	95,1%	33,9	0,426	38	9,6
ВПЧ 39	20	60	0	100	95,1%	36,5	0,352	38	4,3
ВПЧ 45	10	100	0	100	97,0%	35,6	0,533	40	8,3
ВПЧ 51	10	100	0	100	97,0%	35,1	0,587	38	4,9
ВПЧ 52	15	60	0	100	95,1%	34,7	0,543	38	6,1
ВПЧ 56	15	101	0	100	97,1%	36,6	0,525	38	2,7
ВПЧ 58	20	60	0	100	95,1%	33,7	0,412	38	10,4
ВПЧ 59	10	100	0	100	97,0%	35,1	0,618	38	4,7
ВПЧ 66	30	60	0	100	95,1%	36,6	0,33	38	4,2
ВПЧ 68	15	100	0	100	97,0%	36,9	0,445	38	2,5
ВПЧ 16	10	100	0	100	97,0%	35,1	0,559	40	8,8
ВПЧ 18	10	141	1	99,3	96,7%	35,9	0,585	40	7,0
ВПЧ 31	10	100	0	100	97,0%	34,2	0,529	38	7,2
ВПЧ 33	10	100	0	100	97,0%	35,0	0,642	38	4,7

18 Прецизионность и воспроизводимость теста

Прецизионность и воспроизводимость теста Xpert HPV Assay оценивалась в 12-дневном многоцентровом исследовании; по два оператора в каждом из трех центров в маскированном режиме два раза в день выполняли анализ панели прецизионности из 16 компонентов. В панель входили искусственные пробы (культивированные клетки, содержащие различные типы ВПЧ, вместе с культивированными клетками, не содержащими ВПЧ) и объединенные клинические образцы в растворе PreservCyt. В каждом центре использовались различные конфигурации системы GeneXpert (в одном центре — только GX IV, в другом — GX XVI, а в третьем — Infinity 80). В каждом из 4 дней проведения анализов в рамках исследования использовались три партии тестов Cepheid HPV Assay. К концу исследования каждый компонент панели прецизионности использовался в анализе 144 раза. Данные суммировались по каналам теста, которые представлены как «16» для канала «ВПЧ 16», «18/45» для канала «ВПЧ 18 и ВПЧ 45», «31» для канала «ВПЧ 31 и другие типы», «51» для канала «ВПЧ 51 и ВПЧ 59» и «39» для канала «ВПЧ 39 и другие типы». См. таблицы 13 и таблицы 14.

таблица 13. Прецизионность и воспроизводимость теста Xpert HPV Assay:
описание панели и совпадение положительных результатов ^{a,b}

Образец (целевой аналит и относительная концентрация)	Канал теста	Центр 1		Центр 2		Центр 3		Общий% совпадений
		Оп. 1	Оп. 2	Оп. 1	Оп. 2	Оп. 1	Оп. 2	
Искусственный образец (ВПЧ 16, высокоотрицательный)	16	83,3% (20/24)	91,7% (22/24)	87,5% (21/24)	82,6% (19/23)	100% (23/23)	83,3% (20/24)	88,0% (125/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)
Искусственный образец (ВПЧ 16, слабоположительный)	16	87,5% (21/24)	95,7% (22/23)	95,8% (23/24)	100% (23/23)	95,8% (23/24)	95,8% (23/24)	95,1% (135/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
Искусственный образец (ВПЧ 16 умеренноположительный)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	95,8% (23/24)	100% (24/24)	99,3% (140/141)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (141/141)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (141/141)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (141/141)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (21/21)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (141/141)
Искусственный образец (ВПЧ 18 высокоотрицательный)	16	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	18/45	83,3% (20/24)	86,4% (19/22)	79,2% (19/24)	87,5% (21/24)	95,8% (23/24)	91,7% (22/24)	87,3% (124/142)
	31	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)

таблица 13. Прецизионность и воспроизводимость теста Xpert HPV Assay:
описание панели и совпадение положительных результатов (продолжение)^{a,b}

Образец (целевой аналит и относительная концентрация)	Канал теста	Центр 1		Центр 2		Центр 3		Общий% совпадений
		Оп. 1	Оп. 2	Оп. 1	Оп. 2	Оп. 1	Оп. 2	
Искусственный образец (ВПЧ 18, слабоположительный)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	91,7% (22/24)	95,8% (23/24)	91,7% (22/24)	100% (24/24)	96,5% (139/144)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
Искусственный образец (ВПЧ 18 умеренноположительный)	16	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
	18/45	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
	31	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
	51	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
	39	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (141/141)
Искусственный образец (ВПЧ 68, высокоотрицательный)	16	100% (22/22)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (139/139)
	18/45	100% (22/22)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (139/139)
	31	100% (22/22)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (139/139)
	51	100% (22/22)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (139/139)
	39	90,9% (20/22)	95,5% (21/22)	100% (24/24)	91,3% (21/23)	91,7% (22/24)	91,7% (22/24)	93,5% (130/139)
Искусственный образец (ВПЧ 68, слабоположительный)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (141/141)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (141/141)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (141/141)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (141/141)
	39	95,8% (23/24)	95,8% (23/24)	100% (23/23)	87,0% (20/23)	100% (23/23)	100% (24/24)	96,5% (136/141)

таблица 13. Прецизионность и воспроизводимость теста Xpert HPV Assay:
описание панели и совпадение положительных результатов (продолжение)^{a,b}

Образец (целевой аналит и относительная концентрация)	Канал теста	Центр 1		Центр 2		Центр 3		Общий% совпадений
		Оп. 1	Оп. 2	Оп. 1	Оп. 2	Оп. 1	Оп. 2	
Искусственный образец (ВПЧ 68 умеренноположительный)	16	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	18/45	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	99,3% (141/142)
Искусственный образец (ВПЧ 16/45/68 слабоположительный)	16	100% (24/24)	100% (23/23)	95,8% (23/24)	95,8% (23/24)	95,7% (22/23)	100% (24/24)	97,9% (139/142)
	18/45	87,5% (21/24)	95,7% (22/23)	79,2% (19/24)	87,5% (21/24)	95,7% (22/23)	95,8% (23/24)	90,1% (128/142)
	31	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	95,8% (23/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	99,3% (141/142)
	39	91,7% (22/24)	95,7% (22/23)	91,7% (22/24)	91,7% (22/24)	95,7% (22/23)	95,8% (23/24)	93,7% (133/142)
Искусственный образец (отрицательный)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (140/140)
Объединенный клинический образец (ВПЧ 16, ВПЧ 31)	16	50,0% (12/24)	20,8% (5/24)	33,3% (8/24)	18,2% (4/22)	8,3% (2/24)	20,8% (5/24)	25,4% (36/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	20,8% (5/24)	41,7% (10/24)	37,5% (9/24)	50,0% (11/22)	20,8% (5/24)	33,3% (8/24)	33,8% (48/142)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)

таблица 13. Прецизионность и воспроизводимость теста Xpert HPV Assay:
описание панели и совпадение положительных результатов (продолжение)^{a,b}

Образец (целевой аналит и относительная концентрация)	Канал теста	Центр 1		Центр 2		Центр 3		Общий% совпадений
		Оп. 1	Оп. 2	Оп. 1	Оп. 2	Оп. 1	Оп. 2	
Объединенный клинический образец (ВПЧ 18, ВПЧ 39)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	18/45	16,7% (4/24)	20,8% (5/24)	41,7% (10/24)	25,0% (6/24)	12,5% (3/24)	20,8% (5/24)	22,9% (33/144)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (144/144)
	39	4,2% (1/24)	4,2% (1/24)	0% (0/24)	8,3% (2/24)	0% (0/24)	0% (0/24)	2,8% (4/144)
Объединенный клинический образец (ВПЧ 42, ВПЧ 51, ВПЧ 59)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	95,8% (23/24)	100% (24/24)	99,3% (142/143)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (143/143)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (143/143)
	51	25,0% (6/24)	33,3% (8/24)	29,2% (7/24)	34,8% (8/23)	12,5% (3/24)	16,7% (4/24)	25,2% (36/143)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (143/143)
Объединенный клинический образец (ВПЧ 52)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (142/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (142/142)
	31	20,8% (5/24)	41,7% (10/24)	33,3% (8/24)	41,7% (10/24)	8,7% (2/23)	30,4% (7/23)	29,6% (42/142)
	51	95,8% (23/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (23/23)	100% (23/23)	100% (142/142)
Объединенный клинический образец (отрицательный)	16	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	18/45	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	31	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	51	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)
	39	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (22/22)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (142/142)

- a. Совпадение отрицательных и высокоотрицательных результатов представлено как% совпадения отрицательных результатов; совпадение слабо- и умеренноположительных результатов представлено как% совпадения положительных результатов.
- b. В исследовании были получены всего 34 сомнительных результата: ВПЧ 16 высокоотриц. (2); ВПЧ 16 слабоположит. (2); ВПЧ 18 умеренноположит. (3); ВПЧ 18 высокоотриц. (3); ВПЧ 18 умеренноположит. (3); ВПЧ 68 высокоотриц. (5); ВПЧ 68 слабоположит. (3); ВПЧ 68 умеренноположит. (2); ВПЧ 16, 45, 68 (2); СР-отриц. (4); ВПЧ 16, 31 (2); ВПЧ 42, 51, 59 (1); ВПЧ 52 (2); РС-отриц. (2).

таблица 14. Воспроизводимость теста Xpert HPV Assay:
вариабельность Ct для компонентов панели^a

Образец (целевой аналит и относительная концентрация)	Канал теста (определенный аналит)	n ^b	Среднее Ct	Между центрами		Между операторами		Между партиями		В разные дни		В пределах теста		Всего	
				CO	КВ (%)	CO	КВ (%)	CO	КВ (%)	CO	КВ (%)	CO	КВ (%)	CO	КВ (%)
Искусственный образец (ВПЧ 16, высокоотрицательный)	16 (16)	12	38,4	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
Искусственный образец (ВПЧ 16, слабоположительный)	16 (16)	135	35,4	0	0	0,605	1,7	0,425	1,2	0	0	1,003	2,8	1,246	3,5
Искусственный образец (ВПЧ 16 умеренноположительный)	16 (16)	140	34,0	0	0	0,288	0,8	0,211	0,6	0	0	0,972	2,9	1,036	3,0
Искусственный образец (ВПЧ 18, высокоотрицательный)	18/45 (18)	22	39,2	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
Искусственный образец (ВПЧ 18, слабоположительный)	18/45 (18)	139	35,9	0	0	0,408	1,1	0,414	1,2	0	0	1,149	3,2	1,287	3,6
Искусственный образец (ВПЧ 18 умеренноположительный)	18/45 (18)	140	34,1	0	0	0	0	0,430	1,3	0,170	0,5	1,049	3,1	1,146	3,4
Искусственный образец (ВПЧ 68, высокоотрицательный)	39 (68)	116	39,5	0	0	0,811	2,1	0,296	0,7	0	0	1,025	2,6	1,340	3,4
Искусственный образец (ВПЧ 68, слабоположительный)	39 (68)	141	36,2	0,055	0,2	0,362	1,0	0,099	0,3	0,265	0,7	0,703	1,9	0,843	2,3
Искусственный образец (ВПЧ 68 умеренноположительный)	39 (68)	142	34,7	0	0	0,060	0,2	0,196	0,6	0	0	0,789	2,3	0,815	2,3
Искусственный образец (ВПЧ 16/45/68 слабоположительный)	16 (16)	140	35,4	0,042	0,1	0,497	1,4	0,124	0,4	0	0	1,171	3,3	1,278	3,6
	18/45 (45)	133	37,2	0	0	0	0	0,454	1,2	0	0	1,586	4,3	1,649	4,4
	39 (68)	141	36,4	0,056	0,2	0	0	0	0	0,280	0,8	0,876	2,4	0,922	2,5
Искусственный образец (отрицательный) (ГМБС)	Отрицательный (ГМБС)	140	28,9	0,126	0,4	0,323	1,1	0,115	0,4	0	0	0,714	2,5	0,802	2,8
Объединенный клинический образец (ВПЧ 16, ВПЧ 31)	16 (16)	41	37,5	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	31 (31)	97	38,2	0	0	0	0	0,356	0,9	0,453	1,2	1,411	3,7	1,524	4,0
Объединенный клинический образец (ВПЧ 18, ВПЧ 39)	18 (16)	47	39,7	0,643	1,6	0	0	0	0	1,148	2,9	1,388	3,5	1,913	4,8
	39 (39)	61	39,8	0	0	0,741	1,9	0	0	0	0	1,197	3,0	1,408	3,5
Объединенный клинический образец (ВПЧ 42, ВПЧ 51, ВПЧ 59)	Не определен (42)	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
	51 (51)	92	38,9	0,452	1,2	0	0	0	0	0,088	0,2	1,348	3,5	1,424	3,7
	59 (59)	0	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П	Н/П
Объединенный клинический образец (ВПЧ 52)	31 (52)	82	38,2	0,307	0,8	0	0	0	0	0	0	2,738	7,2	2,756	7,2
Объединенный клинический образец (отрицательный) (ГМБС)	Отрицательный (ГМБС)	142	33,3	0,132	0,4	0	0	0,559	1,7	0	0	0,876	2,6	1,047	3,1

a. Н/П указывает на недостаточный объем непрерывных данных для проведения дисперсионного анализа.

b. Результаты с ненулевым значением Ct из 144 повторов.

19 Аналитическая специфичность

Тест Xpert HPV Assay использовался для анализа панели из 47 микроорганизмов, включая бактерии, грибки и вирусы, обычно обнаруживаемые в урогенитальном тракте у женщин, а также 12 вирусов, близкородственных к вирусу папилломы человека. Все микроорганизмы добавлялись в образец ВПЧ-отрицательных клеток (С33А) в растворе PreservCyt и в образец ВПЧ-отрицательных клеток, смешанных с клетками, положительными на ВПЧ типа 16 (SiHa), в концентрации, в три раза превышающей предел обнаружения. Микроорганизмы и концентрации, применявшиеся в анализе, перечислены в таблице 15. Аналитическая специфичность составила 100% и отсутствовало влияние какого-либо из организмов на возможность обнаружения ВПЧ типа 16.

таблица 15. Панель аналитической специфичности

Микроорганизм	Концентрация, применявшаяся в анализе	Микроорганизм	Концентрация, применявшаяся в анализе
<i>Bacteriodes fragilis</i>	1 x 10 ⁸ КОЕ/мл	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1 x 10 ⁸ КОЕ/мл	<i>Streptococcus pyogenes</i>	3 x 10 ⁶ КОЕ/мл
<i>Bifidobacterium breve</i>	1 x 10 ⁸ КОЕ/мл	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Candida albicans</i>	4 x 10 ⁶ клеток в 1 мл	Аденовирус	1 x 10 ⁶ TCID ₅₀ /мл
<i>Candida glabrata</i>	1 x 10 ⁸ клеток в 1 мл	Цитомегаловирус (ЦМВ)	1 x 10 ⁷ копий в 1 мл
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 x 10 ⁸ ЭТ ^а /мл	Вирус Эпштейна — Барра	1 x 10 ⁷ копий в 1 мл
<i>Clostridium perfringens</i>	3 x 10 ⁷ КОЕ/мл	Вирус гепатита В (ВГВ)	3,6 X 10 ⁶ МЕ/мл
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1 x 10 ⁷ клеток в 1 мл	Вирус гепатита С (ВГС)	7,62 X 10 ² МЕ/мл
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 x 10 ⁸ КОЕ/мл	Вирус иммунодефицита человека 1 (ВИЧ-1)	1 x 10 ⁶ копий в 1 мл
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 x 10 ⁸ КОЕ/мл	Вирус простого герпеса 1 (ВПГ-1)	1 x 10 ⁷ копий в 1 мл
<i>Escherichia coli</i>	1 x 10 ⁸ КОЕ/мл	Вирус простого герпеса 2 (ВПГ-2)	1 x 10 ⁷ копий в 1 мл
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	8,7 x 10 ⁷ КОЕ/мл	Вирус папилломы человека (ВПЧ) 6	1,25 x 10 ⁷ копий в 1 мл
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 x 10 ⁸ КОЕ/мл	ВПЧ 11	1,25 x 10 ⁷ копий в 1 мл
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 x 10 ⁷ клеток в 1 мл	ВПЧ 26	1,25 x 10 ⁷ копий в 1 мл
<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 ⁷ клеток в 1 мл	ВПЧ 30	1,25 x 10 ⁷ копий в 1 мл
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	1 x 10 ⁷ клеток в 1 мл	ВПЧ 34	1,25 x 10 ⁷ копий в 1 мл
<i>Lactobacillus jensenii</i>	3 x 10 ⁷ КОЕ/мл	ВПЧ 53	1,25 x 10 ⁷ копий в 1 мл
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 ⁸ КОЕ/мл	ВПЧ 67	1,25 x 10 ⁷ копий в 1 мл
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1 x 10 ⁸ КОЕ/мл	ВПЧ 69	1,25 x 10 ⁷ копий в 1 мл
<i>Proteus mirabilis</i>	1 x 10 ⁸ КОЕ/мл	ВПЧ 70	1,25 x 10 ⁷ копий в 1 мл
<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 ⁸ КОЕ/мл	ВПЧ 73	1,25 x 10 ⁷ копий в 1 мл

таблица 15. Панель аналитической специфичности (продолжение)

Микроорганизм	Концентрация, применявшаяся в анализе	Микроорганизм	Концентрация, применявшаяся в анализе
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 ⁸ КОЕ/мл	ВПЧ 82	1,25 x 10 ⁷ копий в 1 мл
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ⁸ КОЕ/мл	ВПЧ 85	1,25 x 10 ⁷ копий в 1 мл
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3 x 10 ⁶ КОЕ/мл		

а. Элементарные тельца

20 Субстанции, препятствующие проведению анализа

Изучалось влияние на функциональные характеристики теста Хpert HPV Assay эндогенных и экзогенных субстанций, потенциально способных препятствовать проведению анализа. Каждая из субстанций по отдельности разводилась в образце, состоящем из ВПЧ-отрицательных клеток, смешанных с клетками, положительными на ВПЧ типа 16 (SiHa), в концентрации, в три раза превышающей предел обнаружения. Субстанции и применявшиеся в анализе концентрации перечислены в таблице 16. Отмечена интерференция с цельной кровью (0,25% по объему), присутствовавшей в исследуемой пробе, но не с какими-либо другими эндогенными субстанциями в использовавшихся концентрациях. Не наблюдалось интерференции с какими-либо из экзогенных субстанций в использовавшихся концентрациях, за исключением крема вагинального против зуда Vagisil (0,25% вес/объем) и увлажняющего геля Vagi Gard (0,5% вес/объем). Присутствие в исследуемой пробе плотных вагинальных кремов (в концентрации выше 0,25% вес/объем) может приводить к прерыванию анализа вследствие повышения давления.

таблица 16. Субстанции, вероятно препятствующие проведению анализа

Субстанция	Концентрация
Цельная кровь	0,25% по объему
Слизь	0,15% по объему
Лейкоциты (одоядерные клетки периферической крови)	1 x 10 ⁵ клеток в 1 мл
Крем Vagisil против зуда	0,25% вес/объем
Клотримазол вагинальный крем	0,25% вес/объем
Антигеморроидальный крем Препарейшн Эйч	0,25% вес/объем
Миконазол 3	0,25% вес/объем
Система Monistat 1	0,25% вес/объем
Зовиракс крем от «простуды» на губах	0,25% вес/объем
Увлажняющее средство Vagisil	10% вес/объем
Увлажняющий гель Vagi-Gard	0,5% вес/объем
Индивидуальный лубрикант KY Jelly	10% вес/объем
Препарат для спринцевания Yeast Gard	10% по объему
Контрацептивная вагинальная губка Delfen	10% вес/объем
Препарат для спринцевания VH Essentials, содержащий повидон-йод	10% по объему
Свечи дезодорирующие вагинальные Norforms	10% вес/объем

21 Контаминация продуктами предыдущей реакции

Исследование проводилось с целью показать, что применение одноразовых автономных картриджей GeneXpert позволяет предотвратить контаминацию отрицательных проб продуктами предыдущей реакции с использованием высокоположительных проб в том же модуле GeneXpert. Суть данного исследования состояла в том, что сразу после анализа пробы, очень высокоположительной на ВПЧ типа 16 (превышает 95% результатов для образцов, полученных у инфицированных пациентов в популяции, для которой предназначен данный тест), в том же модуле GeneXpert обрабатывалась отрицательная проба. Схема тестирования повторялась 20 раз на двух модулях GeneXpert, всего выполнено 42 анализа (20 положительных и 22 отрицательных проб). Для всех 20 положительных проб получены правильные результаты (положительные в отношении ВПЧ типа 16) и для всех 22 отрицательных проб получены правильные результаты (отрицательные в отношении ВПЧ).

22 Справочная литература

1. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999; 189(1):12-19.
2. Division of STD Prevention (1999). Prevention of genital HPV infection and sequelae: report of an external consultants' meeting. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention. Retrieved January 4, 2012.
3. Kjaer SK, van den Brule AJC, Paull G, et al. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ.* 2002; 325(7364): 572-579.
4. De Sanjose S, Quint WG, Alemany L, et al. 2010. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet.* 2010; 11(11): doi:10.1016/S1470-2045(10)70230-8.
5. Li N, Franceschi S, Howell-Jones R, Snijders PJF, Clifford GM. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer.* 2011;128: 927-935. doi:10.1002/ijc.25396.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. (Refer to latest edition.)
7. CLSI Publication M29. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. (Refer to latest edition.)
8. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 48th Edition. 2007.
9. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC)).
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
11. Coleman DV, Chapman, PA. Preparatory techniques. In *Clinical Cytopathology*. London: Butterworths, 1989: 54.
12. Yam LT, Janckila AJ. A simple method of preparing smears from bloody effusions for cytodiagnosis. *Acta Cytol.* 1983; 27(2):114-118.
13. Bahr GF. Some considerations of basic cell chemistry. In *Compendium on Cytopreparative Techniques*. *Tutorials of Cytology.* 1974; 3rd Edition: 1.

23 Расположение штаб-квартир корпорации Cepheid

Головной офис	Европейский офис
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089-1189 США	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont Франция
Телефон: +1 408.541.4191	Телефон: +33 563 825 300
Факс: +1 408.541.4192	Факс: +33 563 825 301
www.cepheid.com	www.cepheidinternational.com

24 Техническая поддержка

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

Контактная информация

Соединенные Штаты Америки

Телефон: + 1 888 838 3222

Адрес электронной почты:
techsupport@cepheid.com

Франция

Телефон: + 33 563 825 319

Адрес электронной почты:
support@cepheideurope.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Cepheid доступна на нашем веб-сайте:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

25 Условные обозначения

Символ	Значение
	Каталожный номер
	Медицинское устройство для диагностики <i>in vitro</i>
	Не использовать повторно
	Код партии
	Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно
	Изготовитель
	Содержимого достаточно для проведения <n> анализов
	Контроль
	Срок годности
	Марка CE – Европейское соответствие
	Температурные ограничения
	Биологическая опасность
	Предостережение
	Место производства



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Швеция



Xpert® SA Nasal Complete

REF GXSACOMP-CE-10

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert® and Xpert® are trademarks of Cepheid.

Windows® is a trademark of Microsoft Corporation.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT INCLUDES A LIMITED, NON-TRANSFERABLE LICENSE UNDER U.S. PATENT NO. 7,449,289, OWNED BY GENEONM SCIENCES CANADA, INC (A SUBSIDIARY OF BECTON, DICKINSON AND COMPANY), TO USE SUCH PRODUCT FOR HUMAN IVD USE WITH A GENEXPERT® INSTRUMENT. NO RIGHT UNDER U.S. PATENT NO. 7,449,289 IS CONVEYED, EXPRESSLY, BY IMPLICATION, OR BY ESTOPPEL, TO USE THIS PRODUCT FOR ANY OTHER PURPOSE.

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

Copyright © 2020 Cepheid. All rights reserved.

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

Cepheid®, логотип Cepheid, GeneXpert® и Xpert® являются товарными знаками компании Cepheid.

Windows® является товарным знаком Microsoft Corporation.

ПРИБОРИЕТИЕ ЭТОГО ПРОДУКТА ВКЛЮЧАЕТ В СЕБЯ ПОЛУЧЕНИЕ ОГРАНИЧЕННОЙ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЙ ПЕРЕДАЧЕ ЛИЦЕНЗИИ СОГЛАСНО ПАТЕНТУ США № 7,449,289, ОБЛАДАТЕЛЕМ КОТОРОЙ ЯВЛЯЕТСЯ КОМПАНИЯ GENEONM SCIENCES CANADA, INC (ФИЛИАЛ КОМПАНИИ BECTON, DICKINSON AND COMPANY), НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДАННОГО ПРОДУКТА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ IN VITRO (IVD) ЧЕЛОВЕКА С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРИБОРА GENEXPERT®. ПО ПАТЕНТУ № 7,449,289 НЕ ПЕРЕДАЮТСЯ НИКАКИЕ ПРАВА, НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ, НИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА НА ВОЗРАЖЕНИЯ, ОТНОСЯЩИЕСЯ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ДАННОГО ПРОДУКТА С КАКИМИ-ЛИБО ИНЫМИ ЦЕЛЯМИ.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩИМ ВКЛАДЫШЕМ-ИНСТРУКЦИЕЙ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

Copyright © 2020 Cepheid. Все права защищены.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden (Швеция)

Xpert® SA Nasal Complete

Только для диагностического применения *in vitro*

1. Фирменное название

Xpert® SA Nasal Complete

2. Наименование медицинского изделия

Тест Cepheid Xpert SA Nasal Complete

3. Назначение

Тест Cepheid Xpert SA Nasal Complete, выполняемый с использованием системы GeneXpert® Dx, является качественным диагностическим тестом *in vitro*, предназначенным для быстрого определения золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* (SA) и метициллин-резистентного золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* (MRSA) в мазках из носовой полости пациентов, подверженных риску колонизации носовой полости, включая дооперационных пациентов. В данном тесте для определения ДНК MRSA/SA используется автоматизированная технология полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Тест Xpert SA Nasal Complete предназначен для применения в качестве вспомогательного средства профилактики и контроля инфекций MRSA/3C в лечебных учреждениях. Тест Xpert SA Nasal Complete не предназначен ни для диагностики MRSA/3C, ни для ведения или контроля лечения инфекций, вызванных MRSA. Сопутствующее культивирование необходимо только для обнаружения микроорганизмов с целью эпидемиологического типирования или дальнейших исследований чувствительности.

4. Краткие сведения и разъяснения

Золотистый стафилококк *Staphylococcus aureus* (SA) является хорошо изученным оппортунистическим патогеном человека и широко распространенным внутрибольничным патогеном, вызывающим разнообразные заболевания. Некоторые из наиболее серьезных инфекций, вызываемые золотистым стафилококком *S. aureus*, – это бактериемия, пневмония, остеомиелит, острый эндокардит, синдром токсического шока, пищевое отравление, миокардит, перикардит, церебрит, менингит, хориоамнионит, синдром ошпаренной кожи и абсцессы мышц, урогенитального канала, центральной нервной системы и различных внутрибрюшных органов¹.

В начале 1950-х годов возникновение и распространение плазмид, продуцирующих бета-лактамазу, снизило эффективность пенициллина при лечении инфекций, вызванных *S. aureus*. С 1959 г. начал применяться метициллин, синтетический пенициллин. Однако к 1960 г. были выявлены штаммы метициллин-резистентного золотистого стафилококка *S. aureus*. Было определено, что это является результатом приобретения бактерией *S. aureus* гена *mecA*. Сегодня в США MRSA является причиной приблизительно 25% внутрибольничных инфекций, кроме того растет количество сообщений о внебольничных инфекциях MRSA, которые являются причиной значительной заболеваемости и смертности. 33% и 16% относительной смертности относятся к бактериемиям, вызванным MRSA и метициллин-чувствительным *S. aureus* (SA) соответственно. Также вызывает озабоченность рост расходов, связанных с инфекциями MRSA. В попытке ограничить распространение этих инфекций в разнообразных условиях систем здравоохранения разрабатываются и внедряются различные стратегии и правила контроля. Контроль MRSA является приоритетным направлением большинства программ контроля больничных инфекций. Исторически стандартным методом определения MRSA и SA является выращивание культур, которое чрезвычайно трудоемко и может требовать несколько дней до получения определенного результата.²⁻⁷

5. Принципы проведения процедуры

Приборная система GeneXpert автоматизирует и интегрирует процессы очистки образцов, амплификации нуклеиновых кислот и обнаружения целевой последовательности в простых или сложных образцах с использованием тестов ПЦР в режиме реального времени или ПЦР-РВ. Система состоит из прибора, персонального компьютера и предустановленного программного обеспечения для выполнения тестов и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи, которые содержат реактивы для ПЦР и в которых происходит ПЦР. Поскольку картриджи представляют собой замкнутые системы для проведения реакции, исключена перекрестная контаминация между образцами. Полное описание систем представлено в соответствующем руководстве оператора системы GeneXpert Dx или руководстве оператора системы GeneXpert Infinity.

Набор теста Xpert SA Nasal Complete содержит реактивы для определения MRSA и SA, а также контроль для проверки обработки образца (Sample Processing Control, SPC), предназначенный для обеспечения правильной обработки целевых бактерий и выявления ингибиторов реакции ПЦР. Контроль качества зондов (Probe Check Control, PCC) предназначен для проверки правильности регидратации реактивов, заполнения пробирки для проведения ПЦР в картридже, целостности зондов и стабильности красителя.

Праймеры и зонды теста Xpert SA Nasal Complete обеспечивают обнаружение особых последовательностей, кодирующих протеин А стафилококка (*spa*), ген резистентности к метициллину/оксациллину (*mecA*) и стафилококковую хромосомную кассету (*SCCmec*), встроенную в хромосомный сайт attB SA.

6. Реактивы и приборы

6.1 Комплект поставки



Набор теста Xpert SA Nasal Complete содержит реактивы в количестве, достаточном для анализа 10 образцов или образцов контроля качества. В набор входят:

Картриджи теста Xpert SA Nasal Complete со встроенными реакционными пробирками

10

- Гранулы 1, 2 и 3 (лиофилизированные)
- Реактив 1
- Реактив 2 (гидроксид натрия)

1 в одном картридже

3,0 мл в каждом картридже

3,0 мл в каждом картридже

Элюирующий реагент теста Xpert SA Nasal Complete (гуанидинтиоцианат)

10 флаконов x 2,0 мл в каждом наборе

Компакт-диск

1 в каждом наборе

- Файл с описанием теста (assay definition file, ADF)
- Инструкция по импорту файла ADF в программное обеспечение GeneXpert
- Инструкция по применению (вкладыш-инструкция)

Примечание

Паспорта безопасности вещества (Safety Data Sheet, SDS) можно найти по адресам www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com на вкладке **ПОДДЕРЖКА (SUPPORT)**.

Примечание

Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (BCA), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма бычьей крови животных, выращенных в США. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время производства не происходило смешивания сырья с другими материалами животного происхождения.

6.2 Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Система GeneXpert Dx (номер по каталогу варьируется в зависимости от конфигурации): Прибор GeneXpert, компьютер с программным обеспечением собственной разработки GeneXpert версии 4.3 или выше, ручной сканер штрих-кодов и руководство оператора
- Принтер: если необходим принтер, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.
- Вихревая мешалка
- Устройство для сбора образцов Cepheid (900-0370)
- Стерильная марля
- Одноразовые стерильные пипетки для переноса жидкостей

6.3 Приобретаемые материалы, не входящие в комплект поставки

- Контрольные образцы KWIK-STIKs™ производства MicroBiologics, каталожный номер 0158MRSA (*Staphylococcus aureus subsp. aureus* ATCC 700699 (Cepheid GeneXpert)) и каталожный номер 0360MSSA (*Staphylococcus aureus subsp. aureus* ATCC 25923 (Cepheid GeneXpert)) в качестве положительных контролей, а также каталожный номер 0371MSSE (метициллин-чувствительный *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 (Cepheid GeneXpert)) в качестве отрицательного контроля.

7. Предупреждения и меры предосторожности



- Только для диагностического применения *in vitro*.
- При работе со всеми биологическими образцами, в том числе и с использованными картриджами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются агентством Центры по контролю и профилактике заболеваний США (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁹ и Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute).¹⁰
- Следуйте принятым в учреждении процедурам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.
- Тест Xpert SA Nasal Complete не дает результатов, применимых для определения чувствительности. Для проведения теста на чувствительность требуется дополнительное время для культивирования.
- Не заменяйте реактивы теста Xpert SA Nasal Complete другими реактивами.
- Крышку картриджа теста Xpert SA Nasal Complete разрешается открывать только для добавления образца и реактива.
- Не используйте картридж, который упал, или который встряхивали после введения в него образца и реактива.
- Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- Не вскрывайте упаковку картриджа, до тех пор пока не будете готовы начать выполнение теста.
- Не используйте картриджи с вытекшими реактивами.
- ② • Каждый одноразовый картридж теста Xpert SA Nasal Complete применяется для проведения одного теста. Не используйте уже применявшиеся картриджи повторно.
- Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, при обращении с ними необходимо соблюдать стандартные меры предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реактивов следуйте принятым в вашем учреждении правилам защиты окружающей среды. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых национальных или региональных процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе правила не дают ясных указаний по правильному удалению в отходы, биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их удаления.

8. Опасные химические факторы^{11,12}



- Символ опасности ГГС ООН:
- Сигнальное слово: ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ
- **Заявления об опасности ГГС ООН**
 - Вредно при проглатывании
 - Вызывает раздражение кожи
 - Вызывает серьезное раздражение глаз
- **Меры предосторожности ГГС ООН**
 - **Профилактика**
 - После использования тщательно вымыть.
 - Не принимать пищу, не пить и не курить в процессе использования этого продукта.
 - Избегать попадания в окружающую среду.
 - Пользоваться защитными перчатками, защитной одеждой, средствами защиты глаз/лица.
 - **Реагирование**
 - ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды с мылом.
 - Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед повторным использованием.

- Требуется специальное лечение. См. дополнительную информацию о первой помощи.
- При раздражении кожи: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
- ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь, и если это легко сделать. Продолжить промывание.
- Если раздражение глаз не проходит: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
- ПРИ ПРИЕМЕ ВНУТРЬ: При плохом самочувствии немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту/терапевту.
- Прополоскать рот
- **Хранение/удаление в отходы**
 - Удаление в отходы содержимого и/или тары должно осуществляться в соответствии с местными, региональными, государственными и/или международными нормами.

9. Хранение и обращение



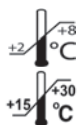
- Храните картриджи и реактивы теста Xpert SA Nasal Complete при температуре 2–28 °C.
- Не используйте реактивы или картриджи с истекшим сроком годности.
- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение теста.
- Не используйте помутневший или изменивший цвет реактив.

10. Сбор, транспортировка и хранение образцов

Для получения надлежащего образца тщательно следуйте инструкциям данного раздела.

1. Извлеките устройство для сбора образцов Cepheid, отделив наружную упаковку.
2. Увлажните кончик каждого зонда-тампона 2-3 каплями стерильного физиологического раствора или используйте сухой зонд-тампон.
3. Попросите пациента наклонить голову назад. Введите зонды-тампоны приблизительно на 1-2 см в первую ноздрю.
4. Поверните зонды-тампоны внутри ноздри 15 раз. Слегка надавите пальцем снаружи носа, чтобы обеспечить хороший контакт между тампоном и внутренней поверхностью носа.
5. Используя те же самые зонды-тампоны, повторите процедуру для второй ноздри, стараясь не касаться ничего кроме внутренней поверхности носовой полости.
6. Извлеките пластмассовую транспортировочную пробирку. Открутите колпачок пробирки и выбросьте его в отходы. Поместите зонды-тампоны в пластмассовую транспортировочную пробирку. Зонды-тампоны необходимо вставлять в пробирку до упора, пока они не достигнут верха губки на дне пробирки. Проследите за тем, чтобы красный колпачок был плотно затянут.

Примечание Зонды-тампоны должны все время соприкасаться с красным колпачком.



7. Промаркируйте пластмассовую транспортировочную пробирку, указав на ней идентификатор пациента, и отправьте ее для проведения тестов GeneXpert.
8. Храните образцы зондов-тампонов при комнатной температуре (15–30 °C), если они будут обработаны в течение 24 часов; в противном случае храните зонды-тампоны при 2–8 °C. Образцы на зондах-тампонах стабильны 5 суток при температуре хранения 2–8 °C.

11. Процедура

11.1 Подготовка картриджа

Важно!

Тестирование следует начать не позднее чем в пределах 15 минут после того, как образец был помещен в картридж.

Порядок внесения образца в картридж:

1. Извлеките картридж и элюирующий реактив из упаковки.

2. Извлеките зонд-тампон из транспортировочного контейнера.

Примечание Для минимизации риска контаминации используйте стерильную марлю.

3. Вставьте зонд-тампон в пробирку, содержащую элюирующий реагент и отломите зонд-тампон.
4. Закройте крышку элюирующего реактива колпачком и перемешайте содержимое на вихревой мешалке при высокой скорости в течение 10 секунд.
5. Откройте крышку картриджа. При помощи стерильной пипетки для переноса (не входит в комплект поставки), внесите все содержимое емкости с элюирующим реагентом в камеру «S» картриджа теста Xpert SA Nasal Complete. См. Рисунок 1.
6. Закройте крышку картриджа.

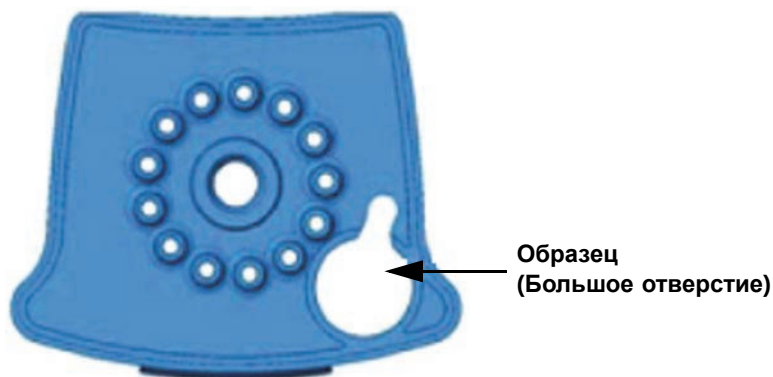


Рисунок 1. Картридж теста Xpert SA Nasal Complete (вид сверху)

11.2 Запуск теста

Важно!

Прежде чем запускать тест, проследите за тем, чтобы файл с описанием теста Xpert SA Nasal Complete был импортирован в программное обеспечение. В данном разделе перечислены операции, выполняемые в процессе работы с инструментальной системой GeneXpert при использовании автоматической программы. Подробные инструкции приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert DX* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*.

Примечание

Выполняемые вами действия могут быть другими, если системный администратор изменит установленную по умолчанию рабочую последовательность.

1. Включите приборную систему GeneXpert:
 - При использовании прибора GeneXpert Dx вначале следует включить сам прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически, или же может потребоваться двойной щелчок по ярлыку программного обеспечения GeneXpert Dx на рабочем столе Windows®.
 - или
 - При использовании прибора GeneXpert Infinity следует включить прибор. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически либо после двойного щелчка по ярлыку программного обеспечения Xpertise на рабочем столе Windows®.
2. Войдите в программное обеспечение приборной системы GeneXpert, используя свое имя пользователя и пароль.
3. В окне системы GeneXpert щелкните «Создать тест» (**Create Test**) (для GeneXpert Dx) или «Заказы» (**Orders**), а затем «Заказать тест» (**Order Test**) (для Infinity). Откроется окно «Создать тест» (**Create Test**).
4. Отсканируйте «ID пациента» (Patient ID) (не обязательно). Если вводится «ID пациента» (Patient ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID пациента» (Patient ID) связывается с результатом теста и указывается в окне «Просмотреть результаты» (**View Results**).
5. Отсканируйте или введите вручную «ID образца» (Sample ID). Если вводится «ID образца» (Sample ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID образца» (Sample ID) связывается с результатами теста и указывается в окне «Просмотреть результаты» (**View Results**).

6. Отсканируйте штрих-код на картридже Xpert SA Nasal Complete. На основе информации, считанной со штрих-кода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «Выбрать тест» (Select Assay), «ID партии реактива» (Reagent Lot ID), «C/Н картриджа» (Cartridge SN) и «Срок годности» (Expiration Date).

Примечание Если штрих-код картриджа теста SA Nasal Complete не сканируется, повторите тест с новым картриджем.

7. Щелкните **«Начать тест» (Start Test)** (для GeneXpert Dx) или **«Отправить» (Submit)** (для Infinity). В открывшемся на экране диалоговом окне введите пароль.
8. При использовании системы GeneXpert Infinity поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, будет выполнен тест, а использованный картридж будет удален в контейнер для отходов.

или

Для прибора GeneXpert Dx:

- a. Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
- b. Закройте дверцу. После этого начинается тест, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса теста индикаторная лампа выключается.
- c. Перед открытием модуля и извлечением картриджа дождитесь разблокирования системой замка дверцы.
- d. Использованные картриджи следует удалять в подходящие контейнеры для сбора отходов образцов согласно стандартным правилам, принятым в вашем учреждении.

11.3 Просмотр и печать результатов

Подробные инструкции по просмотру и печати результатов приводятся в соответствующем *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*.

12. Контроль качества

CONTROL

В каждый тест входит контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC) и контроль качества зондов (Probe Check Control, PCC).

- **Контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC)** – Обеспечивает правильную обработку образца. SPC содержит споры *Bacillus globigii* в форме сухой лепешки из спор; они имеются в каждом картридже для подтверждения правильности обработки образца в тесте Xpert SA Nasal Complete. SPC позволяет верифицировать лизис *Staphylococcus aureus* (если они присутствуют в образце) и убедиться в правильности обработки образца. Кроме того, этот контроль позволяет выявить ингибирование реакции при использовании метода ПЦР в реальном времени. Результат для контроля SPC должен быть положительным при отрицательном результате теста образца и может быть как положительным, так и отрицательным при положительном результате теста образца. Контроль SPC считается пройденным, если его результат соответствует валидированным критериям приемлемости.
- **Контроль проверки зондов (Probe Check Control, PCC)** – Перед запуском реакции ПЦР система GeneXpert измеряет флуоресцентный сигнал от зондов для отслеживания регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль PCC считается пройденным, если его результат соответствует заданным критериям приемлемости.
- **Внешние контроли** – Эталонные образцы KWIK-STIK (MicroBioLogics, каталожный номер 0158 MRSA и каталожный номер 0360 SA в качестве положительного контроля, а также каталожный номер 0371 MSSE в качестве отрицательного контроля) могут использоваться для обучения, тестирования профессиональных навыков и проведения внешнего контроля качества в системе GeneXpert. Внешние контроли могут использоваться в порядке, установленном соответствующими требованиями местных, региональных и федеральных уполномоченных органов. При использовании внешнего контроля следуйте приведенным ниже инструкциям компании MicroBioLogics:
 1. Разорвав мешок по надрезу, извлеките эталонный образец KWIK-STIK.
 2. Зажмите низ ампулы в колпачке, чтобы высвободить гидратирующую жидкость.
 3. Удерживая их в вертикальном положении, постучите, чтобы облегчить перетекание жидкости через стержень на дно емкости содержащей гранулу.
 4. Для облегчения растворения гранулы с лиофилизированными клетками раздавите гранулу и осторожно сожмите нижнюю камеру.
 5. Откройте упаковку KWIK-STIK, чтобы извлечь зонд-тампон, и вставьте зонд-тампон в пробирку, содержащую элюирующий реактив (черный колпачок).
 6. Теперь зонд-тампон KWIK-STIK готов для проведения теста SA Nasal Complete.

13. Интерпретация результатов

Результаты интерпретируются системой GeneXpert на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета; они отображаются в окне «Просмотреть результаты» (View Results). Возможны следующие результаты:

Таблица 1. Результаты теста Xpert SA Nasal Complete и их интерпретация

Результат	Интерпретация
MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE) (Рисунок 2)	Обнаружена целевая последовательность ДНК MRSA; обнаружена целевая последовательность ДНК SA. <ul style="list-style-type: none"> MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE) – Все целевые последовательности MRSA (<i>spa</i>, <i>mecA</i> и <i>SCCmec</i>) обладают Ct в пределах допустимого диапазона, и конечная точка находится выше установленного предела. SPC – Н/П (неприменимо) (NA (not applicable)); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей MRSA может конкурировать с этим контролем. Контроль зондов – ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE) (Рисунок 3)	Целевая последовательность ДНК MRSA не обнаружена; обнаружена целевая последовательность ДНК SA. <ul style="list-style-type: none"> SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE) – Ct в пределах допустимого диапазона и конечная точка выше порогового значения находятся только для целевой последовательности SA (<i>spa</i>). Целевая последовательность ДНК для <i>SCCmec</i> не обнаружена, а целевая последовательность ДНК для <i>mecA</i> обнаружена или не обнаружена. SPC – Н/П (неприменимо) (NA (not applicable)); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей SA может конкурировать с этим контролем. Контроль зондов – ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE); SA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (SA NEGATIVE) (Рисунок 4)	Целевая последовательность ДНК SA не обнаружена. <ul style="list-style-type: none"> ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (NEGATIVE) – целевая последовательность ДНК SA (<i>spa</i>) не обнаружена. Целевая последовательность ДНК для <i>mecA</i> может или не может быть обнаружена; целевая последовательность ДНК для <i>SCCmec</i> может или не может быть обнаружена. SPC – ПРОЙДЕН (PASS); SPC имеет Ct в пределах действительного диапазона и конечную точку выше порогового значения. Контроль зондов – ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) (Рисунок 5)	Невозможно установить наличие или отсутствие целевой ДНК MRSA и SA. Результат SPC не соответствует критериям приемлемости, процесс обработки образца прошел ненадлежащим образом, или ПЦР была ингибирована. Повторите тест согласно инструкциям, содержащимся в приведенном ниже разделе. <ul style="list-style-type: none"> НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) – Невозможно установить наличие или отсутствие ДНК SA. SPC – НЕ ПРОЙДЕН (FAIL); результат определения целевой последовательности SPC отрицательный, Ct SPC находится в недопустимом диапазоне, и конечная точка находится ниже заданного порогового значения. Контроль зондов – ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.

Таблица 1. Результаты теста Xpert SA Nasal Complete и их интерпретация (Продолжение)

Результат	Интерпретация
ОШИБКА (ERROR)	<p>Невозможно установить наличие или отсутствие целевой ДНК MRSA и SA. Контроль проверки зонда не пройден, что вероятно произошло вследствие неправильного наполнения реакционной пробирки, проблемы с целостностью зонда или вследствие превышения пределов максимального давления. Повторите тест согласно инструкциям, содержащимся в приведенном ниже разделе.</p> <ul style="list-style-type: none"> Целевые последовательности MRSA и SA – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) SPC – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT). Контроль зондов – НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)*; одна или несколько проверок в рамках контроля качества зондов не пройдены. <p>*Если проверка зондов пройдена, ошибка вызвана сбоем компонента системы.</p>
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	<p>Невозможно установить наличие или отсутствие целевой ДНК MRSA и SA. Для получения результата теста было собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если оператор прервал текущий процесс теста. Повторите тест согласно инструкциям, содержащимся в приведенном ниже разделе.</p> <ul style="list-style-type: none"> Целевые последовательности MRSA и SA – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) SPC – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) Контроль зондов – неприменимо

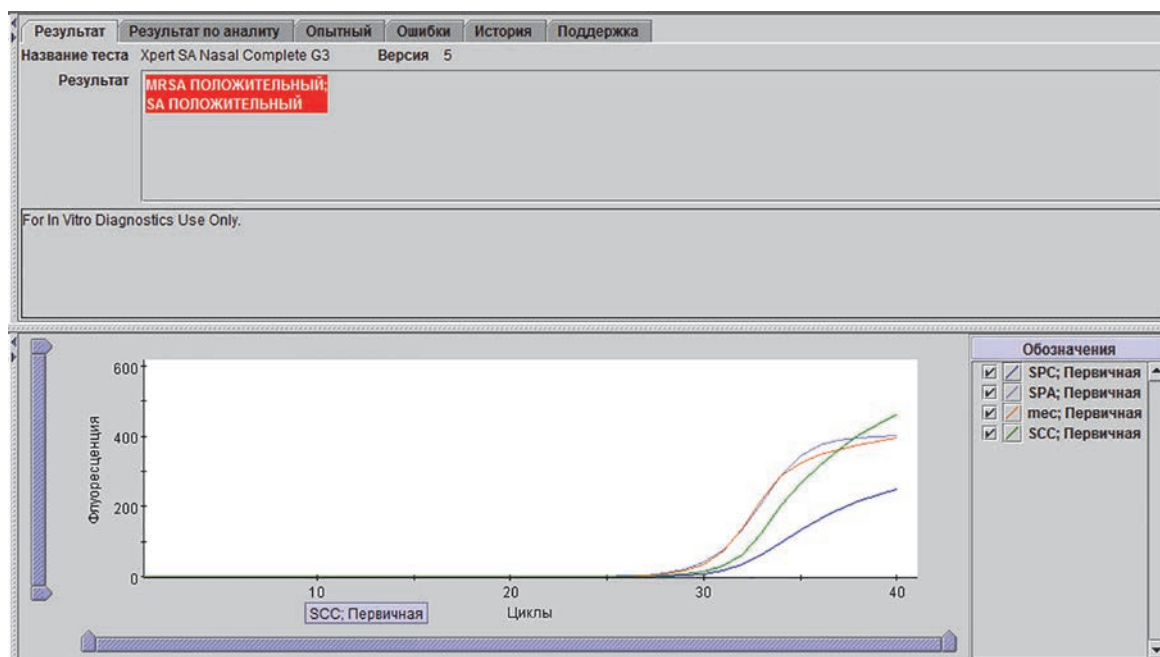


Рисунок 2. Пример результата MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ

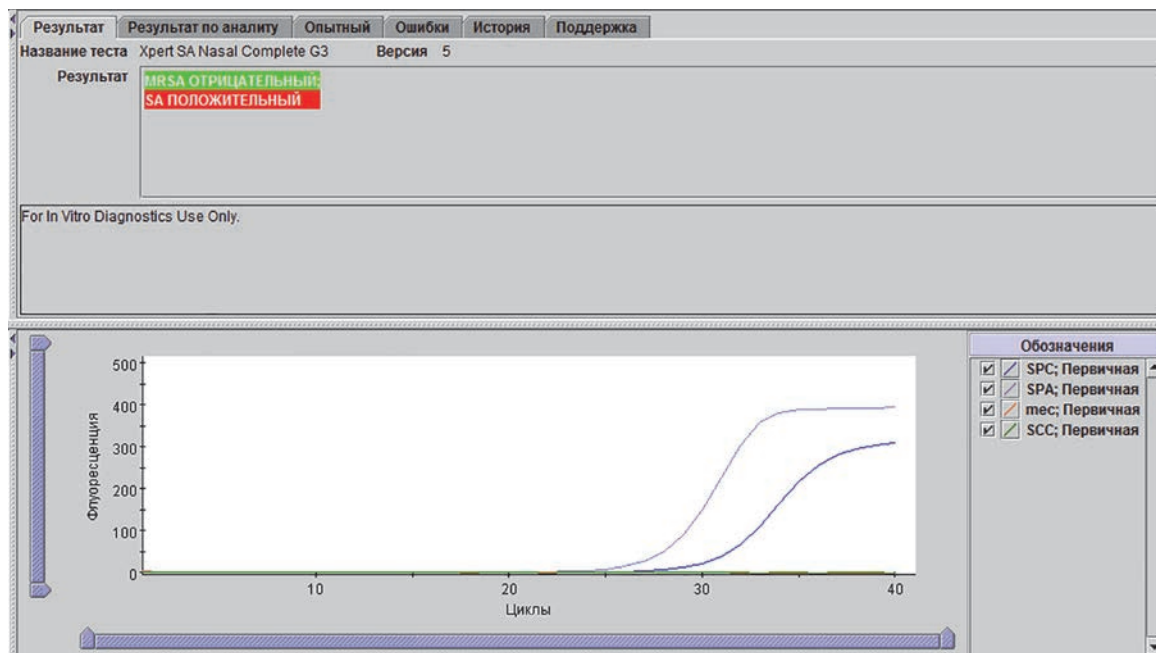


Рисунок 3. Пример результата MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ

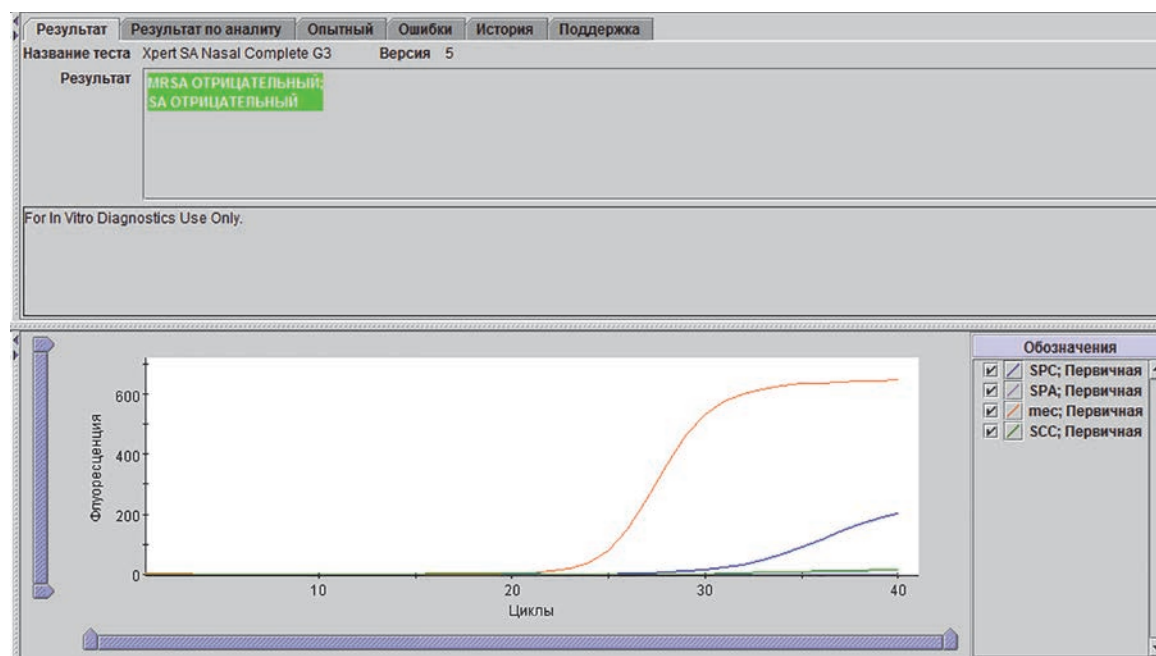


Рисунок 4. Пример результата MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; SA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

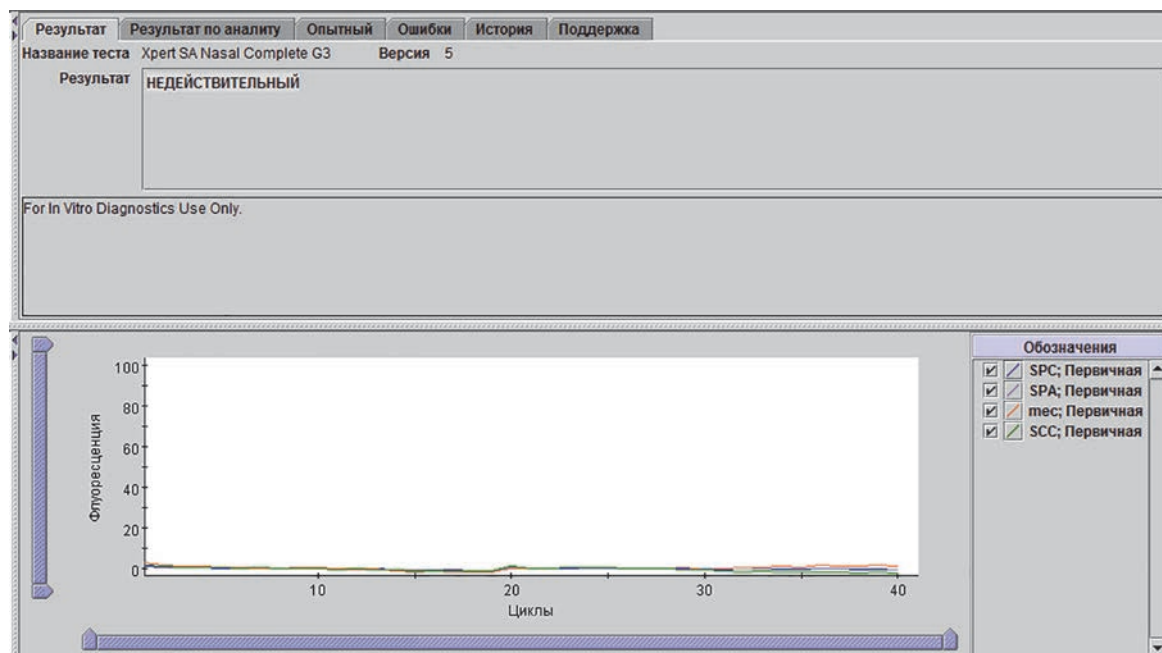


Рисунок 5. Пример результата НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ

14. Причины повторного выполнения теста

При получении какого-либо из упомянутых ниже результатов теста повторите тест, используя новый образец, новый картридж (не используйте старый картридж повторно) и новые реагенты. Следуйте инструкциям по запуску нового теста (см. раздел «Процедура / подготовка картриджа»).

Результат **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ** (INVALID) означает, что не пройден контроль SPC. Образец не был обработан надлежащим образом, или произошло ингибирование ПЦР.

Результат **ОШИБКА** (ERROR) указывает на то, что тест был прерван, возможными причинами чего может быть ненадлежащее заполнение реакционной пробирки, нарушение целостности зондов или превышение максимально допустимого давления.

Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА** (NO RESULT) свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если лаборант прервал текущий процесс теста.

15. Ограничения

- Функциональные характеристики теста Xpert SA Nasal Complete прошли валидацию только с использованием процедур, описанных в данном листке-вкладыше. Внесение изменений в эти процедуры может нарушить функциональные характеристики теста.
- Результаты теста Xpert SA Nasal Complete следует интерпретировать в сочетании с другими лабораторными и клиническими данными, имеющимися в распоряжении клинициста, их следует использовать в качестве дополнения к мерам ограничения распространения внутрибольничных инфекций для определения пациентов, в отношении которых необходимы расширенные профилактические меры. Эти результаты не следует использовать для ведения или мониторинга лечения инфекций MRSA или SA.
- Ошибочные результаты теста могут быть связаны с неправильным сбором образца, несоблюдением рекомендованной процедуры сбора образцов или инструкций по обращению и хранению, технической ошибкой, перемешиванием образцов или недостаточным для обнаружения при помощи данного теста количеством микроорганизмов в образце. Чтобы избежать получения ошибочных результатов, необходимо тщательно соблюдать инструкции, представленные в данном листке-вкладыше.
- Положительный результат теста не свидетельствует однозначно о присутствии жизнеспособных микроорганизмов. Однако он указывает на возможность присутствия MRSA или SA.
- Положительный результат теста Xpert SA Nasal Complete не обязательно означает успех мероприятий по устранению возбудителя, так как возможно присутствие нежизнеспособной ДНК. Отрицательный результат,

полученный после прежнего положительного, не обязательно означает успех мероприятий по устранению возбудителя.

- Функциональные характеристики не определялись для пациентов в возрасте ≤ 21 года.
- Поскольку возможность обнаружения MRSA и SA зависит от количества присутствующих в образце микроорганизмов, достоверность результатов зависит от правильности сбора образца, обращения с ним и его хранения.
- Мутации или полиморфизм в участках связывания праймера или зонда могут отрицательно повлиять на возможность обнаружения новых или неизвестных вариантов MRSA и привести к получению ложноотрицательных результатов.
- Тест Xpert SA Nasal Complete может давать ложно положительные результаты по MRSA при тестировании образца мазка из носовой полости со смешанными инфекциями, содержащего как метициллин-резистентные коагулазоотрицательные *Staphylococcus*, так и SA с пустой кассетой.
- Иногда тест Xpert SA Nasal Complete может давать **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** результат вследствие не пройденного контроля SPC, а также результат **ОШИБКА (ERROR)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)**, что требует повторного выполнения теста и может привести к задержке получения окончательных результатов

16. Субстанции, препятствующие проведению теста

Для оценки потенциальных эффектов ингибирования в случае присутствия каких-либо посторонних субстанций в образцах мазков из носовой полости при проведении теста Xpert SA Nasal Complete было проведено отдельное исследование. Среди потенциально ингибирующих субстанций могут быть, не ограничиваясь перечисленным, кровь, выделения или слезы из носовой полости и назальные аэрозоли, используемые для облегчения симптомов заложенности, сухости или раздражения носовой полости. Указанные вещества проходили тестирование в неразбавленном виде (за исключением слезы) в восьми повторях с посевом клеток MRSA в районе аналитического порога обнаружения ($\sim 3\text{--}4 \times \text{LoD}$). Для моделирования вязких выделений или слезы из носовой полости использовались 10% и 5% (масса/объем) растворы свиного муцина. Также анализировали отрицательные образцы с целью определения влияния на функциональные характеристики контроля обработки образца (Sample Processing Control, SPC).

В условиях данного исследования с использованием теста Xpert SA Nasal Complete все отрицательные образцы были правильно определены как MRSA-отрицательные; ЗС-отрицательные. Ни одна из потенциально создающих помехи субстанций не оказывала статистически значимого ингибирующего эффекта на функциональные характеристики SPC в отрицательных образцах, параметр $p = 0,734$.

С использованием теста Xpert SA Nasal Complete все положительные образцы были правильно определены как MRSA-положительные; SA-положительные на уровне в районе аналитического порога определения LoD. Однофакторный дисперсионный анализ показал небольшой, но статистически значимый сдвиг C_t для целевых последовательностей MRSA *sprA* ($p=0,024$) и *mecA* ($p=0,002$) в присутствии 10% муцина. Однако средняя разность C_t между 10% муцином и контрольным буфером для *sprA* и *mecA* составила 0,34 и 0,63 соответственно и не рассматривалась как практически значимая. Раствор 10% муцина не оказывал существенного влияния на сигнал SCC_{mec} ($p=0,339$).

17. Функциональные характеристики

Функциональные характеристики теста Xpert SA Nasal Complete определялись в многоцентровом проспективном испытательном исследовании в двух учреждениях в США путем сравнения результатов тестов Xpert SA Nasal Complete в системе GeneXpert с результатами, полученными методом культивирования (прямого и обогащенного). Участниками исследования являлись стационарные и амбулаторные пациенты, подверженные риску колонизации носовой полости стафилококком *S. aureus*.

У каждого участника брались два мазка из носовой полости. Один мазок анализировался с использованием теста Xpert SA Nasal Complete в принимающем участие центре, а другой – методом культивирования в централизованной лаборатории.

В централизованной лаборатории образец был посеян непосредственно и после обогащения в течение ночи в триптоказо-соевом бульоне, содержащем 6,5% NaCl, на селективные хромогенные агаровые пластины с цефокситином и без него. Пластины, содержащие цефокситин, инкубировались 24-48 часов при температуре от 35 до 37 °C. Пластины, не содержащие цефокситин, инкубировались 24 часа при температуре от 33 до 37 °C. Подтверждение предположительно положительных колоний выполнялось с использованием каталазы, пробирочного теста на коагулазу и окрашивания по Граму. Восприимчивость к оксациллину/метициллину тестировалась диско-диффузионным методом с использованием диска с 30 мкг цефокситином с пороговым расстоянием 21/22 мм.

Эффективность теста Xpert SA Nasal Complete вычислялась относительно результатов прямого и обогащенного культивирования.

17.1 Общие результаты

Всего с использованием теста Xpert SA Nasal Complete и культивирования было проанализировано на MRSA и SA 744 образца. Тест Xpert SA Nasal Complete определил 100% образцов, положительных по MRSA, и 95,8% образцов, отрицательных по MRSA, относительно эталонного метода прямого культивирования. Для исследованных образцов прогностическая ценность MRSA-положительного результата составила 74,1%, а прогностическая ценность MRSA-отрицательного результата составила 100% (Таблица 2).

Тест Xpert SA Nasal Complete определил 99,3% образцов, положительных по SA, и 83,8% образцов, отрицательных по SA, относительно эталонного метода прямого культивирования. Для исследованных образцов прогностическая ценность ЗС-положительного результата составила 61,3%, а прогностическая ценность ЗС-отрицательного результата составила 99,8% (Таблица 3).

Тест Xpert SA Nasal Complete определил 88,2% образцов, положительных по MRSA, и 98,3% образцов, отрицательных по MRSA, относительно эталонного метода культивирования с обогащением. Для исследованных образцов прогностическая ценность MRSA-положительного результата составила 89,8%, а прогностическая ценность MRSA-отрицательного результата составила 98,0% (Таблица 4).

Тест Xpert SA Nasal Complete определил 92,7% образцов, положительных по SA, и 91,4% образцов, отрицательных по SA, относительно эталонного метода культивирования с обогащением. Для исследованных образцов прогностическая ценность ЗС-положительного результата составила 81,9%, а прогностическая ценность ЗС-отрицательного результата составила 96,8% (Таблица 5).

Таблица 2. MRSA – Прямое культивирование

		Культивирование				
		+	-			
Тест Xpert SA Nasal Complete	+	80	28	108	Чувствительность	100%
	-	0	636	636	Специфичность	95,8%
		80	664	744		

Таблица 3. SA – Прямое культивирование

		Культивирование				
		+	-			
Тест Xpert SA Nasal Complete	+	152	96	248	Чувствительность	99,3%
	-	1	495	496	Специфичность	83,8%
		153	591	744		

Таблица 4. MRSA – Культивирование с обогащением

		Культивирование			
		+	-		
Тест Xpert SA Nasal Complete	+	97	11	108	Чувствительность 88,2%
	-	13	623	636	Специфичность 98,3%
		110	634	744	

Таблица 5. SA – Культивирование с обогащением

		Культивирование			
		+	-		
Тест Xpert SA Nasal Complete	+	203	45	248	Чувствительность 92,7%
	-	16	480	496	Специфичность 91,4%
		219	525	744	

17.2 Аналитическая специфичность

С использованием теста Xpert SA Nasal Complete проводились исследования 98 штаммов культур из Американской коллекции типовых культур (American Type Culture Collection, ATCC) и 7 из Сети противомикробной резистентности к золотистому стафилококку (Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus*, NARSA), представляющих собой виды, филогенетически относящихся к *Staphylococcus aureus* и являющихся компонентами условно-патогенной флоры носовой полости, 29 штаммов метициллин-чувствительных коагулазонегативных стафилококков и 9 штаммов метициллин-резистивных коагулазонегативных стафилококков. Протестированные микроорганизмы были представлены 74 Грам-положительными, 28 Грам-отрицательными, 3 дрожжевыми, 95 аэробными и 10 анаэробными видами. По два или более повторов каждого изолята тестировались при содержании 1,7-3,2 единиц McFarland. В условиях проведения исследования с использованием теста Xpert SA Nasal Complete все изоляты были определены как MRSA-отрицательные и SA-отрицательные; с использованием этого теста не был определен ни один из изолятов. В исследовании использовались положительный и отрицательный контроли. Специфичность теста составила 100%.

17.3 Аналитическая универсальность (инклюзивность)

Аналитическая универсальность (инклюзивность) теста Xpert SA Nasal Complete определялась с использованием 25 линий золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus*, полученных из Центров по контролю и профилактике заболеваний США (Centers for Disease Control and Prevention, CDC). Сообщалось, что эти образцы являются репрезентативными для линий MRSA и MSSA, с которыми сталкивается современное здравоохранение. Все линии проходили тестирование с тремя повторами с использованием 100 мкл клеточных суспензий в стационарной фазе, разбавленных в 10 млн. раз. Панель состоит из линий MRSA, представляющих SCCmec типов II, IV, IVa, IVb и IVc в дополнение к нескольким неизвестным типам. Данные, предоставленные CDC указывали на то, что эти линии, будучи охарактеризованы с применением гель-электрофореза в пульсирующем поле (PFGE), представляют собой различные распространенные в США типы, включая USA 100, наиболее распространенную линию, заражение которой отмечается в больницах, и USA 300 и 400, наиболее распространенные линии, заражение которыми происходит в общественных местах.¹⁰

Как показано в Таблица 6, с использованием теста Xpert SA Nasal Complete все линии MRSA правильно определены как MRSA-положительные и ЗС-положительные. Кроме того, все линии MSSA были правильно определены как MRSA-отрицательные и ЗС-положительные. Значения Ct представляют собой средние по трем повторам. После того как результаты CHROMagar и Xpert SA Nasal Complete были предоставлены в CDC, его специалисты определили, что тест Xpert SA Nasal Complete не дал некорректного результата по определению образца 95:99. Образец 95:99 был ошибочно промаркирован сотрудниками CDC. С использованием теста Xpert SA Nasal Complete образец 95:99 был правильно определен как MRSA-отрицательный и ЗС-отрицательный. Количество колониеобразующих единиц в каждом тесте определялось путем подсчета по двум пластинам.

Таблица 6. Аналитическая универсальность теста Хpert SA Nasal Complete

Лабо- ратор- ный иден- тифи- катор	Отпра- витель	Источ- ник	Тип PFGE	Тип SCCмес	Резуль- тат CHRO- Magar MRSA	Результат теста Хpert	Ct SPC	Ct spa	Ct mecA	Ct SCC	КОЕ на тест
94:101 3	VT	Пораже- ние кожи	USA1000	IV	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	34,7	30,7	31	32,6	152
*95:99	СТ	Кровь	USA500	IV	-	MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE); SA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (SA NEGATIVE)	34,1	0	0	0	37
96:308	NM	Стул	USA900	MSSA	-	MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	34	29,4	0	0	201
96:281	NC	Кровь	USA200	II	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	33,4	33,6	34	35,3	101
148-99	NY	Кровь	USA600	II	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	34,3	33,2	33,1	35,2	43
182-99	MN	Неиз- вестно	USA400	IVa	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	43,7	26,7	27,1	28,7	417
18626	ОН	Кровь	USA100	II	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	34,8	30,7	31	32,7	138
0:50	TN	Стул	USA600	не типи- ровано	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	33,6	31,2	31,4	33,2	115

Таблица 6. Аналитическая универсальность теста Xpert SA Nasal Complete (Продолжение)

Лабо- ратор- ный иден- тифи- катор	Отпра- витель	Источ- ник	Тип PFGE	Тип SCCmec	Результат CHRO- Magar MRSA	Результат теста Xpert	Ct SPC	Ct spa	Ct mecA	Ct SCC	KOE на тест
0-25-4	MS	Носовая полость	USA700	IVa	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	35,5	29,1	29,3	30,9	178
0-25-37	MS	Кожа/ мягкие ткани	USA300	IVa	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	34,7	32,3	32,7	34,2	94
1-1-81	WA	Носовая полость	USA400	не типи- ровано	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	34,3	33	33,7	35,5	106
1-1-493	WA	Рана	USA800	IV	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	33,7	31,5	31,7	33,4	113
N7129	NHANES	Носовая полость	USA900	MSSA	-	MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	34,3	29,9	0	0	84
107-03	NV	Кровь	USA200	не типи- ровано	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	34	33	33,3	34,9	99
GA201	GA-ABC	Неиз- вестно	USA100	II	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	33,6	32,3	32,4	34	95
GA217	GA-ABC	Неиз- вестно	USA300	IVb	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	33,6	30,8	31,2	33	121

Таблица 6. Аналитическая универсальность теста Xpert SA Nasal Complete (Продолжение)

Лабо- ратор- ный иден- тифи- катор	Отпра- витель	Источ- ник	Тип PFGE	Тип SCCmec	Резуль- тат CHRO- Magar MRSA	Результат теста Xpert	Ct SPC	Ct spa	Ct mecA	Ct SCC	КОЕ на тест
GA229	GA-ABC	Неиз- вестно	USA500	IV	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	37,8	31,7	31,9	33,3	81
7031	AK	Абсцесс	USA1100	IVa	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	34,2	30,8	31,5	32,9	73
102-04	CA	Носовая полость	USA1200	MSSA	-	MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	33,9	29,4	0	0	110
8-03	WI	Неиз- вестно	USA700	не типи- ровано	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	33,3	29	29,2	30,9	202
510-04	Уругвай	Абсцесс	USA1100	IVc	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	34,6	31,5	32	33,8	143
27-05	HI	Рана	USA800	IVc	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	40,7	27,8	28,1	29,8	373
CA46	CA	Кровь	USA1000	IV	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	33,4	32,6	33,7	35,8	81
398-05	HI	Рана	USA1000	IVb	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	33,6	32,8	33,4	35,9	59

Таблица 6. Аналитическая универсальность теста Xpert SA Nasal Complete (Продолжение)

Лабо- ратор- ный иден- тифи- катор	Отпра- витель	Источ- ник	Тип PFGE	Тип SCCmec	Результат CHRO- Magar MRSA	Результат теста Xpert	Ct SPC	Ct spa	Ct mecA	Ct SCC	KOE на тест
N4151	NHANES	Носовая полость	USA800	IVb	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE)	34	30,7	31,2	32,9	101

* Образец 95:99: После того как результаты CHROMagar и Xpert SA Nasal Complete были предоставлены в CDC, его специалисты определили, что тест Xpert SA Nasal Complete правильно определил образец 95:99. Образец 95:99 был ошибочно промаркирован сотрудниками CDC. С использованием теста Xpert SA Nasal Complete образец 95:99 был правильно определен как MRSA-отрицательный и 3С-отрицательный. Информация, содержащаяся в серых столбцах, предоставлена компании Cepheid организацией CDC.

17.4 Аналитическая чувствительность

Для определения 95% доверительного интервала для аналитического порога обнаружения (LoD) этого теста были проведены дополнительные исследования. Порог обнаружения определялся как наименьшее количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в образце, который может воспроизводимо различаться при помощи теста от отрицательных в 95% доверительном интервале. Для SA выполнялась оценка для четырех концентраций (0, 50, 100 и 150 КОЕ/образец) по 20 повторов. Для MRSA (клетки SCCmec типа II) выполнялась оценка для четырех концентраций (0, 25, 50 и 125 КОЕ/образец) по 20 повторов.

По результатам этого исследования порог LoD обнаружения SA составляет 93,7 КОЕ/образец с 95% доверительным интервалом от 75,5 КОЕ до 137,8 КОЕ. Оценочное значение и границы доверительного интервала были определены с помощью метода логистической регрессии по данным (количество положительных результатов среди всего количества проведенных тестов пула образцов), полученным на четырех уровнях (0, 50, 100 и 150 КОЕ/образец). Учтите, что в качестве аналитического предела обнаружения LoD для SA будет сообщаться консервативное значение 138 КОЕ/образец.

Оценочное значение аналитического порога обнаружения LoD для MRSA составляет 43,9 КОЕ/образец в 95% доверительном интервале от 35,7 КОЕ до 68,3 КОЕ. Оценочное значение и границы доверительного интервала были определены с помощью метода логистической регрессии по данным (количество положительных результатов среди всего количества проведенных тестов пула образцов), полученным на четырех уровнях (0, 25, 50 и 125 КОЕ/образец). Учтите, что в качестве аналитического предела обнаружения LoD для MRSA будет сообщаться консервативное значение 70 КОЕ/образец.

Доверительные интервалы были определены по методу максимального подобия при параметрах логистической модели с помощью вариационно-ковариационной матрицы с большой выборкой.

18. Справочная литература

1. Bannerman TL. 2003 Chapter 28: Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci that Grow Aerobically. Manual of clinical microbiology, 8th ed. ASM Press Washington, DC. Pages 384-404.
2. Mainous AG, Hueston WJ, Everett, et al.. 2006. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S. aureus* in the United States, 2001-2002. An Family Medicine. 4(2):132-137.
3. National nosocomial infections surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992 through June 2004. 2004. Am J Infect Control 32:470-485.
4. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Control of endemic methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. J Am Medical Assoc. 282(19):1745-1751.
5. Shopsin B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Emerg Infect Dis 7(2):323-326.
6. Salgado CD et al. 2003. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Meta-analysis of Prevalence and Risk Factors. CID 36:131.
7. Donnio, P-Y, Février F, Bifani P, et al. 2007. Molecular and epidemiological evidence for the spread of multiresistant methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains in hospitals. Antimicrobial. Agents Chemother. 51: 4342 – 4350.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
10. McDougal L, Steward C, Killgore G, Chaitram J, McAllister S, Tenover F. Pulsed-Field Gel Electrophoresis Typing of Oxacillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from the United States: Establishing a national Database. J Clin Micro 2003;41(11):5113-20.
11. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC)).
12. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

19. Cepheid Расположение штаб-квартир

Головной офис	Европейский офис
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089-1189 USA (США)	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont France (Франция)
Телефон: +1 408.541.4191	Телефон: +33.563.82.53.00
Факс: +1 408.541.4192	Факс: +33.563.82.53.01
www.cepheid.com	www.cepheidinternational.com/

20. Техническая поддержка

Прежде чем обращаться в Служба технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

Регион	Телефон	Электронный адрес:
США	+ 1 888 838 3222	techsupport@cepheid.com
Австралия и Новая Зеландия	+ 1800 130 821 + 0800 001 028	techsupportANZ@cepheid.com
Бельгия, Нидерланды и Люксембург	+ 33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Бразилия и Латинская Америка	+ 55 11 3524 8373	latamsupport@cepheid.com
Китай	+ 86 021 5406 5387	techsupportchina@cepheid.com
Франция	+ 33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Германия	+ 49 69 710 480 480	support@cepheideurope.com
Индия, Бангладеш, Бутан, Непал и Шри-Ланка	+ 91 11 48353010	techsupportindia@cepheid.com
Италия	+ 39 800 902 567	support@cepheideurope.com
Португалия	+ 351 800 913 174	support@cepheideurope.com
Испания	+ 34 919 90 67 62	support@cepheideurope.com
Южная Африка	+ 27 861 22 76 35	support@cepheideurope.com
Великобритания	+ 44 3303 332 533	support@cepheideurope.com
Другие страны Европы, Ближнего и Среднего Востока и Африки	+ 33 563 825 319 + 971 4 253 3218	support@cepheideurope.com
Другие страны, не указанные выше	+ 1 408 400 8495	techsupport@cepheid.com

Контактные данные других офисов компании Cepheid можно найти на нашем веб-сайте www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com на вкладке «ПОДДЕРЖКА» (SUPPORT). Выберите пункт «Связаться с нами» (Contact Us).

21. Условные обозначения

Символ	Значение
	Каталожный номер
	Медицинское устройство для диагностики <i>in vitro</i>
	Марка CE – Европейское соответствие
	Не использовать повторно
	Код партии
	Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно!
	Производитель
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов
	Контроль
	Срок годности
	Температурные ограничения
	Биологическая опасность
	Предостережение
	Место производства



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden (Швеция)



Xpert[®] MRSA/SA SSTI

REF GXMRSA/SA-SSTI-CE



Медицинское изделие для
диагностики in vitro



301-0190-RU Ред. Е Январь 2019 г.

Trademarks, Patents and Copyright Statements

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, and Xpert® are trademarks of Cepheid.
Windows® is a trademark of Microsoft Corporation.

The purchase of this product includes a limited, non-transferable license under U.S Patent No. 7,449,289, owned by GeneOhm Sciences Canada, Inc (a subsidiary of Becton, Dickinson and Company), to use such product for human IVD use with a GeneXpert® instrument. No right under U.S Patent NO. 7,449,289 is conveyed, expressly, by implication, or by estoppel, to use this product for any other purpose.

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

Copyright © 2019. All rights reserved.

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

Cepheid®, логотип Cepheid, GeneXpert® и Xpert® являются товарными знаками компании Cepheid.
Windows® является товарным знаком Microsoft Corporation.

Приобретение данного продукта включает приобретение ограниченной, не подлежащей передаче лицензии на использование патента США № 7,449,289, принадлежащего компании GeneOhm Sciences Canada, Inc (дочерняя структура компании Becton, Dickinson and Company), для использования данного продукта с прибором GeneXpert® с целью проведения диагностики *in vitro* у человека. По патенту США № 7,449,289 не передаются никакие права, ни в явной, ни в подразумеваемой форме, ни в случае лишения права возражения, относящиеся к использованию данного продукта с какими-либо иными целями.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩИМ ВКЛАДЫШЕМ-ИНСТРУКЦИЕЙ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

Copyright © 2019. Все права защищены.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden (Швеция)
Изготовлено в Швеции

Xpert® MRSA/SA SSTI

Только для диагностического применения *in vitro*

1. Фирменное название

Xpert® MRSA/SA SSTI

2. Общепринятое название

Тест Xpert MRSA/SA SSTI

3. Назначение

Тест Cepheid Xpert MRSA/SA Skin and Soft Tissue Infection (тест (Xpert MRSA/SA SSTI), выполняемый с использованием системы GeneXpert® Dx, является качественным диагностическим тестом *in vitro*, предназначенным для обнаружения золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* (SA) и метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus* (MRSA) в мазках с инфицированных участков кожи и мягких тканей. В данном тесте для определения ДНК MRSA/SA используется автоматизированная технология полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Тест Xpert MRSA/SA SSTI показан к применению в сочетании с другими лабораторными тестами, например выделением культуры микроорганизмов, и имеющимися у клинициста клиническими данными как вспомогательное средство обнаружения MRSA/SA в инфицированных участках кожи и мягких тканей. Тест Xpert MRSA/SA SSTI не предназначен для контроля лечения инфекций, вызванных MRSA или SA. Одновременное выделение культур SA и MRSA необходимо для выделения микроорганизмов с целью определения чувствительности и эпидемиологического типирования.

4. Краткие сведения и разъяснения

Золотистый стафилококк *Staphylococcus aureus* (SA) является хорошо изученным оппортунистическим патогеном человека и широко распространенным внутрибольничным патогеном, вызывающим разнообразные заболевания. При некоторых заболеваниях возникает инфекция кожи и мягких тканей, в том числе карбункулы и фурункулы, а также послеоперационные инфекции ран различной локализации. В качестве возбудителя внутрибольничной инфекции *S. aureus* является важной причиной заболеваемости и смертности. Инфекции, вызываемые *S. aureus*, часто являются острыми и гнойными, и в отсутствие лечения они могут распространиться на окружающие ткани или при bacteriemia дать гематогенные метастазы, в том числе в другие органы. Некоторые из наиболее серьезных инфекций, вызываемые *S. aureus*, – это bacteriemia, пневмония, остеомиелит, острый эндокардит, синдром токсического шока, пищевое отравление, миокардит, перикардит, церебрит, менингит, хориоамнионит, синдром ошпаренной кожи, а также абсцессы мышц, мочеполового тракта, центральной нервной системы и различных внутрибрюшных органов.¹

В начале 1950-х годов возникновение и распространение плазмид, продуцирующих бета-лактамазу, снизило эффективность пенициллина при лечении инфекций, вызванных *S. aureus*. С 1959 г. начал применяться метициллин, синтетический пенициллин. Однако к 1960 г. были выявлены штаммы метициллин-резистентного золотистого стафилококка *S. aureus*. Было определено, что это является результатом приобретения бактерией *S. aureus* гена *mecA*. Сегодня в США MRSA является причиной приблизительно 25% внутрибольничных инфекций, кроме того растет количество сообщений о внебольничных инфекциях MRSA, которые являются причиной значительной заболеваемости и смертности. 33% и 16% относительной смертности относятся к bacteriemia, вызванным MRSA и метициллин-чувствительным *S. aureus* (SA) соответственно. Также вызывает озабоченность рост расходов, связанных с инфекциями MRSA. В попытке ограничить распространение этих инфекций в разнообразных условиях систем здравоохранения разрабатываются и внедряются различные стратегии и правила контроля. Контроль MRSA является приоритетным направлением большинства программ контроля больничных инфекций. В настоящее время стандартным методом определения MRSA и SA является выращивание культур, которое чрезвычайно трудоемко и может требовать несколько дней до получения определенного результата.^{2,3,4,5,6,7}

5. Принципы проведения процедуры

Система приборов GeneXpert автоматизирует и интегрирует процессы очистки образцов, амплификации нуклеиновых кислот и обнаружения целевой последовательности в простых или сложных образцах с использованием ПЦР в режиме реального времени. Система состоит из прибора, персонального компьютера и предустановленного программного обеспечения для выполнения тестов и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи,

которые содержат реактивы для ПЦР и в которых происходит ПЦР. Поскольку картриджи представляют собой замкнутые системы, вероятность перекрестной контаминации между образцами сводится к минимуму. Полное описание систем представлено в соответствующем *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*.

Набор теста Xpert MRSA/SA SSTI содержит реактивы для обнаружения MRSA и SA, а также контроль для проверки обработки образца (Sample Processing Control, SPC), предназначенный для обеспечения правильной обработки целевых бактерий и выявления ингибитора (-ов) реакции ПЦР. SPC также позволяет удостовериться в наличии надлежащих для протекания реакции амплификации условий ПЦР (температуры и времени) и в работоспособности реактивов для ПЦР. Контроль зондов (Probe Check Control, PCC) предназначен для проверки правильности регидратации реактивов, заполнения пробирки для проведения ПЦР в картридже, целостности зондов и стабильности красителя.

Праймеры и зонды теста Xpert MRSA/SA SSTI обеспечивают обнаружение особых последовательностей, кодирующих стафилококковый белок A (*spa*), ген резистентности к метициллину (*mecA*) и стафилококковую хромосомную кассету (*SCCmec*), встроенную в хромосомный сайт *attB* SA.

6. Реактивы и приборы

6.1 Комплект поставки



Набор теста Xpert MRSA/SA SSTI содержит реактивы в количестве, достаточном для анализа 10 образцов или образцов контроля качества. В набор входят:

Картриджи теста Xpert MRSA/SA SSTI со встроенными реакционными пробирками

10

- Гранулы 1, 2 и 3 (лиофилизированные)
- Реактив 1
- Реактив 2 (гидроксид натрия)

1 в одном картридже

3,0 мл в каждом картридже

3,0 мл в каждом картридже

Пакет с элюирующим реактивом теста Xpert MRSA/SA SSTI

10 x 2,0 мл на пакет

- Элюирующий реактив (гуанидина тиоцианат)

Компакт-диск

1 в каждом наборе

- Файл с описанием теста (Assay Definition File, ADF)
- Инструкцию по импортированию файла ADF в программное обеспечение GX
- Инструкции по применению (вкладыш-инструкция)

Примечание

Паспорта безопасности вещества (Safety Data Sheet, SDS) можно найти по адресам www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com на вкладке **ПОДДЕРЖКА (SUPPORT)**.

Примечание

Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма бычьей крови животных, выращенных в США. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время обработки не происходило смешивания материала с другими материалами животного происхождения

6.2 Хранение и обращение



- Храните картриджи и реактивы теста Xpert MRSA/SA SSTI при температуре 2–28 °C.
- Не используйте реактивы или картриджи с истекшим сроком годности.
- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение анализа.
- Не используйте помутневшие или изменившие цвет реактивы.

7. Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Система приборов GeneXpert (каталожный номер зависит от конфигурации): прибор GeneXpert, компьютер (с фирменным программным обеспечением GeneXpert версии 4.3 или выше), устройство считывания штрих-кода и руководство оператора.
- Принтер: если необходим принтер, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.
- Устройство для сбора образцов Cepheid (900-0370) или равноценное устройство компании Coran
- Вихревая мешалка
- Одноразовые пипетки для переноса
- Стерильная марля

8. Приобретаемые материалы, не входящие в комплект поставки

Эталонные образцы KWIK-STIK™ производства компании Microbiologics, каталожные номера 0158MRSA и 0360SA в качестве внешних положительных контролей и 0371MSSE (метициллин-чувствительный *Staphylococcus epidermidis*) в качестве внешнего отрицательного контроля.

9. Предупреждения и меры предосторожности



- При работе со всеми биологическими образцами, в том числе с использованными картриджами и реактивами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются агентством «Центры по контролю и профилактике заболеваний США» (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁸ и Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁹
- В смешанной культуре, содержащей MRSA/SA и другие микроорганизмы (например, грам-отрицательные палочки или дрожжи), могут быть получены ложноотрицательные или непостоянные результаты в зависимости от присутствующих концентраций MRSA/SA, в частности если концентрация MRSA/SA близка к порогу обнаружения теста.
- Следуйте принятым в учреждении процедурам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.
- Тест Xpert MRSA/SA SSTI может обнаруживать ДНК MRSA и (или) SA в нежизнеспособных организмах. Вероятность такого результата повышается при исследовании пациентов, получающих антибиотики.
- Тест Xpert MRSA/SA SSTI не дает результатов, применимых для определения чувствительности к противомикробным препаратам. Для проведения теста на чувствительность требуется дополнительное время для культивирования.
- Не заменяйте реактивы теста Xpert MRSA/SA SSTI другими реактивами.
- Крышку картриджа теста Xpert MRSA/SA SSTI разрешается открывать только для добавления образца и реактива или выполнения повторного теста.
- Не используйте картридж, который упал, или который встряхивали после введения в него образца и реактива.
- Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- Каждый одноразовый картридж Xpert MRSA/SA SSTI применяется для проведения одного теста. Не используйте уже применявшиеся картриджи повторно.
- Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, при обращении с ними необходимо соблюдать стандартные меры предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реактивов следуйте принятым в вашем учреждении правилам защиты окружающей среды. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых национальных или региональных процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе правила не дают ясных указаний по правильному удалению в отходы биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением указаний ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами.
- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение теста.



10. Опасные химические факторы^{17, 18}

- Символ опасности СГС ООН: 
- Сигнальное слово: ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ
- **Заявления об опасности СГС ООН**
 - Вредно при проглатывании
 - Вызывает раздражение кожи
 - Вызывает серьезное раздражение глаз
- **Меры предосторожности СГС ООН**
 - **Профилактика**
 - После использования тщательно вымыть.
 - Не принимать пищу, не пить и не курить в процессе использования этого продукта.
 - Избегать попадания в окружающую среду.
 - Пользоваться защитными перчатками, защитной одеждой, средствами защиты глаз/лица.
 - **Реагирование**
 - ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды с мылом.
 - Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед повторным использованием.
 - Требуется специальная обработка. См. дополнительную информацию о первой помощи.
 - При раздражении кожи: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
 - ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь, и если это легко сделать. Продолжить промывание.
 - Если раздражение глаз не проходит: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
 - ПРИ ПРИЕМЕ ВНУТРЬ: При плохом самочувствии немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту/терапевту.
 - Прополоскать рот.
 - **Хранение и удаление в отходы**
 - Удаление в отходы содержимого и/или тары должно осуществляться в соответствии с местными, региональными, государственными и/или международными нормами.

11. Сбор, транспортировка и хранение образцов

Мазки с инфицированных участков кожи и мягких тканей можно брать с применением устройства для сбора образцов Serheid при выполнении стандартных процедур, предписанных инструкцией учреждения пользователя. Зонды-тампоны с образцами возвращают в полимерную транспортную пробирку (рекомендуется жидкая среда Стюарта, устройство для сбора образцов Serheid или Soran), хранят при комнатной температуре и отправляют в лабораторию для выполнения теста GeneXpert в течение следующего дня. Оставшиеся неисследованные образцы на зондах-тампонах для выделения культур следует помещать в подходящие системы транспортировки для выделения культуры в течение 4 суток. Если образец не отправлен на следующий день, его следует транспортировать на льду. Кроме того, зонды-тампоны можно хранить при температуре 2–8 °C для исследования в течение не более 5 дней.

12. Выделение культур микроорганизмов

Для выделения культур из образцов SSTI выполняйте существующие стандартные лабораторные рабочие процедуры. Для выделения культур неисследованные образцы на зондах-тампонах следует помещать в подходящие системы транспортировки для посева в течение 4 суток.

13. Процедура

13.1 Подготовка картриджа

Важно! Тест следует начать не позднее чем через 15 минут после добавления реактивов в картридж.

Порядок внесения образца и элюирующего реактива в картридж:

1. Извлеките картридж и элюирующий реактив из упаковки.

2. Извлеките зонд-тампон из транспортировочного контейнера.

Примечание Для минимизации риска контаминации используйте стерильную марлю при работе с зондом-тампоном.

3. Вставьте зонд-тампон в пробирку, содержащую элюирующий реактив, и отломите зонд-тампон.
4. Закройте крышку элюирующего реактива колпачком и перемешайте содержимое на вихревой мешалке при высокой скорости в течение 10 секунд.
5. Откройте крышку картриджа. Пользуясь стерильной пипеткой, полностью перенесите элюирующий реактив в камеру для образца картриджа теста Xpert MRSA/SA SSTI.
6. Закройте крышку картриджа.

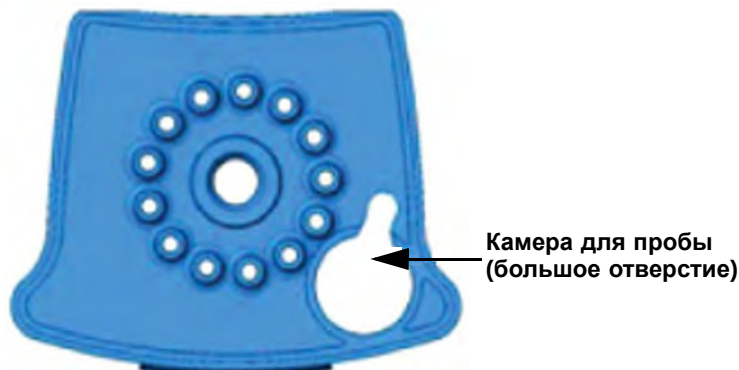


Рисунок 1. Картридж теста Xpert MRSA/SA SSTI (вид сверху)

13.2 Запуск теста

Важно! Перед началом анализа убедитесь в том, что файл с описанием теста Xpert MRSA/SA SSTI импортирован в программное обеспечение.

В данном разделе перечислены операции, выполняемые в процессе работы с инструментальной системой GeneXpert при использовании автоматической программы. Подробные инструкции даны в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*.

1. Включите приборную систему GeneXpert:

Примечание Выполняемые вами действия могут быть другими, если системный администратор изменит установленную по умолчанию рабочую последовательность.

- При использовании прибора GeneXpert Dx вначале следует включить сам прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически, или же может потребоваться двойной щелчок по ярлыку программного обеспечения GeneXpert Dx на рабочем столе Windows®.

или

- При использовании прибора GeneXpert Infinity следует включить прибор. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически или после двойного щелчка по ярлыку программного обеспечения Xpertise на рабочем столе Windows®.
2. Войдите в программное обеспечение системы приборов GeneXpert, используя свои имя пользователя и пароль.
 3. В окне системы GeneXpert щелкните «Создать анализ» (Create Test) (для GeneXpert Dx) или «Заказы» (Orders), а затем «Заказать тест» (Order Test) (для Infinity). Откроется окно «Создать анализ» (Create Test).
 4. Отсканируйте «ID пациента» (Patient ID) (не обязательно). Если вводится «ID пациента» (Patient ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID пациента» (Patient ID) связывается с результатом теста и указывается в окне «Просмотреть результаты» (View Results).
 5. Отсканируйте или введите вручную «ID образца» (Sample ID). Если вводится «ID образца» (Sample ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID образца» (Sample ID) связывается с результатами теста и указывается в окне «Просмотреть результаты» (View Results).

6. Выполните сканирование штрих-кода картриджа Xpert Xpert MRSA/SA SSTI. На основе информации, считанной со штрих-кода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «Выбрать тест» (Select Assay), «ID партии реактива» (Reagent Lot ID), «С/Н картриджа» (Cartridge SN) и «Срок годности» (Expiration Date).

Примечание Если штрихкод картриджа Xpert MRSA/SA SSTI не сканируется, повторите тест с новым картриджем.

7. Щелкните «Начать тест» (Start Test) (для GeneXpert Dx) или «Отправить» (Submit) (для Infinity). В открывшемся на экране диалоговом окне введите пароль.
8. При использовании системы GeneXpert Infinity поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, будет выполнен тест, а использованный картридж будет удален в контейнер для отходов.

или

Для прибора GeneXpert Dx:

- A. Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
- B. Закройте дверцу. После этого начинается анализ, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса анализа индикаторная лампа выключается.
- C. Перед открытием модуля и извлечением картриджа дождитесь разблокирования системой замка дверцы.
- D. Использованный картридж следует удалить в отходы надлежащим способом вместе с образцами.

14. Просмотр и печать результатов

Более подробные инструкции по просмотру и распечатке результатов представлены в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*.

1. Для просмотра результатов выберите ярлык **Просмотреть результаты** (View Results).
2. По завершении анализа выберите кнопку **Отчет** (Report) в окне «Просмотреть результаты» (View Results) для просмотра отчета и (или) получения отчета в формате PDF.

15. Контроль качества

15.1 Встроенные контроли качества

CONTROL

В каждый тест включен контроль обработки образца (SPC или BG3 на экране просмотра результатов для пользователя уровня администратора) и контроль зондов (PCC).

- **Контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC)** – контролирует правильность обработки образца. SPC содержит споры *Bacillus globigii* в форме сухой таблетки из спор, которая имеется в каждом картридже для контроля правильности обработки образца в тесте Xpert MRSA/SA SSTI. SPC позволяет верифицировать лизис *Staphylococcus aureus* (если он присутствует) и убедиться в правильности обработки образца. Кроме того, этот контроль позволяет выявить связанное с образцом ингибирование реакции ПЦР в реальном времени, удостовериться в наличии надлежащих для протекания реакции амплификации условий (температуры и времени) ПЦР и в работоспособности реактивов для ПЦР. Результат для контроля SPC должен быть положительным при отрицательном результате анализа образца и может быть как положительным, так и отрицательным при положительном результате анализа образца. Контроль SPC считается пройденным, если его результат соответствует валидированным критериям приемлемости.
- **Контроль проверки зондов (Probe Check Control, PCC)** – Перед запуском ПЦР система GeneXpert измеряет флуоресцентный сигнал от зондов для отслеживания регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль проверки зондов считается пройденным, если его результат соответствует установленным критериям приемлемости.

15.2 Внешние контроли

Эталонные образцы KWIK-STIK (Microbiologics, каталожные номера 0158MRSA [SCCmec типа II] и 0360SA в качестве положительных контролей и каталожный номер 0371MSSE в качестве отрицательного контроля) могут использоваться для обучения, тестирования профессиональных навыков и выполнения внешнего контроля качества в системе GeneXpert. Штаммы MRSA, соответствующие другим типам SCCmec, если они имеются, могут быть использованы как дополнительные внешние положительные контроли для отслеживания праймеров и зондов теста, непосредственно не контролируемых в тесте. Внешние контроли могут быть использованы в порядке, установленном применимыми требованиями сертифицирующих организаций и государственных нормативных актов. При использовании внешнего контроля следуйте приведенным ниже инструкциям компании Microbiologics:

1. Разорвав мешок по надрезу, извлеките эталонный образец KWIK-STIK.
2. Зажмите низ ампулы в колпачке, чтобы высвободить гидратирующую жидкость.

3. Удерживая их в вертикальном положении, постучите, чтобы облегчить перетекание жидкости по стержню на дно, где находится содержащая дозу гранула.
4. Для облегчения растворения гранулы с лиофилизированными клетками раздавите гранулу и осторожно сожмите нижнюю камеру.
5. Откройте упаковку KWIK-STIK, извлеките зонд-тампон и вставьте его в пробирку, содержащую элюирующий реактив (резьбовой колпачок).
6. Теперь зонд-тампон KWIK-STIK готов к тесту Xpert MRSA/SA SSTI.
7. Если не получены ожидаемые результаты внешнего контроля качества, повторите тест с внешним контролем и (или) обратитесь за помощью в компанию Cepheid.

Примеры результатов теста Xpert MRSA/SA SSTI представлены на рисунках от Рисунок 2 до Рисунок 5.

16. Интерпретация результатов

Результаты интерпретируются системой GeneXpert на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета; они отображаются в окне «Просмотреть результаты» (View Results). Возможны следующие результаты:

Таблица 1. Результаты и интерпретация теста MRSA/SA SSTI

Результат	Интерпретация
MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE) Рисунок 2	Тест Xpert MRSA/SA SSTI может обнаруживать ДНК MRSA и (или) SA в нежизнеспособных организмах. Обнаружены целевые последовательности ДНК MRSA или обнаружена целевая последовательность ДНК SA. <ul style="list-style-type: none"> • MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE) — Все целевые последовательности MRSA (<i>spa</i>, <i>mecA</i> и <i>SCCmec</i>) имеют пороги цикла (Ct) в пределах допустимого диапазона, и конечная точка находится выше установленного минимума. • SPC – Н/П (NA) (неприменимо); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей MRSA может конкурировать с этим контролем. • Контроль зонда – ПРОЙДЕН (PASS); все проверки зондов пройдены успешно.
MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE) Рисунок 3	Тест Xpert MRSA/SA SSTI может обнаруживать ДНК MRSA и (или) SA в нежизнеспособных организмах. <ul style="list-style-type: none"> • Целевые последовательности ДНК MRSA не обнаружены или обнаружена целевая последовательность ДНК SA. • SA POSITIVE (SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ) — Целевая последовательность SA (<i>spa</i>) имеет Ct в допустимом диапазоне, и конечная точка находится выше установленного минимума. Целевая ДНК SCCmec не обнаружена, целевая ДНК <i>mecA</i> может быть обнаружена или не обнаружена, либо целевая ДНК SCCmec обнаружена и целевая ДНК <i>mecA</i> не обнаружена («пустая кассета»). • SPC – Н/П (NA) (неприменимо); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей SA может конкурировать с этим контролем. • Контроль зонда – ПРОЙДЕН (PASS); все проверки зондов пройдены успешно. Положительный результат анализа не свидетельствует однозначно о присутствии жизнеспособных микроорганизмов. Однако он указывает на возможность присутствия MRSA или SA.

Таблица 1. Результаты и интерпретация теста MRSA/SA SSTI (Продолжение)

Результат	Интерпретация
MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE); SA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (SA NEGATIVE) Рисунок 4	<p>Целевая последовательность ДНК <i>Staphylococcus aureus</i> не обнаружена. SPC соответствует критериям приемлемости.</p> <ul style="list-style-type: none"> ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (NEGATIVE) — Целевая последовательность ДНК <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>sra</i>) не обнаружена. Целевая последовательность ДНК <i>mecA</i> может быть обнаружена или не обнаружена, либо целевая последовательность ДНК <i>SCCmec</i> может быть обнаружена или не обнаружена. SPC – ПРОЙДЕН (PASS); Ct для SPC находится в допустимом диапазоне, и конечная точка находится выше установленного минимума. Контроль зонда – ПРОЙДЕН (PASS); все проверки зондов пройдены успешно. <p>Ложноотрицательный результат MRSA — MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE) вместо MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE); SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE) — может быть получен в случае присутствия в образце как MRSA, так и SA в соотношении MRSA:SA 1:1x10⁶ или больше.</p> <p>В клинических испытаниях в 5 из 246 MRSA-положительных культур выявлена смешанная инфекция MRSA и SA. Тест Xpert MRSA/SA SSTI определил 3 из этих 5 смешанных инфекций как MRSA-положительные и 2 из 5 как SA-положительные/ MRSA-отрицательные.</p>
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) Рисунок 5	<p>Присутствие или отсутствие целевых последовательностей ДНК MRSA/SA не может быть определено. Повторите тест согласно инструкциям, приведенным в расположенном ниже разделе. Результат SPC не соответствует критериям приемлемости, процесс обработки образца прошел ненадлежащим образом или ПЦР была ингибирована.</p> <ul style="list-style-type: none"> НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) — Невозможно установить наличие или отсутствие ДНК <i>Staphylococcus aureus</i>. SPC – НЕ ПРОЙДЕН (FAIL) — результат определения целевой последовательности SPC отрицательный, Ct SPC находится за пределами допустимого диапазона, и конечная точка находится ниже установленного минимума. Контроль зонда – ПРОЙДЕН (PASS); все проверки зондов пройдены успешно.
ОШИБКА (ERROR)	<p>Присутствие или отсутствие целевой последовательности ДНК MRSA/SA не может быть определено. Повторите тест согласно инструкциям, приведенным в расположенном ниже разделе. Контроль проверки зонда не пройден, вероятно, вследствие неправильного наполнения реакционной пробирки, проблемы с целостностью зонда или вследствие превышения пределов максимального давления.</p> <ul style="list-style-type: none"> MRSA – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) SA – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) SPC – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) Контроль зондов – НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)*; одна или несколько проверок в рамках контроля качества зондов не пройдены. <p>* Если проверка качества зондов пройдена, ошибка вызвана сбоем компонента системы.</p>
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	<p>Присутствие или отсутствие целевых последовательностей ДНК MRSA/SA не может быть определено. Повторите тест согласно инструкциям, приведенным в расположенном ниже разделе. Для получения результата теста было собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если оператор прервал текущий процесс теста.</p> <ul style="list-style-type: none"> MRSA – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) SA – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) SPC – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) Контроль зондов – Н/П (NA) (неприменимо)

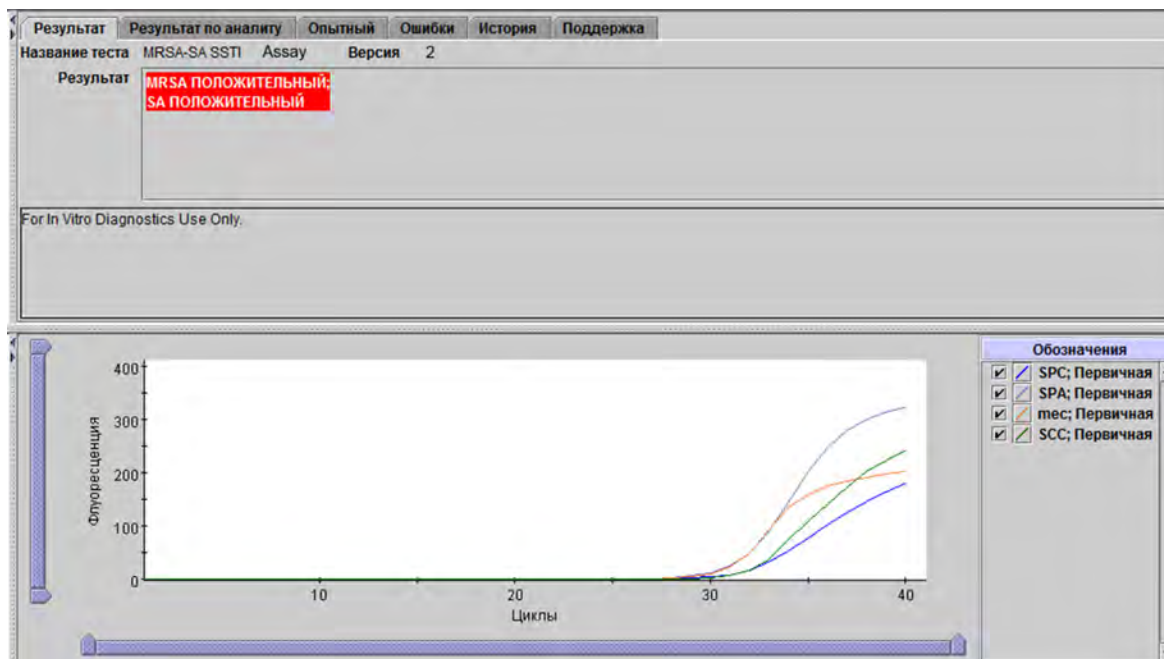


Рисунок 2. Пример результата MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ

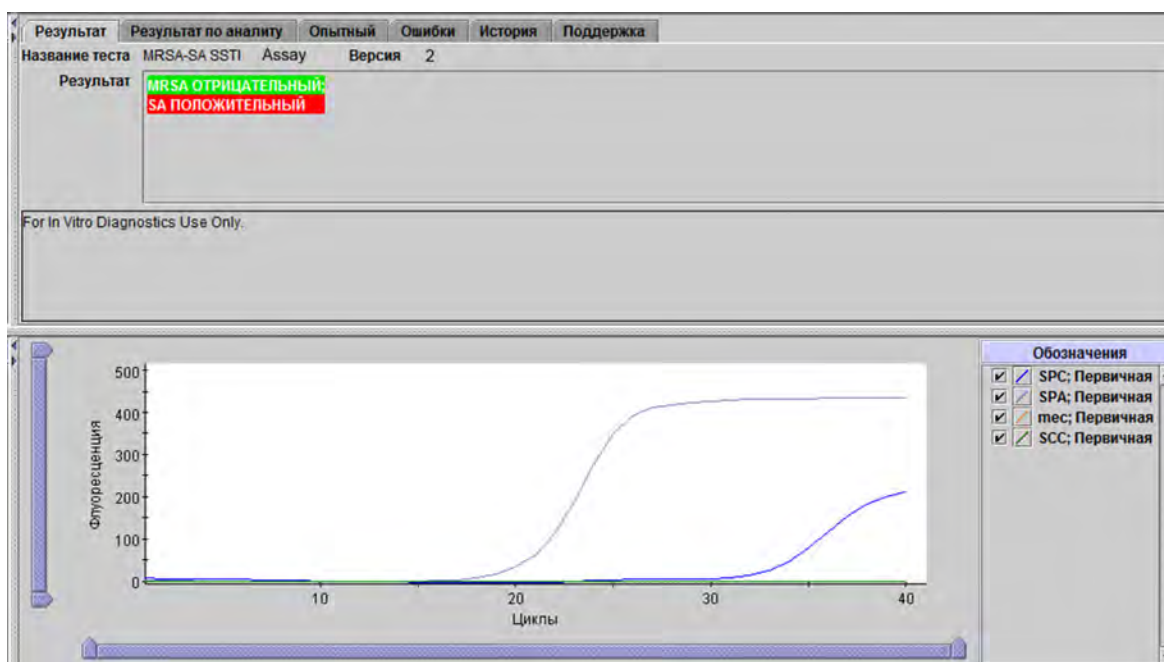


Рисунок 3. Пример результата MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ

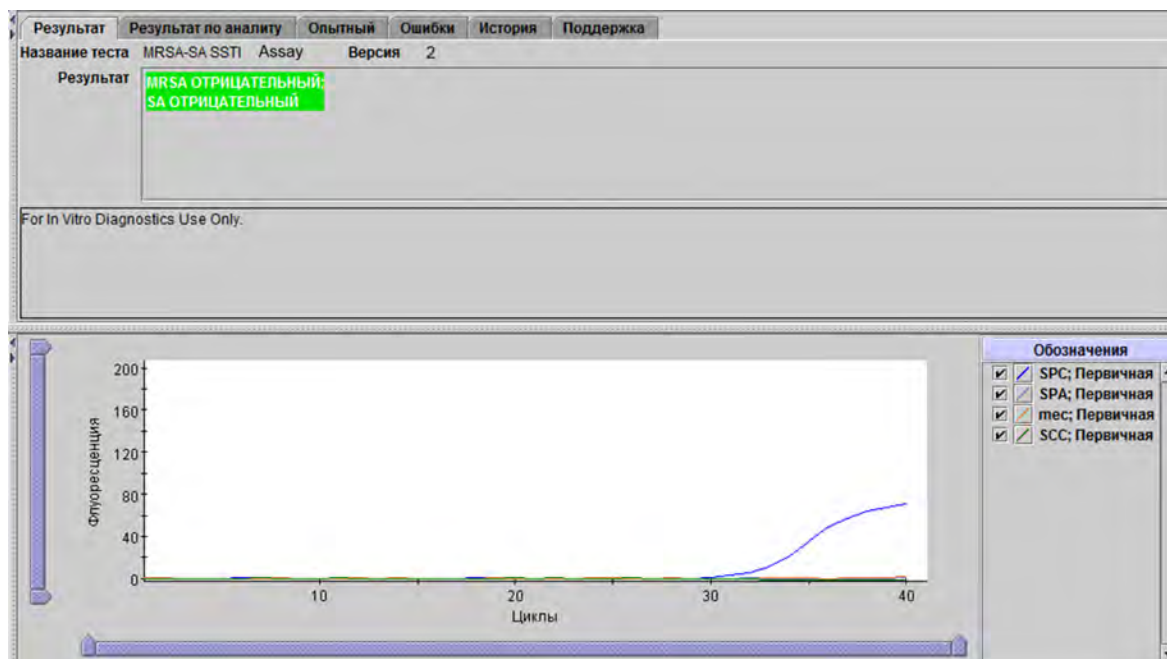


Рисунок 4. Пример результата MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; SA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ

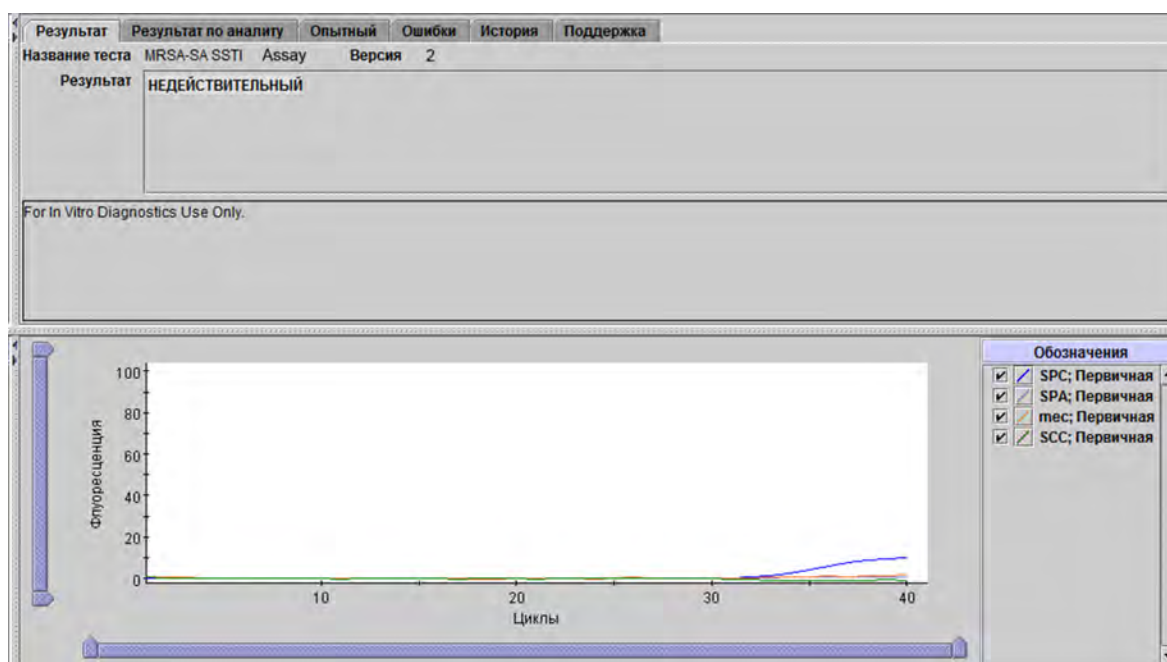


Рисунок 5. Пример результата НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ

17. Причины повторного выполнения теста

17.1 Причины повторного выполнения теста

Повторите тест с новым картриджем (не используйте картридж повторно) и новыми реактивами. Повторите тест не позднее 3 часов после получения неопределенного результата.

- Результат **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ** (INVALID) означает, что не пройден контроль SPC. Образец не был обработан надлежащим образом, или произошло ингибирование ПЦР.

- Результат **ОШИБКА (ERROR)** указывает на то, что проверка зондов не пройдена и тест был прерван, причинами чего может быть ненадлежащее заполнение реакционной пробирки, нарушение целостности зондов или превышение максимально допустимого давления.
- Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если лаборант прервал текущий процесс анализа.
- Если для внешнего контроля качества не получены ожидаемые результаты, повторите анализ с внешним контролем и (или) обратитесь за помощью в компанию Cepheid.

17.2 Повторный анализ

Повторите тест с новым картриджем (не используйте картридж повторно), и новым флаконом элюирующего реактива.

Повторите тест не позднее 3 часов после получения неопределенного результата:

1. Одноразовой пипеткой перенесите все остатки содержимого камеры для образца в новый элюирующий реактив.
2. Перемешайте на вихревой мешалке и добавьте все количество элюирующего реактива в камеру для образца нового картриджа теста MRSA/SA SSTI.
3. Закройте крышку и запустите новый тест.

* Если тест невозможно повторить в течение 3 часов, используйте новый образец.

18. Ограничения

- Функциональные характеристики теста Xpert MRSA/SA SSTI прошли валидацию только с использованием процедур, описанных в данном листке-вкладыше. Внесение изменений в эти процедуры может нарушить функциональные характеристики теста. Результаты, полученные с использованием теста Xpert MRSA/SA SSTI, следует интерпретировать с учетом других имеющихся у врача лабораторных и клинических данных.
- Тест Xpert MRSA/SA SSTI может обнаруживать ДНК MRSA и (или) SA в нежизнеспособных организмах. Вероятность такого результата повышается при исследовании пациентов, получающих антибиотики. В базовом клиническом исследовании частота ложноположительных результатов (по сравнению с выделением культуры) обнаружения SA у пациентов, получавших антибиотики на протяжении 3 недель перед выполнением теста Xpert MRSA/SA, составила 13,8%. Частота ложноположительных результатов (по сравнению с выделением культуры) обнаружения MRSA у пациентов, получавших антибиотики на протяжении 3 недель перед выполнением теста Xpert MRSA/SA, составила 9,5%.
- Положительный результат теста не свидетельствует однозначно о присутствии жизнеспособных микроорганизмов. Однако он указывает на возможность присутствия MRSA или SA.
- Тест Xpert MRSA/SA SSTI следует использовать в качестве дополнения к другим имеющимся методам.
- Ошибочные результаты анализа могут быть связаны с неправильным сбором образца, несоблюдением рекомендованной процедуры сбора проб или инструкций по обращению и хранению, технической ошибкой, перемешиванием проб или недостаточным для обнаружения при помощи данного теста количеством микроорганизмов в образце. Чтобы избежать получения ошибочных результатов, необходимо тщательно соблюдать инструкции, представленные в данном листке-вкладыше.
- Поскольку возможность обнаружения MRSA и SA зависит от количества присутствующих в образце микроорганизмов, достоверность результатов зависит от правильности сбора образца, обращения с ним и его хранения.
- Мутации или полиморфизм в участках связывания праймера или зонда могут отрицательно повлиять на возможность обнаружения новых или неизвестных вариантов MRSA и привести к получению ложноотрицательных результатов.
- В образцах, содержащих как MRSA, так и SA, тест Xpert MRSA/SA SSTI может не обнаружить метициллин-резистентные SA. (В базовом клиническом исследовании тест Xpert MRSA/SA SSTI не обнаружил микроорганизмы в 2 из 5 образцов, в которых выделена культура MRSA, при документированной смешанной инфекции MRSA/SA.)
- В смешанной культуре аналитический порог обнаружения MRSA изменчив при крайне высоких концентрациях SA. Конкуренция со стороны SA обнаруживалась при соотношении MRSA:SA 1:1x10⁶. В клинических испытаниях в 5 из 246 MRSA-положительных культур выявлена смешанная инфекция MRSA и SA. Тест Xpert MRSA/SA SSTI определил 3 из этих 5 смешанных инфекций как MRSA-положительные и 2 из 5 как SA-положительные/MRSA-отрицательные.
- Следующие вещества оказывали ингибирующее влияние на тест MRSA/SA SSTI: StaphA⁺Septic (5% масса/объем), гидрокортизон (5% масса/объем) и антибактериальное средство для обработки рук (5% масса/объем).

- Образцы, содержащие Mercurochrome, использовать не следует из-за его флуоресценции.
- Тест Xpert MRSA/SA SSTI может дать ложноположительный результат определения MRSA в образце смешанной инфекции SSTI, в котором присутствуют как метициллин-резистентный коагулазонегативный *Staphylococcus* (MRCNS), так и метициллин-чувствительный *Staphylococcus aureus* (SA) с «пустой кассетой».
- Поскольку с повторением теста связано разведение, возможны ложноотрицательные результаты повторного теста с MRSA- или SA-положительными образцами, имеющими концентрацию, равную или близкую к порогу обнаружения (LoD) теста Xpert MRSA/SA SSTI или на его уровне.

19. Вещества, препятствующие проведению анализа

В исследовательском испытании теста Xpert MRSA/SA SSTI в 428 из 848 образцов была обнаружена кровь и в 404 были обнаружены неспецифические вещества, которые могли препятствовать проведению анализа (обратите внимание на то, что некоторые образцы содержали более одного типа возможного загрязнения). Применение точного метода Фишера к результатам исследования зондов-тампонов с такими препятствующими веществами и без них выявило, что их присутствие не влияло на функциональные характеристики теста.

В доклиническом исследовании было определено непосредственное влияние на тест Xpert MRSA/SA SSTI веществ, препятствующих проведению анализа и возможно присутствующих в клинических образцах, взятых из инфицированных участков кожи или мягких тканей. К числу веществ, присутствующих в инфицированных участках кожи или мягких тканей и потенциально препятствующих проведению анализа, относятся, помимо прочего, следующие: кровь, гной, плазма, мази местного применения (с антибиотиками, антисептиками или болеутоляющими веществами), средства удаления разрушенных тканей и настойки. Эти вещества с указанием их активных компонентов и исследованных концентраций перечислены в Таблица 2 и Таблица 3. Следующие вещества оказывали ингибирующее влияние на тест MRSA/SA SSTI: StaphA +Septic (5% масса/объем), гидрокортизон (5% масса/объем) и антибактериальное средство для обработки рук (5% масса/объем).

Образцы, содержащие Mercurochrome, использовать не следует из-за его флуоресценции.

Таблица 2. Исследованные возможные вещества, присутствующие при SSTI и препятствующие проведению анализа

Вещество	Активный ингредиент	Исследованный %
Буфер TET (контроль)	Контроль	Контроль
Лейкоцитарная пленка (суррогат раны)	Лейкоциты (1,5e9/мл)	50% по объему
Цельная кровь (без MRSA/SA)	Неприменимо	50% по объему
Плазма	Неприменимо	50% по объему
Neosporin	400 единиц бацитрацина 5000 единиц полимиксина В 3,5 мг неомидина	1% и 5% (масса/объем)
StaphA+Septic	0,2% бензетония хлорид, 2,5% лидокаина гидрохлорид	1% и 5% (масса/объем)
Гидрокортизон	1% гидрокортизон	1% и 5% (масса/объем)
Мазь Boil-Ease	20% бензокаин	1% и 5% (масса/объем)
Настойка йода	2% йод	50% по объему

Таблица 3. Исследованные возможные вещества, присутствующие при SSTI и препятствующие проведению анализа

Вещество	Активный ингредиент	Исследованный %
Буфер ТЕТ (контроль)	Контроль	Контроль
Мупироцин	0,2% бензетония хлорид, 2,5% лидокаина гидрохлорид	5% масса/объем
Цельная кровь (без MRSA/SA)	Неприменимо	50% по объему
Солевой раствор	Хлорид натрия 0,65%	50% по объему
Антибактериальное средство для обработки рук	62% этиловый спирт	1% и 5% (масса/объем)
70% изопропиловый спирт	70% изопропиловый спирт	50% по объему

20. Ожидаемые значения

В клиническом исследовании Xpert MRSA/SA SSTI всего было собрано 848 образцов SSTI, взятых в четырех больших больницах на территории США. Произведено вычисление количества и процентов положительных результатов в разных возрастных группах относительно эталонного метода выделения культуры; результаты представлены в Таблица 4.

Таблица 4. Наблюдаемая частота MRSA и SA методом выделения культуры

Возрастная группа	Всего (n)	MRSA методом выделения культуры		SA методом выделения культуры	
		Количество положительных результатов	Наблюдаемая частота	Количество положительных результатов	Наблюдаемая частота
Возраст до 3 лет	34	11	32,4%	21	61,8%
Возраст от 3 до 18 лет	100	25	25,0%	55	55,0%
Возраст от 19 до 65 лет	614	188	30,6%	300	48,9%
Возраст 66 лет и старше	100	22	22,0%	35	35,0%

21. Функциональные характеристики

21.1 Клинические функциональные характеристики

Функциональные характеристики теста Xpert MRSA/SA SSTI определены в многоцентровом проспективном испытательном исследовании в четырех учреждениях США путем сравнения результатов тестов Xpert MRSA/SA SSTI с результатами контрольного выделения культуры. В число субъектов исследования включены лица, которым по стандарту оказания помощи положено взятие мазка с инфицированных участков кожи и мягких тканей для выделения культуры.

У каждого субъекта брали два мазка. Один мазок анализировали с использованием теста Xpert MRSA/SA SSTI в осуществляющем набор субъектов центре, а другой мазок направляли в центральную лабораторию для контрольного выделения культуры.

В центральной лаборатории выполняли обогащение образца в течение ночи в триптиказо-соевом бульоне с 6,5% NaCl. После этого триптиказо-соевый бульон высевали штрихом на планшеты с цефокситином (для MRSA) и без цефокситина (для SA). При наличии подозрительных на *S. aureus* колоний в планшетах для SA и (или) MRSA эти колонии пересеивали на планшеты с кровяным агаром. Подтверждение предположительно положительных колоний выполняли с использованием каталазы, пробирочного теста на коагулазу и окрашивания по Граму. МесА-обусловленную резистентность к оксациллину определяли диско-диффузионным методом на диске с 30 мкг цефокситина при пороге диаметра зоны подавления роста 21/22 мм. При отрицательных результатах исследования планшетов на SA MRSA выполняли посев сохраненного триптиказо-соевого бульона с 6,5% NaCl на кровяной агар с последующей обработкой для выявления SA/MRSA, как описано выше.

Функциональные параметры теста Xpert MRSA/SA SSTI вычисляли относительно результатов контрольного выделения культуры.

21.2 Общие результаты

Всего 848 образцов были исследованы на MRSA и SA с использованием теста Xpert MRSA/SA SSTI и выделения культуры.

Из исследованных 848 случаев в пригодной для анализа совокупности применение антибиотиков в течение 3 недель до взятия образца было зарегистрировано у 207 субъектов, неприменение антибиотиков было подтверждено у 441 субъекта и в 200 случаях статус антибиотикотерапии был неизвестен. Статистически достоверное снижение числа положительных результатов определения SA при выделении культуры было обнаружено в случаях применения антибиотиков ($p=0,007$); это явление было также описано в литературе.^{10, 11, 12, 13, 14} Частота положительных результатов выделения культуры на MRSA была также снижена, хотя и в меньшей степени ($p=0,022$). Снижения доли положительных результатов теста Xpert MRSA/SA SSTI в связи с применением антибиотиков не отмечено, а также не отмечено подавления теста в присутствии антибиотиков местного применения (см. раздел 20 «Вещества, препятствующие проведению анализа»). Снижение доли положительных результатов выделения культур MRSA и SA в присутствии антибиотиков привело к более высокой частоте ложноположительных результатов теста Xpert MRSA/SA SSTI по сравнению с ожидаемым уровнем.

В пяти (5) из 246 MRSA-положительных выделенных культур выявлена смешанная инфекция MRSA и SA. Тест Xpert MRSA/SA SSTI определил 3 из этих 5 смешанных инфекций как MRSA-положительные и 2 из 5 как SA-положительные/MRSA-отрицательные.

Функциональные параметры теста Xpert MRSA/SA SSTI представлены на таблицах от Таблица 5 до Таблица 7.

Таблица 5. Параметры выявления MRSA/SA у субъектов без применения антибиотиков (на протяжении 3 недель до взятия образцов) по сравнению с контрольным выделением культуры

	Культивирование			Всего
	MRSA+	SA+/MRSA-	Отриц./ Отсутствие роста	
MRSA+	137 ^a	2	6	145
SA+/MRSA-	3 ^b	79	16	98
SA-	6	4	188	198
Всего	146	85	210	441

^a в 1 из 137 была смешанная инфекция MRSA и SA.

^b в 2 из 3 была смешанная инфекция MRSA и SA.

Процент совпадений положительных результатов (MRSA+) = 93,8; 95% доверительный интервал = 88,6–97,1

Процент совпадений отрицательных результатов (MRSA+) = 97,3; 95% доверительный интервал = 94,7–98,8

Процент совпадений положительных результатов (SA+/MRSA+) = 95,7; 95% доверительный интервал = 92,2–97,9

Процент совпадений отрицательных результатов (SA+/MRSA+) = 89,5; 95% доверительный интервал = 84,6–93,3

У субъектов, не получавших антибиотики на протяжении 3 недель до взятия образцов, тест Xpert MRSA/SA SSTI определил 93,8% образцов, положительных по MRSA, и 97,3% образцов, отрицательных по MRSA относительно контрольного выделения культуры, а также 95,7% образцов, положительных по SA, и 89,5% образцов, отрицательных по SA относительно контрольного выделения культуры.

Среди этих субъектов, не получавших антибиотики, у 96,8% (427/441) успешные результаты были получены в первой попытке теста Xpert MRSA/SA SSTI. Остальные 14 дали при первой попытке неопределённые результаты: 6 — НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID), 7 — ОШИБКА (ERROR) и 1 — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT). Во всех из 14 случаев неопределённых результатов в первой попытке были получены результаты во второй попытке.

Таблица 6. Параметры выявления MRSA/SA у субъектов с неизвестным статусом антибиотикотерапии (на протяжении 3 недель до взятия образцов) по сравнению с контрольным выделением культуры

		Культивирование			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Отриц./ Отсутствие роста	Всего
Xpert	MRSA+	47 ^a	0	4	51
	SA+/MRSA-	2	45	8	55
	SA-	1	2	91	94
	Всего	50	47	103	200

^a в 2 из 47 была смешанная инфекция MRSA и SA

Процент совпадений положительных результатов (MRSA+) = 94,0; 95% доверительный интервал = 83,5–98,7

Процент совпадений отрицательных результатов (MRSA+) = 97,3; 95% доверительный интервал = 93,3–99,3

Процент совпадений положительных результатов (SA+/MRSA+) = 96,9; 95% доверительный интервал = 91,2–99,4

Процент совпадений отрицательных результатов (SA+/MRSA+) = 88,3; 95% доверительный интервал = 80,5–93,8

У субъектов с неизвестным статусом антибиотикотерапии на протяжении 3 недель до взятия образцов тест Xpert MRSA/SA SSTI определил 94,0% образцов, положительных по MRSA, и 97,3% образцов, отрицательных по MRSA относительно контрольного выделения культуры, а также 96,9% образцов, положительных по SA, и 88,3% образцов, отрицательных по SA относительно контрольного выделения культуры.

Среди этих субъектов с неизвестным статусом антибиотикотерапии у 97,0% (194/200) успешные результаты были получены в первой попытке теста Xpert MRSA/SA SSTI. Остальные 6 дали при первой попытке неопределённые результаты: 2 — НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID), 3 — ОШИБКА (ERROR) и 1 — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT). Во всех из 6 случаев неопределённых результатов в первой попытке были получены результаты во второй попытке.

Таблица 7. Параметры выявления MRSA/SA у субъектов, получавших антибиотики на протяжении 3 недель до взятия образцов, по сравнению с контрольным выделением культуры

		Культивирование			
		MRSA+	SA+/MRSA-	Отриц./ Отсутствие роста	Всего
Xpert	MRSA+	44	2	10	56
	SA+/MRSA-	3	31	19	53
	SA-	3	1	94	98
	Всего	50	34	123	207

Процент совпадений положительных результатов (MRSA+) = 88,0; 95% доверительный интервал = 75,7–95,5

Процент совпадений отрицательных результатов (MRSA+) = 92,4; 95% доверительный интервал = 87,0–96,0

Процент совпадений положительных результатов (SA+/MRSA+) = 95,2; 95% доверительный интервал = 88,3–98,7

Процент совпадений отрицательных результатов (SA+/MRSA+) = 76,4; 95% доверительный интервал = 67,9–83,6

У субъектов, получавших антибиотики на протяжении 3 недель до взятия образцов, тест Xpert MRSA/SA SSTI определил 88,0% образцов, положительных по MRSA, и 92,4% образцов, отрицательных по MRSA относительно контрольного выделения культуры, а также 95,2% образцов, положительных по SA, и 76,4% образцов, отрицательных по SA относительно контрольного выделения культуры.

Среди этих субъектов, получавших антибиотики, в 96,1% (199/207) пригодных для исследования образцов успешные результаты были получены в первой попытке теста Xpert MRSA/SA SSTI. Для остальных 8 образцов в первой попытке получены неопределенные результаты: 5 — **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ** (INVALID) и 3 — **ОШИБКА** (ERROR). Во всех из 8 случаев неопределенных результатов в первой попытке были получены результаты во второй попытке.

21.3 Варианты «пустой кассеты»

Для идентификации образца как MRSA-положительного в тесте Xpert MRSA/SA SSTI тест на *spr* должен быть положительным, как и тесты на *mecA* и *SCCmec*. Изолят, положительный в отношении *spr* и *SCCmec*, но не *mecA*, регистрируется как SA, так как он является метициллин-чувствительным. Эта ситуация наблюдается при эксцизии части элемента *SCCmec*, несущего *mecA*, если концы этого мобильного элемента остаются на месте и дают положительный сигнал *SCCmec*. Эти изоляты иногда называют вариантами «пустой кассеты», и они нередко встречаются в клинической практике. Значение этих изолятов состоит в том, что они могут внести путаницу в результаты теста на MRSA, непосредственно не обнаруживающего ген *mecA*. Тест Xpert MRSA/SA SSTI был разработан с целью правильной идентификации этих вариантов как SA.

Из пригодных для анализа образцов, включенных в анализы данных, представленные в этом сообщении, в общей сложности 16 изолятов соответствовали профилю пустой кассеты, давая положительные результаты тестов на *spr* и *SCCmec* без обнаружения *mecA* (Ct = 0), как показано в Таблица 8. Пятнадцать (15) из этих 16 были подтверждены как истинно MRSA-отрицательные изоляты по сравнению с выделением культуры, и 14 из 16 были подтверждены как истинно SA-отрицательные изоляты по сравнению с выделением культуры. Один изолят был идентифицирован как MRSA при выделении культуры, и 2 изолята были отрицательными по MRSA и SA при выделении культуры.

Таблица 8. Функциональные характеристики теста MRSA/SA SSTI по сравнению с контрольным выделением культуры — варианты «пустой кассеты»

Номер субъекта	Xpert Результат	<i>spr</i> (Ct)	<i>mecA</i> (Ct)	<i>SCCmec</i> (Ct)	Культивирование	Xpert по сравнению с выделением культуры	
						MRSA	SA
1	SA	23,6	0	26,0	SA	TN (истинно отрицательные)	TP (истинно положительные)
2	SA	14,7	0	16,5	SA	TN (истинно отрицательные)	TP (истинно положительные)
3	SA	20,5	0	34,0	SA	TN (истинно отрицательные)	TP (истинно положительные)
4	SA	18,4	0	21,0	SA	TN (истинно отрицательные)	TP (истинно положительные)
5	SA	15,6	0	28,4	MRSA	FN (ложноотрицательные)	TP (истинно положительные)
6	SA	17,2	0	31,6	SA	TN (истинно отрицательные)	TP (истинно положительные)
7	SA	34,1	0	35,6	Отриц.	TN (истинно отрицательные)	FP (ложноположительные)
8	SA	29,1	0	33,0	SA	TN (истинно отрицательные)	TP (истинно положительные)
9	SA	12,7	0	23,5	SA	TN (истинно отрицательные)	TP (истинно положительные)
10	SA	18,2	0	27,6	SA	TN (истинно отрицательные)	TP (истинно положительные)
11	SA	18,4	0	22,0	SA	TN (истинно отрицательные)	TP (истинно положительные)
12	SA	25,5	0	27,7	SA	TN (истинно отрицательные)	TP (истинно положительные)
13	SA	20,0	0	22,1	Отриц.	TN (истинно отрицательные)	FP (ложноположительные)
14	SA	26,0	0	28,3	SA	TN (истинно отрицательные)	TP (истинно положительные)
15	SA	23,9	0	25,7	SA	TN (истинно отрицательные)	TP (истинно положительные)
16	SA	19,9	0	34,0	SA	TN (истинно отрицательные)	TP (истинно положительные)

22. Аналитические функциональные характеристики

22.1 Аналитическая специфичность

Исследование перекрестной реактивности

Были собраны, количественно определены и исследованы тестом Xpert MRSA/SA SSTI сто пять (105) образцов. Исследованы 98 культур из Американской коллекции типовых культур (American Type Culture Collection, ATCC) и 7 штаммов из Сети противомикробной резистентности золотистого стафилококка (Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus*, NARSA), представляющих виды, филогенетически относящиеся к *Staphylococcus aureus* или встречающиеся в больничной обстановке.

Из них были включены в исследование метициллин-чувствительные коагулазонегативные стафилококки (29) и метициллин-резистентные коагулазонегативные стафилококки (9). Исследованные микроорганизмы были идентифицированы как грам-положительные (74), грам-отрицательные (28) или дрожжи (3). Дополнительно выполнена классификация микроорганизмов на аэробные (95) и анаэробные (10).

По два (2) или более повторов каждого изолята были исследованы при мутности 1,7–3,2 единиц МакФарланда. В условиях проведения исследования все изоляты были определены как отрицательные по SA и MRSA; с использованием теста Xpert MRSA/SA SSTI не был определен ни один из этих изолятов. В исследовании использовались положительный и отрицательный контроли. Аналитическая специфичность составила 100%.

22.2 Исследование штаммов BORSA

Были исследованы семь (7) хорошо охарактеризованных штаммов *Staphylococcus aureus* с пограничной резистентностью к оксациллину (BORSA), из которых один относился к типу с кажущейся «пустой кассетой» (см. выше). Метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus* резистентен ко всем β-лактамовым препаратам в связи с наличием альтернативного пенициллин-связывающего белка PBP2a, кодируемого геном *mecA*.¹⁵ Штаммы BORSA являются *mecA*-отрицательными, но имеют минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) оксациллина ≥ 2 и ≤ 8 мкг/мл. Особенно важно отличать MRSA от BORSA для предотвращения ненужного и нецелесообразного применения ванкомицина и профилактической изоляции, которые не требуются для пациентов, инфицированных штаммами, чувствительными к β-лактамам¹⁶.

В условиях этого исследования все 7 изолятов BORSA (в том числе изолят с кажущейся «пустой кассетой») давали в тесте Xpert MRSA/SA SSTI результат MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ как при высокой, так и при низкой концентрации клеток. Сигналы *mecA* не зарегистрированы. Эти результаты показали, что тест Xpert MRSA/SA SSTI правильно идентифицирует штаммы BORSA как MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ и не дает ложноположительного результата определения MRSA.

22.3 Аналитическая чувствительность

Исследования порога обнаружения

Были проведены исследования для определения 95% доверительных интервалов аналитического порога обнаружения (LoD) клеток *Staphylococcus aureus* (SA), и метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus* (MRSA) разведенных в матрикс суррогата раны человеческого происхождения. Матрикс суррогата раны состоял из лейкоцитарного концентрата, приготовленного путем центрифугирования цельной крови. Этот матрикс также содержал эритроциты и плазму, а также незначительное количество антикоагулянта (ЦФД или ЦФДА-1). Порог обнаружения определяли как наименьшее количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в пробе, которое может быть воспроизводимо с 95%-ным доверительным интервалом отличено от отрицательных образцов или как наименьшая концентрация, при которой 19 из 20 повторов были положительными.

Для MRSA выполняли исследование 20 повторов на каждой концентрации MRSA (КОЕ на зонд-тампон) 6 индивидуальных изолятов, представляющих типы SCCmec I, II, III, IVa, V и VI. По данным гель-электрофореза в пульсирующем поле (ГЭПП), обнаружены наиболее часто выделяемый в учреждениях здравоохранения штамм USA100 и наиболее часто выделяемый при внебольничных инфекциях штамм USA400.

Для SA выполняли оценку в 20 повторностях на каждой концентрации (КОЕ на зонд-тампон) в 3 отдельных изолятах SA. Были представлены типичные для США штаммы USA900 и USA1200.

Были определены значения и доверительные интервалы методом логистической регрессии с данными (число положительных результатов на число повторов каждого уровня) по всему диапазону значений числа КОЕ на один зонд-тампон. Доверительные интервалы были определены по методу максимального подобия при параметрах логистической модели с помощью вариационно-ковариационной матрицы с большой выборкой. Точечные оценки порога обнаружения с верхними и нижними границами 95% доверительного интервала для каждого исследованного типа SA и типа MRSA SCCmec показаны в Таблица 9 и Таблица 10.

Таблица 9. 95% доверительные интервалы порога аналитического обнаружения — SA

Идентификатор штамма SA	ГЭПП	LoD (КОЕ/мазок)	Нижняя граница 95% ДИ	Верхняя граница 95% ДИ
N7129	USA900	51	42	69
102-04	USA1200	87	76	109
29213	Неизв.	123	97	188

Таблица 10. 95% доверительные интервалы порога аналитического обнаружения — MRSA

Идентификатор штамма MRSA	SCCmec Тип	ГЭПП	LoD (КОЕ/мазок)	Нижняя граница 95% ДИ	Верхняя граница 95% ДИ
64/4176	I	USA500	221	195	271
N315	II	USA100	122	106	152
11373	III	Неизв.	124	115	155
MW2	IVa	USA400	82	68	113
ST59-MRSA-V	V	USA1000	242	208	305
HDE288	VI	USA800	183	161	223

Результаты этого исследования показали, что тест Xpert MRSA/SA SSTI дает положительный результат в отношении SA в 95% случаев с 95% надежностью при анализе мазка раневого содержимого, содержащего 150 КОЕ, и положительный результат в отношении MRSA в 95% случаев с 95% надежностью при анализе мазка раневого содержимого, содержащего 300 КОЕ.

Анализ Xpert MRSA/SA SSTI был применен для исследования 121 другого штамма *Staphylococcus aureus*. Суточные культуры выращивали в сердечно-мозговой среде (Brain Heart Infusion, BHI) и доводили до 0,5 единицы МакФарланда. Все штаммы были исследованы в трех повторностях с использованием 100 мкл клеточных суспензий культур, дополнительно разбавленных в 100 000–1 млн. раз.

Штаммы MRSA (78) и SA (43) были избраны так, чтобы они по филогенетической структуре широко представляли диапазон генетического разнообразия вида *Staphylococcus aureus*. Были выбраны штаммы первичных линий с особым вниманием к специфичным клональным комплексам, в которых обычно находится выявляемый MRSA. Были включены линии, содержащие MRSA и SA, а также содержащие исключительно SA.

Анализ Xpert MRSA/SA SSTI правильно идентифицировал 116 из 121 штаммов. В 5 случаях расхождений были выполнены дополнительные исследования на каталазу, коагулазу в пробирке и окрашивание по Граму. МечА-обусловленную резистентность к оксациллину определяли диско-диффузионным методом на диске с 30 мкг цефокситина при пороге диаметра зоны подавления роста 21/22 мм.

Исследованные в тесте Xpert MRSA/SA SSTI 3 из 78 штаммов MRSA определены как MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ. Дополнительные исследования показали, что эти штаммы не резистентны и были правильно отнесены к категории MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ.

Исследованные в тесте Xpert MRSA/SA SSTI 2 из 43 штаммов SA определены как MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ. Дополнительные исследования показали, что эти штаммы резистентны и были правильно отнесены к категории MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ.

Каждый из 12 известных изолятов USA300 был, как и ожидалось, правильно идентифицирован как MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ.

23. Исследование вариантов «пустой кассеты»

Двадцать два (22) изолята *Staphylococcus aureus* были идентифицированы как варианты «пустой кассеты» и исследованы в тесте Xpert MRSA/SA SSTI. Суточные культуры доводили до 0,5 единицы МакФарланда. Все штаммы были получены из культур, дополнительно разбавленных в 100 (высокая концентрация) или 100000 раз (низкая концентрация).

Тест Xpert MRSA/SA SSTI правильно идентифицировал все 22 изолята как MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ. При обеих исследованных концентрациях клеток были зарегистрированы только значения Ct для целевых последовательностей *spr* и *SCCmec*. Значения Ct для *mecA* не зарегистрированы.

24. Исследование контаминации продуктами предыдущей реакции

Исследование проводилось с целью показать, что применение одноразовых автономных картриджей GeneXpert позволяет предотвратить контаминацию отрицательных проб продуктами предыдущей реакции с использованием высокоположительных проб в том же модуле GeneXpert. Суть данного исследования состояла в том, что немедленно после анализа высокоположительного (примерно 107 КОЕ на один тест) образца с MRSA в том же модуле GeneXpert обрабатывали отрицательный образец. Эту процедуру повторяли 20 раз в двух модулях GeneXpert на протяжении в общей сложности 42 циклов. Не обнаружено признаков контаминации продуктами предыдущей реакции. Во всех 21 положительном образце получен правильный результат MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ. Во всех 21 отрицательном образце получен правильный результат MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; SA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ.

25. Воспроизводимость

Панель из 10 образцов с различными концентрациями SA, MRSA и *Staphylococcus epidermidis* (отрицательные) была исследована в двух повторностях в 10 различных дней в каждом из трех исследовательских центров (10 образцов × 2 раза в день × 10 дней × 3 центра). Во всех 3 исследовательских центрах использованы наборы теста Xpert MRSA/SA из одной партии. Тесты Xpert MRSA/SA были выполнены согласно предписанной процедуре теста Xpert MRSA/SA SSTI.

Таблица 11. Обзор результатов по воспроизводимости

Идентификатор образца	Центр 1	Центр 2	Центр 3	Общий % совпадений
Отриц. (MSSE)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
SA высокоотрицат.	100% (20/20)	100% (20/20)	90% (18/20)	96,7% (58/60)
SA низкоположит.	100% (20/20)	100% (20/20)	95% (19/20)	98,3% (59/60)
MRSA1 высокоотрицат.	100% (20/20)	90% (18/20)	100% (20/20)	96,6% (58/60)
MRSA1 низкоположит.	100% (20/20)	100% (20/20)	90% (18/20)	96,6% (58/60)
MRSA2 высокоотрицат.	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
MRSA2 низкоположит.	100% (20/20)	95% (19/20)	95% (19/20)	96,6% (58/60)
Общий процент совпадения по центрам	100% (140/140)	97,9% (137/140)	95,7% (134/140)	97,9% (411/420)

Таблица 12. Сводка значений Ct по уровням образца и зондам

SPC			
Уровень	Среднее	Ст. откл.	%KB
MRSA1 высокоотрицат.	34,52	0,82	2,36
MRSA2 высокоотрицат.	34,46	0,85	2,46
Отриц. (MSSE)	34,44	0,90	2,62
SA высокоотрицат.	34,38	0,92	2,66
Spa			
Уровень	Среднее	Ст. откл.	%KB
MRSA1 низкоположит.	32,96	0,8	2,44
MRSA2 низкоположит.	31,05	0,69	2,21
SA низкоположит.	33,91	0,8	2,35
mecA			
Уровень	Среднее	Ст. откл.	%KB
MRSA1 низкоположит.	33,25	0,80	2,40
MRSA2 низкоположит.	31,50	0,68	2,16
SCCmec			
Уровень	Среднее	Ст. откл.	%KB
MRSA1 низкоположит.	34,19	0,90	2,63
MRSA2 низкоположит.	33,13	0,68	2,05

Второе исследование воспроизводимости выполняли с применением панели из 4 образцов (SA: 10X LoD, MRSA1: 10X LoD, MRSA2: 10X LoD и отрицательный контроль: *Staphylococcus epidermidis*). Эти панели были исследованы в двух повторностях в 10 различных дней в каждом из трех исследовательских центров (4 образца × 2 раза в день × 10 дней × 3 центра). Во всех 3 исследовательских центрах использованы наборы теста Xpert MRSA/SA SSTI из одной партии. Тесты Xpert MRSA/SA SSTI были выполнены согласно предписанной процедуре теста Xpert Xpert MRSA/SA SSTI. Правильные результаты были получены в 239 из 240 тестов.

Таблица 13. Обзор результатов по воспроизводимости

Идентификатор образца	Центр 1	Центр 2	Центр 3	Общий % совпадений
Отриц. (MSSE)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
SA умеренно положит. ^a	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
MRSA1 умеренно положит. ^a	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
MRSA2 умеренно положит. ^a	100% (20/20)	100% (20/20)	95% (19/20)	98,3% (59/60)
Общий процент совпадения по центрам	100% (80/80)	100% (80/80)	98,8% (79/80)	99,6% (239/240)

^a 10X LoD

Таблица 14. Сводка значений Ct по уровням образца и зондам

SPC			
Уровень	Среднее	Ст. откл.	%КВ
MRSA1 умеренно положит.	35,72	1,87	5,24
MRSA2 умеренно положит.	36,29	2,66	7,34
SA умеренно положит.	34,55	1,19	3,44
Отриц.	34,45	1,06	3,09
Spa			
Уровень	Среднее	Ст. откл.	%КВ
MRSA1 умеренно положит.	29,52	1,30	4,40
MRSA2 умеренно положит.	28,91	1,03	3,57
SA умеренно положит.	30,59	0,91	2,99
mecA			
Уровень	Среднее	Ст. откл.	%КВ
MRSA1 умеренно положит.	29,78	1,28	4,29
MRSA2 умеренно положит.	29,32	1,24	4,22
SCCmec			
Уровень	Среднее	Ст. откл.	%КВ
MRSA1 умеренно положит.	31,49	1,26	3,99
MRSA2 умеренно положит.	31,05	1,12	3,59

26. Справочная литература

1. Bannerman TL. 2003 Chapter 28: Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci that Grow Aerobically. Manual of clinical microbiology, 8th ed. ASM Press Washington, DC. Pages 384-404.
2. Mainous AG, Hueston WJ, Everett, et al. 2006. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S aureus* in the United States, 2001-2002. An Family Medicine. 4(2):132-137.
3. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. Am J Infect Control 2004;32:470-85.
4. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Control of Endemic Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. JAMA 282(19):1745-51.
5. Shopsin B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Emerging Infectious Diseases 7(2) 323-6.
6. Salgado CD et al. 2003. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Meta-analysis of Prevalence and Risk Factors. CID 36:131.
7. Donnio, P-Y, Février F, Bifani P, et al. 2007. Molecular and epidemiological evidence for the spread of multiresistant methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains in hospitals. Antimicrobial. Agents Chemother. 51: 4342 – 4350.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
10. Ewig S, Schlochtermeyer M, Göke N, et al. 2002. Applying sputum as a diagnostic tool in pneumonia: limited yield, minimal impact on treatment decisions. Chest. 121:1486-1492.
11. RG Dotson and SK Pingleton. 1993. The effect of antibiotic therapy on recovery of intracellular bacteria from bronchoalveolar lavage in suspected ventilator-associated nosocomial pneumonia. Chest. 103, 541-546.
12. Souweine B, Veber B, Bedos JP, et al. 1998. Diagnostic accuracy of protected specimen brush and bronchoalveolar lavage in nosocomial pneumonia: impact of previous antimicrobial treatments. Crit Care Med. Feb;26(2):236-244.
13. Kanegaye JT, Soliemanzadeh P, Bradley JS, et al. 2001. Lumbar puncture in pediatric bacterial meningitis: defining the time interval for recovery of cerebrospinal fluid pathogens after parenteral antibiotic pretreatment. Pediatrics. 108(5):1169-1174.
14. Brook I, Gober A. 2005. Effects of amoxicillin and cefdinir on nasopharyngeal bacterial flora. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. Sep;131:785-787.
15. Nadarajah J, et. al., Identification of different clonal complexes and diverse amino acid substitutions in penicillin-binding protein 2 (PBP2) associated with borderline oxacillin resistance in Canadian *Staphylococcus aureus* isolates. J of Med Micro (2006), 55: 1675-1683.
16. Ribeiro J, et. al., Misclassification of Susceptible Strains of *Staphylococcus aureus* as Methicillin-Resistant *S. aureus* by a rapid Automated Susceptibility Testing System. (1999), 37: 1619-1620.
17. REGULATION (EO) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing. List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/EC (amending Regulations (EO) No 1907/2007).
18. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R, pt. 1910, subpt. Z).

27. Расположение штаб-квартиры корпорации Cepheid

Головной офис	Европейский офис
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089 USA (США)	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont France (Франция)
Телефон: +1 408.541.4191	Телефон: +33 563 825 300
Факс: +1 408.541.4192	Факс: +33 563 825 301
www.cepheid.com	www.cepheidinternational.com/

28. Техническая поддержка

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

Регион	Телефон	Электронный адрес
США	+1 888.838.3222	techsupport@cepheid.com
Австралия и Новая Зеландия	+ 1800 130 821 + 0800 001 028	techsupportANZ@cepheid.com
Бразилия и Латинская Америка	+55 11 3524 8373	latamsupport@cepheid.com
Китай	+86 021 5406 5387	techsupportchina@cepheid.com
Франция	+33 563 825 319	Support@cepheideurope.com
Германия	+49 69 710 480 480	Support@cepheideurope.com
Индия, Бангладеш, Бутан, Непал и Шри-Ланка	+ 91 11 48353010	techsupportindia@cepheid.com
Италия	+ 39 800 902 567	support@cepheideurope.com
Южная Африка	+27 86122 76 35	Support@cepheideurope.com
Великобритания	+44 3303 332 533	Support@cepheideurope.com
Бельгия, Нидерланды та Люксембург	+33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Другие страны Европы, Ближнего и Среднего Востока и Африки	+33 563 825 319 + 971 4 253 3218	Support@cepheideurope.com
Другие страны, не указанные выше	+1 408.400.8495	techsupport@cepheid.com

Контактные данные других офисов компании Cepheid можно найти на нашем веб-сайте www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com на вкладке **ПОДДЕРЖКА (SUPPORT)**. Выберите пункт «Связаться с нами» (Contact Us).

29. Условные обозначения

Символ	Значение
	Каталожный номер
	Медицинское устройство для диагностики <i>in vitro</i>
	Не использовать повторно
	Код партии
	Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно!
	Производитель
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов
	Контроль
	Срок годности
	Марка CE – Европейское соответствие
	Температурные ограничения
	Предостережение
	Биологическая опасность



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden (Швеция)

Изготовлено в Швеции



Xpert® MRSA/SA Blood Culture

REF GXMRSA/SA-BC-CE-10

Инструкция по применению

Набор реагентов для определения *Staphylococcus aureus*
(MRSA - инфекции) в крови Xpert MRSA/SA BC

Trademarks, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®], are trademarks of Cepheid.

The purchase of this product includes a limited, non-transferable license under U.S. Patent No. 7,449,289, owned by GeneOhm Sciences Canada, Inc (a subsidiary of Becton, Dickinson and Company), to use such product for human IVD use with a GeneXpert[®] instrument. No right under U.S. Patent No. 7,449,289 is conveyed, expressly, by implication, or by estoppel, to use this product for any other purpose.

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

Copyright © Cepheid 2019. All rights reserved.

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

Cepheid[®], логотип Cepheid, GeneXpert[®] и Xpert[®] являются товарными знаками компании Cepheid.

Приобретение данного продукта включает приобретение ограниченной, не подлежащей передаче лицензии по патенту США № 7,449,289, принадлежащего компании GeneOhm Sciences Canada, Inc (дочерняя структура компании Becton, Dickinson and Company), на использование данного продукта с прибором GeneXpert[®] с целью проведения диагностики in vitro у человека. По патенту США № 7,449,289 не передаются никакие права, ни в явной, ни в подразумеваемой форме, ни в случае лишения права на возражения, относящиеся к использованию данного продукта с какими-либо иными целями.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩЕЙ ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

Авторское право © Cepheid, 2019. Все права защищены.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Произведено в Швеции

Xpert® MRSA/SA Blood Culture

Только для диагностического применения *in vitro*

1. Фирменное название

Xpert® MRSA/SA Blood Culture (Xpert® MRSA/SA BC)

2. Наименование медицинского изделия

Набор реагентов для определения *Staphylococcus aureus* (MRSA - инфекции) в крови Xpert MRSA/SA BC (далее по тексту тест Xpert MRSA/SA BC)

3. Назначение

Тест Xpert MRSA/SA BC, выполняемый на системе GeneXpert® Dx, является качественным диагностическим тестом *in vitro*, предназначенным для быстрого одновременного обнаружения золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* (SA) и метициллин-резистентного золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* (MRSA) у пациентов с положительной гемокультурой. В данном тесте для обнаружения ДНК MRSA/SA используется автоматизированная технология полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Тест Xpert MRSA/SA BC предназначен для обнаружения и идентификации MRSA/SA во флаконах с положительной гемокультурой. Тест Xpert MRSA/SA BC показан к применению в сочетании с другими лабораторными тестами, например выделением культуры микроорганизмов, и имеющимися у клинициста клиническими данными как вспомогательное средство обнаружения MRSA/SA у пациентов с положительной гемокультурой. Для получения микроорганизмов с целью определения чувствительности к антибиотикам или эпидемиологического типирования необходим пересев положительного материала гемокультуры. Тест Xpert MRSA/SA BC не предназначен для контроля над лечением инфекций, вызванных MRSA или SA.

4. Краткие сведения и разъяснения

Staphylococcus aureus (SA) является широко распространенным внутрибольничным патогеном, который вызывает разнообразные заболевания, включая эндокардит, остеомиелит, синдром токсического шока, пищевые отравления, карбункулы и фурункулы. В начале 1950-х годов возникновение и распространение плазмид, продуцирующих бета-лактамазы, снизило эффективность пенициллина при лечении инфекций, вызванных *S. aureus*. С 1959 г. начал применяться метициллин, синтетический пенициллин. К 1960 г. были выявлены штаммы метициллин-резистентного *S. aureus*. Было определено, что это является результатом приобретения бактерией *S. aureus* гена *mecA*. Сегодня в США MRSA является причиной приблизительно 25% внутрибольничных инфекций, кроме того растет количество сообщений о внебольничных инфекциях MRSA, которые являются причиной значительной заболеваемости и смертности. В попытке ограничить распространение этих инфекций в разнообразных условиях систем здравоохранения разрабатываются и внедряются различные стратегии и правила контроля. Контроль MRSA является приоритетным направлением большинства программ контроля больничных инфекций. В настоящее время стандартным методом, используемым в эпидемиологическом контроле MRSA, является культуральный метод, который чрезвычайно трудоемок и требует много времени.^{1,2,3,4,5}

Быстрый и более чувствительный метод выявления MRSA и SA в во флаконах с положительными гемокультурами несомненно способен повысить эффективность лечения пациентов и выбора подходящего антибиотика.

5. Принципы проведения процедуры

В системе GeneXpert Dx объединены и автоматически выполняются такие процессы как очистка образцов, амплификация нуклеиновых кислот и обнаружение целевой последовательности в простых и сложных образцах с использованием полимеразной цепной реакции в режиме реального времени и с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Система состоит из прибора, персонального компьютера и предустановленного программного обеспечения для выполнения тестов и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи, которые содержат реактивы для ПЦР и в которых происходит ПЦР. Поскольку картриджи представляют собой замкнутые системы для проведения реакции, исключена перекрестная контаминация между образцами. Полное описание системы см. в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx*.

Набор реагентов Xpert MRSA/SA BC компании Cepheid содержит реактивы для обнаружения MRSA и SA, а также контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC), предназначенный для контроля правильности обработки целевых бактерий и выявления ингибитора (-ов) реакции ПЦР. Контроль зондов (Probe Check Control, PCC) предназначен для проверки правильности регидратации реактивов, заполнения пробирки для проведения ПЦР в картридже, целостности зондов и стабильности красителя.

Праймеры и зонды Xpert MRSA/SA BC обеспечивают обнаружение особых последовательностей, кодирующих стафилококковый белок A (*spa*), ген резистентности к метициллину/оксациллину (*mecA*) и стафилококковую хромосомную кассету *mec* (*SCCmec*, встроенную в хромосомный сайт *attB SA*).

6. Реактивы и приборы

6.1 Комплект поставки



Набор реагентов Xpert MRSA/SA BC содержит реактивы в количестве, достаточном для анализа 10 образцов или образцов контроля качества. В набор входят:

Картриджи Xpert MRSA/SA BC со встроенными реакционными пробирками

10

- Гранулы 1, 2 и 3 (лиофилизированные)
- Реактив 1
- Реактив 2 (гидроксид натрия)

1 в одном картридже

3,0 мл в каждом картридже

3,0 мл в каждом картридже

Элюирующий реагент Xpert MRSA/SA BC

10 x 2,0 мл на пакет

- Элюирующий реагент (гуанидина тиоцианат)

Одноразовые пипетки для переноса

12

Компакт-диск

1 в каждом наборе

- Файл с описанием теста (ADF)
- Инструкция по импортированию файла ADF в программное обеспечение GeneXpert
- Инструкция по применению

Инструкция по применению

1 в каждом наборе

Примечание

Паспорта безопасности вещества (Safety Data Sheet, SDS) можно найти по адресам www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com на вкладке **ПОДДЕРЖКА (SUPPORT)**.

Примечание

Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма бычьей крови животных, выращенных в США. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время обработки не происходило смешивания материала с другими материалами животного происхождения

6.2 Хранение и обращение



- Храните картриджи и реактивы Xpert MRSA/SA BC при температуре 2–28 °C.
- Не используйте реактивы или картриджи с истекшим сроком годности.
- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение анализа.
- Используйте картридж и реактивы в течение 30 минут после открывания крышки картриджа.
- Не используйте помутневшие или изменившие цвет реактивы.
- Срок годности: 24 месяца

7. Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Система GeneXpert Dx (номер по каталогу варьируется в зависимости от конфигурации): прибор GeneXpert, компьютер (с фирменным программным обеспечением GeneXpert версии 4.0 или выше), устройство считывания штрих-кода и руководство оператора.
- Принтер: если необходим принтер, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.
- Вихревая мешалка
- Одноразовые стерильные пипетки для переноса жидкостей

8. Приобретаемые материалы, не входящие в комплект поставки

Эталонные образцы KWIK-STIK™ производства компании Microbiologics, каталожные номера 0158MRSA и 0360MSSA в качестве положительных контролей и 0371MSSE (метициллин-чувствительный *Staphylococcus epidermidis*) в качестве отрицательного контроля.

9. Предупреждения и меры предосторожности



- При работе со всеми биологическими образцами, в том числе и с использованными картриджами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются Центрами контроля и профилактики заболеваний США (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁶ и Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁷
- Следуйте принятым в учреждении процедурам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.
- Xpert MRSA/SA BC не дает результатов, применимых для определения чувствительности. Для проведения теста на чувствительность требуется дополнительное время для культивирования.
- Не заменяйте реактивы Xpert MRSA/SA BC другими реактивами.
- Крышку картриджа Xpert MRSA/SA BC разрешается открывать только для добавления образца и реактива или выполнения повторного теста.
- Не используйте картридж, который упал, или который встряхивали после введения в него образца и реактива.
- Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- Каждый одноразовый картридж Xpert MRSA/SA BC применяется для проведения одного теста. Не используйте уже применявшиеся картриджи повторно.



- Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, при обращении с ними необходимо соблюдать стандартные меры предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реактивов следуйте принятым в вашем учреждении правилам защиты окружающей среды. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых национальных или региональных процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе правила не дают ясных указаний по правильному удалению в отходы, биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их удаления.¹¹

- В тесте Xpert MRSA/SA BC можно использовать гемокультуры на следующих средах:
 - Среда BACTEC™ PEDS PLUS™/F
 - Аэробная среда BACTEC™ Plus Aerobic/F
 - Анаэробная среда BACTEC™ Plus Anaerobic/F
 - Анаэробная среда BACTEC™ Standard Anaerobic/F
 - Аэробная среда BACTEC™ Standard/10 Aerobic/F
 - Флаконы для анаэробного культивирования BACTEC™ LYTIC/10 Anaerobic/F
 - Стандартная аэробная среда bioMérieux BacT/ALERT SA
 - Стандартная анаэробная среда bioMérieux BacT/ALERT SN
 - VersaTREK REDOX 1® (аэробная)
 - VersaTREK REDOX 2® (анаэробная)
- Нельзя использовать в Xpert MRSA/SA BC гемокультуры, выращенные на питательных средах с активированным углем.
- При помощи Xpert MRSA/SA BC следует исследовать только содержимое флаконов гемокультур с наличием положительного микробного роста.

10. Опасные химические факторы^{9,10}

- Символ опасности СГС ООН: 
- Сигнальное слово: ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ
- **Заявления об опасности СГС ООН**
 - Вредно при проглатывании
 - Вызывает раздражение кожи
 - Вызывает серьезное раздражение глаз
- **Меры предосторожности СГС ООН**
 - **Профилактика**
 - После использования тщательно вымыть.
 - Не принимать пищу, не пить и не курить в процессе использования этого продукта.
 - Избегать попадания в окружающую среду.
 - Пользоваться защитными перчатками, защитной одеждой, средствами защиты глаз/лица.
 - **Реагирование**
 - ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды с мылом.
 - Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед повторным использованием.
 - Требуется специальная обработка. См. дополнительную информацию о первой помощи.
 - При раздражении кожи: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
 - ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь, и если это легко сделать. Продолжить промывание.
 - Если раздражение глаз не проходит: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
 - ПРИ ПРИЕМЕ ВНУТРЬ: При плохом самочувствии немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту/терапевту.
 - Прополоскать рот.
 - **Хранение и удаление в отходы**
 - Удаление в отходы тары и/или содержимого должно осуществляться в соответствии с местными, региональными, государственными и/или международными нормами

11. Сбор, транспортировка и хранение образцов

1. Установив, что гемокультура является положительной, извлеките флаконы из инкубатора. Согласно стандартному лабораторному протоколу, следует выполнить окрашивание по Граму материала положительной гемокультуры. Если флакон с гемокультурой не получается извлечь из инкубатора на момент первоначального определения положительного результата, сделайте это при первой же возможности.
2. Из флаконов с положительной гемокультурой, в которых обнаруживаются скопления грам-положительных кокков или единичные грам-положительные кокки, возьмите аликвоту хорошо перемешанного бульона объемом 1 мл и пометьте идентификационным номером образца.

Примечание Результаты культурального исследования крови критически важны для лечения пациентов. Следуйте принятым в медицинском учреждении/лаборатории правилам и рекомендациям по уведомлению лечащего врача о результатах культурального исследования крови (в устной, письменной или электронной форме).

3. Если Xpert MRSA/SA BC не будет выполнен сразу, поместите аликвоту на хранение при температуре 2–8 °C не позднее чем через 30 минут после извлечения из флакона с гемокультурой. Аликвоту положительной гемокультуры необходимо исследовать при помощи Xpert MRSA/SA BC в течение 4 часов после извлечения из флакона.

12. Выделение культур микроорганизмов

Для выделения культур из образцов MRSA выполняйте существующие стандартные лабораторные рабочие процедуры. Для выделения культур неисследованные образцы на зондах-тампонах следует помещать в подходящие системы транспортировки для посева в течение 4 суток.

13. Процедура

13.1 Подготовка картриджа

Важно! Тест следует начать не позднее чем через 15 минут после добавления в картридж элюирующего реактива.

Порядок внесения образца и элюирующего реактива в картридж:

1. Извлеките картридж и флакон элюирующего реактива из набора.
2. При помощи малой пипетки для переноса внесите одну каплю (50 мкл) положительной гемокультуры в элюирующий реактив.

Примечание Для минимизации риска контаминации используйте стерильную марлю при работе с зондом-тампоном.

3. Закройте крышку флакона элюирующего реактива колпачком и перемешайте содержимое на вихревой мешалке при высокой скорости в течение 10 секунд.
4. Откройте крышку картриджа. Пользуясь стерильной пипеткой, полностью перенесите элюирующий реактив в камеру для образца картриджа Xpert MRSA/SA BC.
5. Закройте крышку картриджа.

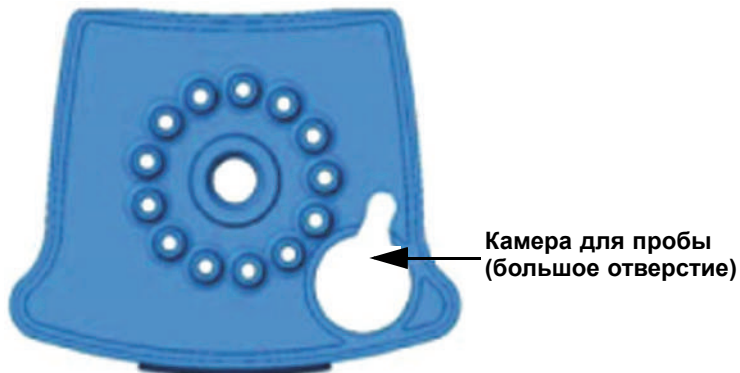


Рисунок 1. Картридж MRSA/SA BC (вид сверху)

13.2 Запуск теста

Важно! Перед началом анализа убедитесь в том, что файл с описанием Xpert MRSA/SA BC импортирован в программное обеспечение.

В данном разделе описаны требуемые по умолчанию действия для работы с прибором системы GeneXpert. Подробные инструкции см. в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx*.

Примечание Выполняемые вами действия могут быть другими, если системный администратор изменит установленную по умолчанию рабочую последовательность.

1. Включите прибор GeneXpert Dx, а затем включите компьютер. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически, или же может потребоваться двойной щелчок по ярлыку программного обеспечения GeneXpert Dx на рабочем столе Windows®.
2. Войдите в программное обеспечение GeneXpert Dx со своим именем пользователя и паролем.
3. В окне системы GeneXpert Dx выберите пункт «Создать анализ» (Create Test). Откроется окно «Создать анализ» (Create Test).
4. Отсканируйте «ID пациента» (Patient ID) (не обязательно). Если вводится «ID пациента» (Patient ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID пациента» (Patient ID) связывается с результатом теста и указывается в окне «Просмотреть результаты» (View Results).
5. Отсканируйте или введите вручную «ID образца» (Sample ID). Если вводится «ID образца» (Sample ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID образца» (Sample ID) связывается с результатами теста и указывается в окне «Просмотреть результаты» (View Results).
6. Отсканируйте штрих-код на картридже Xpert MRSA/SA BC. На основе информации, считанной со штрих-кода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «Выбрать тест» (Select Assay), «ID партии реактива» (Reagent Lot ID), «C/H картриджа» (Cartridge SN) и «Срок годности» (Expiration Date).

Примечание Если штрих-код картриджа теста Xpert MRSA/SA BC не сканируется, повторите тест с новым картриджем.

7. Щелкните **«Начать анализ» (Start Test)**. В открывшемся на экране диалоговом окне введите пароль.
8. Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
9. Закройте дверцу. После этого начинается анализ, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса анализа индикаторная лампа выключается.
10. Перед открытием модуля и извлечением картриджа дождитесь разблокирования системой замка дверцы.
11. Удалите в отходы использованные картриджи в подходящий контейнер для сбора отходов образцов согласно стандартной практике, принятой в вашем учреждении.

14. Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечисляются основные действия по просмотру и печати результатов. Подробные инструкции о просмотре и печати результатов приведены в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx*.

1. Для просмотра результатов выберите ярлык **«Просмотреть результаты» (View Results)**.
2. По завершении анализа выберите кнопку **«Отчет» (Report)** в окне «Просмотреть результаты» (View Results) для просмотра отчета и (или) получения отчета в формате PDF.

15. Контроль качества

15.1 Встроенные контроли качества

CONTROL

В каждый тест входит контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC) и контроль качества зондов (Probe Check Control, PCC).

- **Контроль обработки образца (SPC)** — позволяет удостовериться в правильности обработки образца. SPC содержит споры *Bacillus globigii* в форме сухой таблетки, которая имеется в каждом картридже для контроля правильности обработки образца в Xpert MRSA/SA BC. SPC позволяет верифицировать лизис *Staphylococcus aureus* (если он присутствует) и убедиться в правильности обработки образца. Кроме того, этот контроль позволяет выявить специфическое для данного образца ингибирование реакции при использовании метода ПЦР в режиме реального времени. Результат для контроля SPC должен быть положительным при отрицательном результате анализа образца и может быть как положительным, так и отрицательным при положительном результате анализа образца. Контроль SPC считается пройденным, если его результат соответствует валидированным критериям приемлемости.
- **Контроль зондов (PCC)** — перед запуском ПЦР система GeneXpert Dx измеряет флуоресцентный сигнал от зондов для отслеживания регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль зондов считается пройденным, если его результат соответствует установленным критериям приемлемости.

15.2 Внешние контроли

Эталонные образцы KWIK-STIK™ (Microbiologics, каталожные номера 0158MRSA и 0360SA в качестве положительных контролей и каталожный номер 0371MSSE в качестве отрицательного контроля) могут использоваться для обучения, тестирования профессиональных навыков и выполнения внешнего контроля качества в системе GeneXpert Dx. Внешние контроли могут использоваться в порядке, установленном соответствующими требованиями местных, региональных и федеральных уполномоченных органов. При использовании внешнего контроля следуйте приведенным ниже инструкциям компании Microbiologics:

1. Разорвав мешок по надрезу, извлеките эталонный образец KWIK-STIK.
2. Зажмите низ ампулы в колпачке, чтобы высвободить гидратирующую жидкость.
3. Удерживая их в вертикальном положении, постучите, чтобы облегчить перетекание жидкости по стержню на дно, где находится содержащая дозу гранула.
4. Для облегчения растворения гранулы с лиофилизированными клетками раздавите гранулу и осторожно сожмите нижнюю камеру.
5. Откройте упаковку KWIK-STIK, чтобы извлечь зонд-тампон, и вставьте зонд-тампон в пробирку, содержащую элюирующий реактив (черный колпачок).
6. Теперь зонд-тампон KWIK-STIK готов к Xpert MRSA/SA BC.

16. Интерпретация результатов

Результаты интерпретируются системой GeneXpert Dx на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета; они отображаются в окне «Просмотреть результаты» (View Results). Возможны следующие результаты:

Таблица 1. Результаты Xpert MRSA/SA BC и их интерпретация

Результат	Интерпретация
MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE) Рисунок 2	<p>Обнаружены целевые последовательности ДНК MRSA или обнаружена целевая последовательность ДНК SA.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE) — все целевые последовательности MRSA имеют Ct в допустимом диапазоне, и конечная точка находится выше установленного минимума. • SPC — НЕПРИМЕНИМО (NA); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей MRSA может конкурировать с этим контролем. • Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки зондов пройдены успешно.

Таблица 1. Результаты Xpert MRSA/SA BC и их интерпретация (Продолжение)

Результат	Интерпретация
MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)	<ul style="list-style-type: none"> Целевые последовательности ДНК MRSA не обнаружены или обнаружена целевая последовательность ДНК SA. SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (SA POSITIVE) — целевая последовательность SA имеет Ct в допустимом диапазоне, и конечная точка находится выше установленного минимума. SPC — НЕПРИМЕНИМО (NA); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей SA может конкурировать с этим контролем. Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки зондов пройдены успешно. Положительный результат анализа не свидетельствует однозначно о присутствии жизнеспособных микроорганизмов. Однако он указывает на возможность присутствия SA.
MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; SA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE) Рисунок 3	<ul style="list-style-type: none"> Целевая последовательность ДНК <i>Staphylococcus aureus</i> не обнаружена. SPC соответствует критериям приемлемости. ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (NEGATIVE) — целевая последовательность ДНК <i>Staphylococcus aureus</i> не обнаружена. SPC — ПРОЙДЕН (PASS); Ct для SPC находится в допустимом диапазоне, и конечная точка находится выше установленного минимума. Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки зондов пройдены успешно.
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) Рисунок 4	<ul style="list-style-type: none"> Невозможно установить наличие или отсутствие целевых последовательностей MRSA/SA; повторите тестирование с новым образцом. Результат SPC не соответствует критериям приемлемости, процесс обработки образца прошел ненадлежащим образом или ПЦР была ингибирована. НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) — невозможно установить наличие или отсутствие ДНК <i>Staphylococcus aureus</i>. SPC — НЕ ПРОЙДЕН (FAIL); результат определения целевой последовательности SPC отрицательный, Ct SPC находится за пределами допустимого диапазона, и конечная точка находится ниже установленного минимума. Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки зондов пройдены успешно.
ОШИБКА (ERROR)	<ul style="list-style-type: none"> Присутствие или отсутствие MRSA/SA не может быть установлено, повторите тест с новым образцом. Контроль зондов не пройден, вероятно, вследствие неправильного наполнения реакционной пробирки, проблемы с целостностью зонда или вследствие превышения пределов максимального давления. MRSA — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) SA — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) SPC — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) Контроль зондов — НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)*; одна или несколько проверок в рамках контроля качества зондов не пройдены. * Если контроль зондов пройден, ошибка вызвана сбоем компонента системы.
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	<ul style="list-style-type: none"> Присутствие или отсутствие целевых последовательностей ДНК MRSA/SA не может быть определено. Повторите тест согласно инструкциям, приведенным в расположенном ниже разделе. Для получения результата теста было собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если оператор прервал текущий процесс теста. MRSA — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) SA — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) SPC — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) Контроль зондов – НЕПРИМЕНИМО (NA)

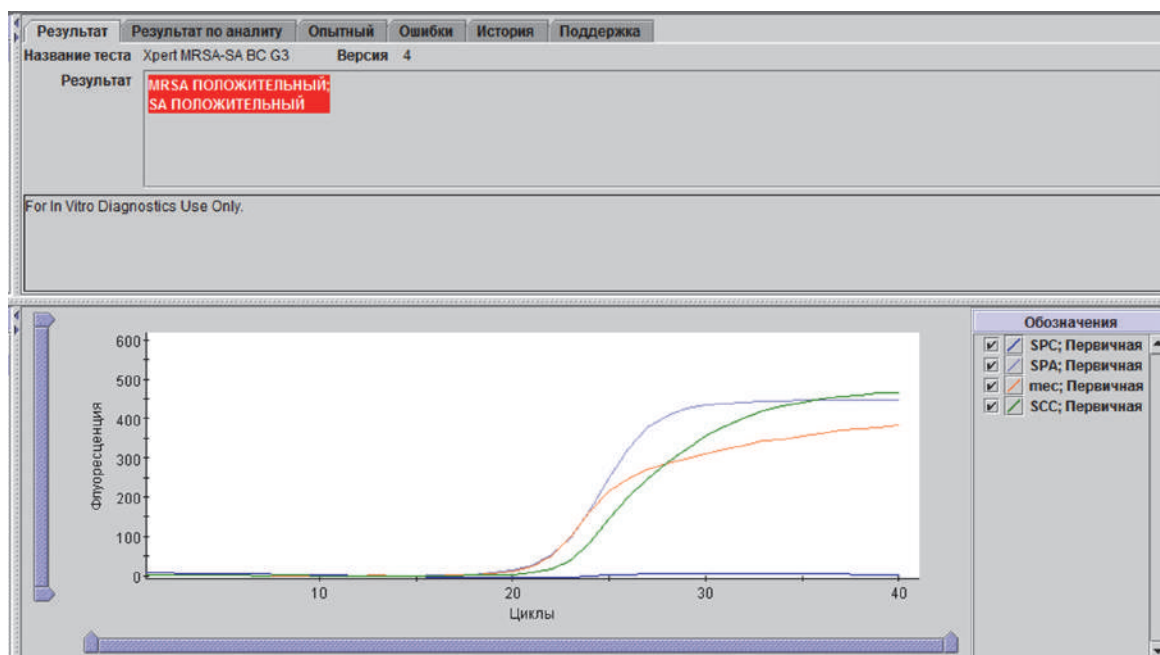


Рисунок 2. Пример результата «MRSA положительный»

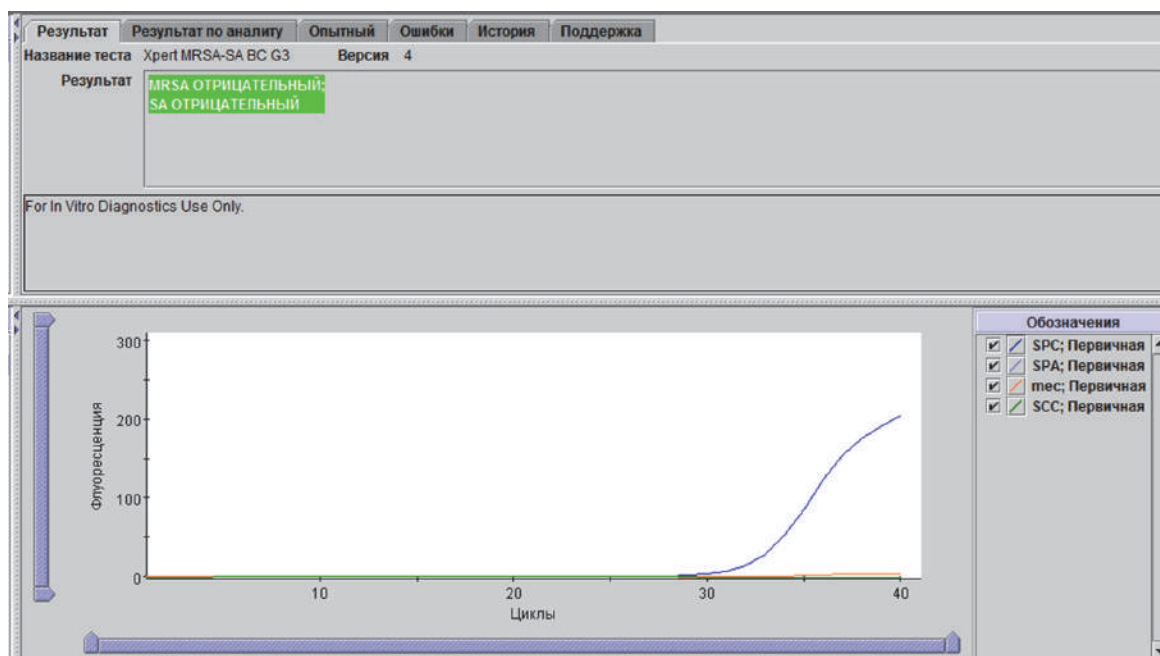


Рисунок 3. Пример отрицательного результата

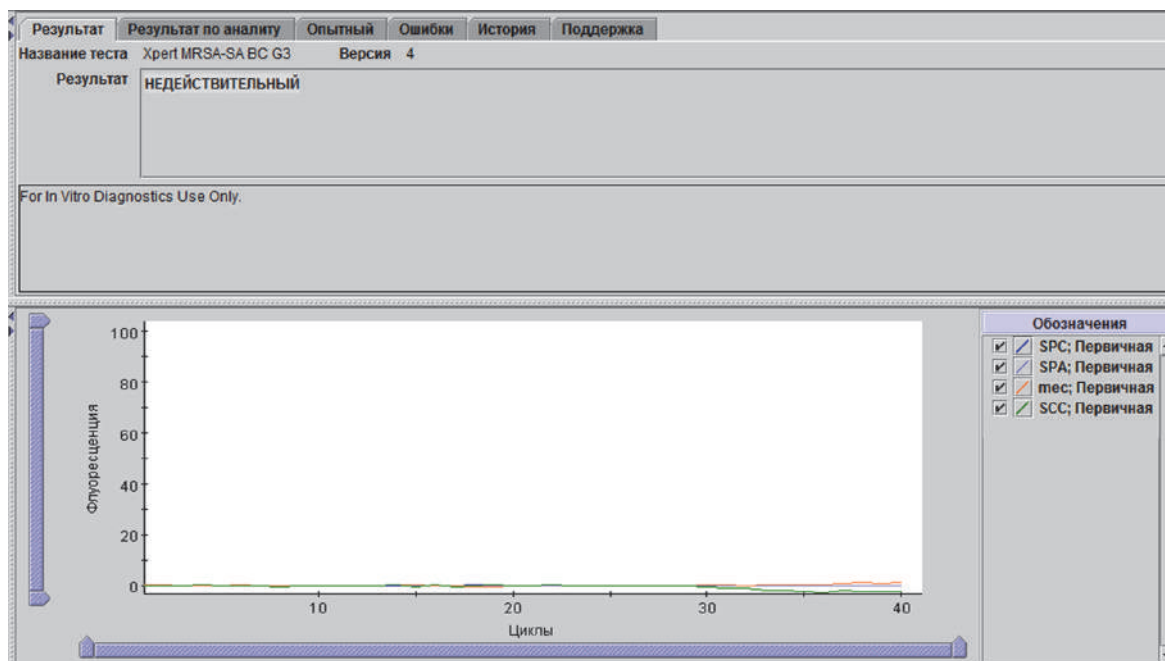


Рисунок 4. Пример результата «Недействительный»

17. Причины повторного выполнения теста

17.1 Причины повторного выполнения теста

При получении какого-либо из упомянутых ниже результатов теста повторите тест, используя новый картридж (не используйте старый картридж повторно). Повторите тест не позднее 3 часов после получения неопределенного результата.

- Результат **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** означает, что не пройден контроль SPC. Образец не был обработан в тесте надлежащим образом, или произошло ингибирование ПЦР.
- Результат **ОШИБКА (ERROR)** указывает на то, что не пройдена проверка зондов, и тест был прерван, причинами чего может быть ненадлежащее заполнение реакционной пробирки, нарушение целостности зондов или превышение максимально допустимого давления.
- Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если лаборант прервал текущий процесс анализа. Порядок повторного тестирования:
 - Перенесите оставшееся содержимое камеры для образца в новый элюирующий реактив.
 - Перемешайте на вихревой мешалке и добавьте все количество элюирующего реактива в камеру для образца нового картриджа Xpert MRSA/SA BC.
 - Закройте крышку и запустите новый тест.

17.2 Повторный анализ

Если для внешнего контроля качества не получены ожидаемые результаты, повторите анализ с внешним контролем и (или) обратитесь за помощью в компанию Cepheid.

Порядок повторного тестирования:

Если повторное тестирование выполняется в пределах 3 часов после получения неопределенного результата*:

- Одноразовой пипеткой перенесите все остатки содержимого камеры для образца в новый элюирующий реактив.
- Перемешайте на вихревой мешалке и добавьте все количество элюирующего реактива в камеру для образца нового картриджа теста MRSA/SA BC.
- Закройте крышку и запустите новый тест.

* Если тест невозможно повторить в течение 3 часов, используйте новый образец.

18. Ограничения

- Функциональные характеристики Xpert MRSA/SA BC прошли валидацию только с использованием процедур, описанных в данной инструкции по применению. Внесение изменений в эти процедуры может нарушить функциональные характеристики теста. Результаты, полученные с использованием Xpert MRSA/SA BC, следует интерпретировать с учетом других имеющихся у врача лабораторных и клинических данных.
- В Xpert MRSA/SA BC нельзя использовать гемокультуры, выращенные на питательных средах с активированным углем.
- Xpert MRSA/SA BC может давать ложно-отрицательные результаты определения MRSA при исследовании *S. aureus* с пограничной резистентностью к оксациллину (BORSA). Механизм резистентности к оксациллину в штаммах BORSA связан с повышенной продукцией β-лактамаз, а не с активностью гена *mecA*. BORSA со значениями МИК оксациллина от 4 до 8 мкг/мл считаются имеющими пограничную резистентность, однако тест Xpert MRSA/SA BC отнесет их к категории MRSA-отрицательных. Штаммы BORSA редки в Соединенных Штатах Америки.
- Тест Xpert MRSA/SA BC может давать ложно-отрицательные результаты определения MRSA при исследовании модифицированного *S. aureus* (MOD-SA). Механизм резистентности к оксациллину в штаммах MOD-SA связан с изменением сродства пенициллин-связывающих белков к оксациллину, а не с активностью гена *mecA*. MOD-SA со значениями МИК оксациллина от 4 до 8 мкг/мл считаются имеющими пограничную резистентность, однако тест Xpert MRSA/SA BC отнесет их к категории MRSA-отрицательных. Штаммы MOD-SA редки в Соединенных Штатах Америки. Ошибочные результаты анализа могут быть связаны с неправильным сбором образца, несоблюдением рекомендованной процедуры сбора проб или инструкций по обращению и хранению, технической ошибкой, перемешиванием проб или недостаточным для обнаружения при помощи данного теста количеством микроорганизмов в образце. Чтобы избежать получения ошибочных результатов, необходимо тщательно соблюдать инструкции, представленные в данной инструкции по применению.
- Поскольку возможность обнаружения MRSA и SA зависит от количества присутствующих в образце микроорганизмов, достоверность результатов зависит от правильности сбора образца, обращения с ним и его хранения.
- Положительный результат теста не свидетельствует однозначно о присутствии жизнеспособных микроорганизмов. Однако он указывает на возможность присутствия MRSA или SA.
- Тест Xpert MRSA/SA BC следует использовать в качестве дополнения к другим имеющимся методам.
- Мутации или полиморфизм в участках связывания праймера или зонда могут отрицательно повлиять на возможность обнаружения новых или неизвестных вариантов MRSA и привести к получению ложноотрицательных результатов.
- В смешанной культуре, содержащий как MRSA, так и SA, порог обнаружения MRSA изменчив при крайне высоких концентрациях SA. Конкуренция со стороны SA обнаруживалась при соотношении MRSA к SA 1:1x10⁶.
- Xpert MRSA/SA BC может дать ложноположительный результат определения MRSA в образце гемокультуры смешанной инфекции, в котором присутствуют как метициллин-резистентный коагулазонегативный *Staphylococcus* (MRCNS), так и метициллин-чувствительный *Staphylococcus aureus* (SA) с «пустой кассетой».
- Как и для других *in vitro* диагностических методов на основе ПЦР, возможно обнаружение целевых последовательностей в чрезвычайно низкой концентрации, ниже порога обнаружения теста, однако результаты могут являться невоспроизводимыми.
- При анализе с использованием Xpert MRSA/SA BC иногда можно получить **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** результат, когда контроль SPC оказывается не пройден, или такие результаты как **ОШИБКА (ERROR)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)**, что требует проведения повторного тестирования и может приводить к задержке получения окончательных результатов.
- Поскольку при повторном тестировании происходит разведение образца, возможны ложноотрицательные результаты повторного теста с MRSA- или SA-положительными образцами, имеющими концентрацию, равную или близкую к порогу обнаружения (LoD) Xpert MRSA/SA BC или на его уровне.

19. Субстанции, препятствующие проведению анализа

Для оценки потенциальных эффектов ингибирования в случае присутствия каких-либо субстанций в положительных гемокультурах при проведении Xpert MRSA/SA BC было проведено отдельное исследование. К субстанциям, потенциально способным препятствовать проведению анализа, относятся, в числе прочих, кровь и компоненты питательных сред для культивирования. Указанные субстанции проходили тестирование в неразбавленном виде в трех повторях с внесением клеток MRSA в районе аналитического порога обнаружения (~2,5 x LoD) и выше (~10 x LoD).

- Не наблюдалось ингибирующего эффекта в присутствии стандартного аэробного/анаэробного соево-казеинового бульона BACTECT™ (Becton Dickinson), содержащего натрия полианэтолсульфонат (SPS), или аэробных/анаэробных сред BACTECT™ PLUS, содержащих ионообменные и неионные адсорбирующие смолы для удаления антибиотиков, при сравнении с буфером в качестве контроля.
- Не наблюдалось ингибирующего эффекта в присутствии стандартного аэробного/анаэробного триптон-соевого бульона BacT/ALERT® (bioMérieux®), содержащего антикоагулянт SPS, при сравнении с буфером в качестве контроля.
- Не наблюдалось ингибирующего эффекта в присутствии цельной крови, при сравнении с буфером в качестве контроля.

20. Функциональные характеристики

20.1 Клинические функциональные характеристики

Функциональные характеристики Xpert MRSA/SA BC определяли в многоцентровом проспективном исследовании, проводившемся в 5 учреждениях (4 в США и 1 в ЕС), путем сравнения XpertMRSA/SA BC, выполняемого на системе GeneXpert, с культуральным методом. В исследование включали лиц с положительными гемокультурами. В исследовании использовали образцы гемокультур, выращенных в девяти различных типах флаконов для культивирования взрослого типа и одном педиатрическом флаконе. Флаконы с гемокультурами, содержащими уголь, исключали из исследования.

Аликвоты из каждого флакона с гемокультурой исследовали при помощи Xpert MRSA/SA BC и культуральным методом. В различных центрах могли использовать разные культуральные методы, но чувствительность к оксациллину/метициллину определяли во всех центрах диско-диффузионным методом с использованием дисков с 30 мкг цефокситина и пороговым значением 21/22 мм.

Функциональные характеристики Xpert MRSA/SA BC вычисляли относительно результатов контрольного культурального метода.

20.2 Общие результаты

Всего 406 образцов были исследованы на MRSA и SA с использованием теста Xpert и культурального метода; 212 в США и 194 в ЕС.

Xpert MRSA/SA BC определил 98,3% образцов, положительных на MRSA, и 99,4% образцов, отрицательных на MRSA, по сравнению с результатами культурального метода. Для исследованных образцов прогностическая ценность MRSA-положительного результата составила 96,6%, а прогностическая ценность MRSA-отрицательного результата составила 99,7%.

Xpert MRSA/SA BC определил 100% образцов, положительных на SA, и 98,6% образцов, отрицательных на SA, по сравнению с культуральным методом. Для исследованных образцов прогностическая ценность SA-положительного результата составила 96,7%, а прогностическая ценность SA-отрицательного результата составила 100%.

Таблица 2. MRSA — объединенные данные по центрам из США и ЕС

		Культуральный метод			
		+	-		
Тест Xpert MRSA/SA BC	+	57	2	59	Чувств. 98,3%
	-	1 ^a	346	347	Специф. 99,4%
		58	348	406	

^a Один образец, для которого было получен отрицательный результат в тесте Xpert MRSA/SA BC, был дополнительно исследован при помощи теста латексной агглютинации PBP2a (Oxiod, UK) по стандартной лабораторной методике. Результаты показали, что данный изолят характеризовался гиперпродукцией пенициллиназы, и был неверно определен как MRSA культуральным методом.

Таблица 3. SA — объединенные данные по центрам из США и ЕС

		Культуральный метод				
		+	-			
Тест Xpert MRSA/SA BC	+	120	4	124	Чувств.	100%
	-	0	282	282	Специф.	98,6%
		120	286	406		

21. Аналитические функциональные характеристики

21.1 Аналитическая специфичность

С использованием Xpert MRSA/SA BC исследовали 98 штаммов культур из Американской коллекции типовых культур (American Type Culture Collection, ATCC) и 7 из Сети противомикробной резистентности к золотистому стафилококку (Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus*, NARSA), представляющих собой виды, филогенетически родственные *Staphylococcus aureus*, или которые могут встречаться в больничных условиях, 29 штаммов метициллин-чувствительных коагулазонегативных стафилококков и 9 штаммов метициллин-резистентных коагулазонегативных стафилококков. Протестированные микроорганизмы были представлены 74 грам-положительными, 28 грам-отрицательными, 3 дрожжевыми грибами, 95 аэробными и 10 анаэробными видами. По два или более повторов для каждого изолята тестировали при показателе 1,7–3,2 единиц по МакФарланду. В условиях проведения исследования все изоляты были определены как отрицательные на SA и MRSA; с использованием Xpert MRSA/SA BC не был определен ни один из этих изолятов. В исследовании использовались положительный и отрицательный контроли. Специфичность теста составила 100%.

21.2 Аналитическая универсальность (инклюзивность)

Аналитическую универсальность (инклюзивность) Xpert MRSA/SA BC определяли с использованием 25 штаммов золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus*, предоставленных д-ром Фредом С. Теновером (Fred C. Tenover) из Центров по контролю и профилактике заболеваний США (Centers for Disease Control and Prevention, CDC). Сообщалось, что эти образцы являются репрезентативными для линий MRSA и MSSA, с которыми сталкивается современное здравоохранение. Все штаммы тестировали в трех повторах с использованием 100 мкл клеточных суспензий в стационарной фазе, разбавленных в 10 млн. раз. Панель состоит из штаммов MRSA, представляющих SCCmec типов II, IV, IVa, IVb и IVc, и несколько неизвестных типов. Данные, предоставленные CDC, указывали на то, что эти штаммы, будучи охарактеризованы с применением гель-электрофореза в пульсирующем поле (PFGE), представляют собой различные распространенные в США типы, включая USA 100, наиболее распространенный внутрибольничный штамм, и USA 300 и 400, наиболее распространенные штаммы внебольничных инфекций.⁸

Как показано в Таблица 4, с использованием Xpert MRSA/SA BC все штаммы MRSA правильно определены как MRSA-положительные и SA-положительные. Кроме того, все штаммы MSSA были правильно определены как MRSA-отрицательные и SA-положительные. После того как результаты тестов CHROMagar и Xpert MRSA/SA BC были предоставлены в CDC, его специалисты определили, что тест Xpert MRSA/SA BC не дал некорректного результата по определению образца 95:99. Образец 95:99 был ошибочно промаркирован сотрудниками CDC. С использованием теста Xpert MRSA/SA BC образец 95:99 был правильно определен как MRSA-отрицательный и SA-отрицательный. Количество колониеобразующих единиц в каждом тесте определялось путем подсчета по двум чашкам Петри.

Таблица 4. Аналитическая универсальность Хpert MRSA/SA BC

Лаборатор- ный иденти- фикатор	Отправитель	Источник	Тип PFGE	Тип SCC _{mec}	Результат CHROMagar MRSA	Результат теста Хpert MRSA/SA BC	Ct SPC	Ct spa	Ct mecA	Ct SCC	КОЕ на тест
94:1013	VT	Кожный очаг	USA1000	IV	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	34,7	30,7	31	32,6	152
95:99 ^a	CT	Кровь	USA500	IV	-	MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; SA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE)	34,1	0	0	0	37
96:308	NM	Кал	USA900	MSSA	-	MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)	34	29,4	0	0	201
96:281	NC	Кровь	USA200	II	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	33,4	33,6	34	35,3	101
148-99	NY	Кровь	USA600	II	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	34,3	33,2	33,1	35,2	43
182-99	MN	Неизвестно	USA400	IVa	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	43,7	26,7	27,1	28,7	417
18626	OH	Кровь	USA100	II	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	34,8	30,7	31	32,7	138
0:50	TN (истинно отрицательные)	Кал	USA600	не типировано	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	33,6	31,2	31,4	33,2	115
0-25-4	MS	Носовая полость	USA700	IVa	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	35,5	29,1	29,3	30,9	178
0-25-37	MS	Кожа/ мягкие ткани	USA300	IVa	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	34,7	32,3	32,7	34,2	94
1-1-81	WA	Носовая полость	USA400	не типировано	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	34,3	33	33,7	35,5	106
1-1-493	WA	Рана	USA800	IV	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	33,7	31,5	31,7	33,4	113

Таблица 4. Аналитическая универсальность Хpert MRSA/SA BC (Продолжение)

Лабораторный идентификатор	Отправитель	Источник	Тип PFGE	Тип SCC _{mec}	Результат CHROMagar MRSA	Результат теста Хpert MRSA/SA BC	Ct SPC	Ct spa	Ct mecA	Ct SCC	KOE на тест
N7129	NHANES	Носовая полость	USA900	MSSA	-	MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)	34,3	29,9	0	0	84
107-03	NV	Кровь	USA200	не типировано	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	34	33	33,3	34,9	99
GA201	GA-ABC	Неизвестно	USA100	II	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	33,6	32,3	32,4	34	95
GA217	GA-ABC	Неизвестно	USA300	IVb	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	33,6	30,8	31,2	33	121
GA229	GA-ABC	Неизвестно	USA500	IV	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	37,8	31,7	31,9	33,3	81
7031	AK	Абсцесс	USA1100	IVa	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	34,2	30,8	31,5	32,9	73
102-04	CA	Носовая полость	USA1200	MSSA	-	MRSA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)	33,9	29,4	0	0	110
8-03	WI	Неизвестно	USA700	не типировано	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	33,3	29	29,2	30,9	202
510-04	Уругвай	Абсцесс	USA1100	IVc	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	34,6	31,5	32	33,8	143
27-05	HI	Рана	USA800	IVc	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	40,7	27,8	28,1	29,8	373
CA46	CA	Кровь	USA1000	IV	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	33,4	32,6	33,7	35,8	81
398-05	HI	Рана	USA1000	IVb	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	33,6	32,8	33,4	35,9	59

Таблица 4. Аналитическая универсальность Xpert MRSA/SA BC (Продолжение)

Лабораторный идентификатор	Отправитель	Источник	Тип PFGE	Тип SCC _{mec}	Результат CHROMagar MRSA	Результат теста Xpert MRSA/SA BC	Ct SPC	Ct spa	Ct mecA	Ct SCC	KOE на тест
N4151	NHANES	Носовая полость	USA800	IVb	+	MRSA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ; SA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)	34	30,7	31,2	32,9	101

^a Образец 95:99: После того как результаты теста CHROMagar и Xpert MRSA/SA BC были предоставлены в CDC, его специалисты определили, что тест Xpert MRSA/SA BC правильно определил образец 95:99. Образец 95:99 был ошибочно промаркирован сотрудниками CDC. С использованием теста Xpert MRSA/SA BC образец 95:99 был правильно определен как MRSA-отрицательный и SA-отрицательный. Значения Ct представляют собой средние по трем повторам. Информация, содержащаяся в серых столбцах, предоставлена компании Cepheid д-ром Fred C. Tenover из CDC.

21.3 Аналитическая чувствительность

Для определения 95% доверительного интервала для аналитического порога обнаружения этого теста были проведены дополнительные исследования. Порог обнаружения определялся как наименьшее количество колониеобразующих единиц (KOE) в образце, который может воспроизводимо различаться при помощи теста от образцов, в которых бактерии не обнаруживались, с 95% доверительным интервалом. Было принято максимальное действительное значение для цикла, равное 36,0, при анализе данных по MRSA и SA. Все результаты для spa, mecA или SCC со значением Ct, превышающим 36,0, сообщались как отрицательные. Для MRSA (клетки типа II) выполнялась оценка семи концентраций (0, 50, 75, 100, 125, 150 и 200 КОЕ/образец) по 20 повторам. Для SA выполнялась оценка шести концентраций (0, 20, 25, 40, 50 и 60 КОЕ/образец) по 20 повторам.

По результатам этого исследования оценочный порог обнаружения (LoD) для SA составляет 48,0 КОЕ/образец с 95% доверительным интервалом от 42,4 КОЕ до 57,2 КОЕ, при максимальном действительном значении Ct, равном 36,0. Оценочное значение и границы доверительного интервала были определены с помощью метода логистической регрессии по данным (количество положительных результатов среди всего количества проведенных тестов пула образцов), полученным при шести уровнях концентрации (0, 20, 25, 40, 50 и 60 КОЕ/образец). Учтите, что в качестве аналитического порога обнаружения (LoD) для SA будет сообщаться консервативное значение 58 КОЕ/образец объемом 50 мкл.

Оценочное значение порога обнаружения (LoD) для MRSA составляет 109,4 КОЕ/образец в пределах 95% доверительного интервала от 98,8 КОЕ до 128,2 КОЕ. Оценочное значение и границы доверительного интервала были определены с помощью метода логистической регрессии по данным (количество положительных результатов среди всего количества проведенных тестов пула образцов), полученным при семи уровнях концентрации (0, 50, 75, 100, 125, 150 и 200 КОЕ/образец). Учтите, что в качестве аналитического порога обнаружения LoD для MRSA будет сообщаться консервативное значение 130 КОЕ/образец объемом 50 мкл.

Доверительные интервалы были определены по методу максимального подобия при параметрах логистической модели с помощью вариационно-ковариационной матрицы с большой выборкой.

22. Справочная литература

1. Mainous AG, Hueston WJ, Everett, CJ, Vanessa A. Diaz VA. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S aureus* in the United States, 2001-2002. *An Family Medicine*. 2006; 4(2): 132-137.
2. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control* 2004; 32: 470-85.
3. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. Control of Endemic Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *JAMA* 1999; 282(19): 1745-51.
4. Shopsin B, Kreiswirth BN. Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases* 2001; 7(2) 323-6.
5. Salgado CD et al. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Meta-analysis of Prevalence and Risk Factors. *CID* 2003; 36: 131.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
8. McDougal L, Steward C, Killgore G, Chaitram J, McAllister S, Tenover F. Pulsed-Field Gel Electrophoresis Typing of Oxacillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from the United States: Establishing a national Database. *J Clin Micro* 2003; 41(11): 5113-20.
9. REGULATION (EO) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing. List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/EC (amending Regulations (EO) No 1907/2007)
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R, pt. 1910, subpt. Z).
11. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. Accessed April 20, 2018 at http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/.

23. Расположение штаб-квартиры корпорации Cepheid

Головной офис	Европейский офис
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089 США	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont Франция
Телефон: +1 408.541.4191	Телефон: +33 563 825 300
Факс: +1 408.541.4192	Факс: +33 563 825 301
www.cepheid.com	www.cepheidinternational.com/

24. Техническая поддержка

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

Регион	Телефон	Электронный адрес
США	+1 888 838 3222	TechSupport@cepheid.com
Австралия и Новая Зеландия	+ 1800 130 821 + 0800 001 028	techsupportANZ@cepheid.com
Бразилия и Латинская Америка	+55 11 3524 8373	latamsupport@cepheid.com
Китай	+86 021 5406 5387	techsupportchina@cepheid.com
Франция	+33 563 825 319	Support@cepheideurope.com
Германия	+49 69 710 480 480	Support@cepheideurope.com
Индия, Бангладеш, Бутан, Непал и Шри-Ланка	+ 91 11 48353010	techsupportindia@cepheid.com
Италия	+ 39 800 902 567	support@cepheideurope.com
Южная Африка	+27 86122 76 35	Support@cepheideurope.com
Великобритания	+44 3303 332 533	Support@cepheideurope.com
Бельгия, Нидерланды и Люксембург	+33 563 825 319	Support@cepheideurope.com
Другие страны Европы, Ближнего и Среднего Востока и Африки	+33 563 825 319 + 971 4 253 3218	Support@cepheideurope.com
Другие страны, не указанные выше	+1 408 400 8495	TechSupport@cepheid.com

Контактные данные других офисов компании Cepheid можно найти на нашем веб-сайте www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com на вкладке **ПОДДЕРЖКА (SUPPORT)**. Выберите пункт **«Связаться с нами» (Contact Us)**.

25. Информация о производителе

Cepheid AB, Röntgenvägen 5, SE-171 54 Solna, Sweden

(Рентгенваген 5, SE-171 54 Сольна, Швеция)

Тел\факс: +46 (0)8 6843 7000

e-mail: techsupport@cepheid.com; support@cepheideurope.com

26. Гарантии производителя

Производство имеет сертифицированную на соответствие требованиям международных стандартов ISO 13485:2003 систему менеджмента качества.

По вопросам, касающимся качества и обращения набора реагентов Xpert MRSA\SA BC, обратитесь к уполномоченному представителю на территории РФ ООО «Бекмен Культиер». Российская Федерация 109004 г. Москва, ул.Станиславского, д.21, стр.3. +7 (495) 228-67-00. Beckman.ru@Beckman.com.

27. Условия утилизации

Использованные изделия относятся к отходам класса Б и утилизируются в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» (утв. постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 9 декабря 2010 г. N 163).

28. Условные обозначения

Символ	Значение
	Каталожный номер
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Не использовать повторно
	Код партии
	Марка CE – Европейское соответствие
	Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно!
	Производитель
	Страна-изготовитель
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов
	Контроль
	Срок годности
	Температурные ограничения
	Биологическая опасность



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Швеция
Изготовлено в Швеции



Xpert® MTB/RIF

REF GXMTB/RIF-10
REF GXMTB/RIF-50

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert® and Xpert® are trademarks of Cepheid.

Windows® is a trademark of Microsoft Corporation.

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

Copyright © Cepheid 2020. All rights reserved.

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

Cepheid®, логотип Cepheid, GeneXpert® и Xpert® являются товарными знаками компании Cepheid.

Windows® является товарным знаком Microsoft Corporation.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩЕЙ ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

Copyright © Cepheid 2020. Все права защищены.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden (Швеция)

Тел.: +46 8 6843 7000
Факс: +46 8 6843 7010

Служба технической поддержки:
TechSupport@cepheid.com

Xpert® MTB/RIF

Медицинское изделие для диагностики *in vitro*

Фирменное название

Тест Xpert® MTB/RIF

Наименование медицинского изделия

Тест Xpert MTB/RIF

1 Назначение

Тест Xpert® MTB/RIF представляет собой тест, предназначенный для использования с системой GeneXpert® производства компании Cepheid, с применением полуколичественной гнездовой ПЦР в реальном времени для диагностики *in-vitro*, который применяется для обнаружения:

- комплекса ДНК *Mycobacterium tuberculosis* в образцах мокроты или концентрированных продуктах осаждения, получаемых из образцов индуцированной или спонтанной мокроты, независимо от того, были ли выявлены кислотоустойчивые бактерии (КУБ) в мазках мокроты;
- мутаций гена *rpoB*, связанных устойчивостью к рифампицину, в образцах, получаемых от пациентов из группы риска развития устойчивости к рифампицину.

Тест Xpert MTB/RIF предназначен для проведения тестов образцов, которые берутся у пациентов, ранее не подвергавшихся лечению, у которых на основании клинических данных имеется подозрение на туберкулез (ТБ). Тест Xpert MTB/RIF предназначен для обнаружения *M. tuberculosis* (МБТ) или определения чувствительности к рифампицину, не прошел валидацию на предмет обследования пациентов, подвергавшихся противотуберкулезной терапии.

2 Краткие сведения и разъяснения

Каждый год во всем мире около 2 миллионов человек подвергаются инфицированию МБТ.¹ Ежегодно почти у 9 миллионов человек развивается активная форма заболевания, и 2 миллиона человек погибают от этой болезни. Активный туберкулез, который протекает в большинстве случаев в виде легочной формы, является высококонтагиозным заболеванием, передающимся воздушно-капельным путем. Учитывая инфекционную природу туберкулеза, важным элементом лечения и контроля над распространением заболевания является быстрая и точная диагностика.

Лечение заключается в длительном приеме нескольких лекарств, и обычно такое лечение бывает высокоэффективным. Однако штаммы МБТ могут приобретать устойчивость к одному или нескольким препаратам, что препятствует лечению. При противотуберкулезной терапии широко используются следующие четыре препарата первого ряда:

- Изониазид (INH)
- Рифампин (RIF или рифампицин)
- Этамбутол (EMB)
- Пиразинамид (PZA)

Устойчивость к RIF изредка возникает в условиях изоляции и обычно является признаком устойчивости к ряду других противотуберкулезных препаратов.² Устойчивость к RIF чаще всего отмечается у линий, устойчивым к нескольким лекарственным препаратам (МЛУ-ТБ), и как сообщается, в таких изолятах частота ее распространения превышает 95%.^{3, 4, 5} МЛУ-ТБ определяется как заболевание туберкулезом, вызываемое линией бактерий, устойчивых как минимум к INH и RIF. Устойчивость к рифампицину или к другим препаратам первого ряда обычно указывает на необходимость определения чувствительности ко всем препаратам, включая препараты второго ряда терапии.

Обнаружение при помощи молекулярных методов МБТ и мутаций гена *rpoB*, связанных с устойчивостью к рифампицину, ускоряет диагностику туберкулеза, вызываемого чувствительными к-антимикробным препаратам микобактериями, и МЛУ-ТБ. Благодаря тесту Xpert MTB/RIF это можно сделать менее чем за 2,5 часа, используя образцы свежей мокроты или подготовленные образцы осадка мокроты. Быстрое обнаружение МБТ и устойчивости к рифампицину позволяет врачу принимать важнейшие решения относительно лечения вскоре после начала обследования пациента.

3 Принципы проведения процедуры

В системе GeneXpert Dx объединены и автоматически выполняются следующие процессы: обработка образцов, амплификация нуклеиновых кислот и выявление целевых последовательностей в простых и сложных образцах с использованием ПЦР в реальном времени и ПЦР с обратной транскрипцией. Система состоит из анализатора, персонального компьютера, сканера штрих-кодов и предустановленного программного обеспечения для управления процессом проведения тестов собранных образцов и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи GeneXpert, которые содержат реактивы для ПЦР, и в которых проводится ПЦР. Поскольку картриджи представляют собой замкнутые системы для проведения реакции, исключается перекрестная контаминация между образцами. Полное описание системы представлено в руководстве системного оператора *GeneXpert Dx* или руководстве системного оператора *GeneXpert Infinity*.

Тест Xpert MTB/RIF содержит реактивы для обнаружения МБТ и устойчивости к рифампицину, а также контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC), предназначенный для контроля адекватности обработки целевых бактерий и выявления ингибиторов в среде, где проводится ПЦР. Контроль зондов (Probe Check Control, PCC) предназначен для проверки правильности регидратации реактивов, заполнения пробирки для проведения ПЦР в картридже, целостности зондов и стабильности красителя.

Праймеры теста Xpert MTB/RIF осуществляют амплификацию фрагмента гена *rpoB*, содержащего 81 пару оснований центрального участка. Зонды позволяют отличить консервативную последовательность микобактерии «дикого типа» от мутаций центрального участка, связанных с устойчивостью к рифампицину.

4 Реактивы и приборы

4.1 Комплект поставки

 Набор Xpert MTB/RIF (GXMTB/RIF-10) содержит достаточное количество реактивов для обработки 10 образцов, получаемых от пациентов, или контролей качества; набор реагентов Xpert MTB/RIF (GXMTB/RIF-50) содержит достаточное количество реактивов для обработки 50 образцов, получаемых от пациентов, или контролей качества. В набор Xpert MTB/RIF входят следующие компоненты:

Картриджи Xpert MTB/RIF со встроенными реакционными пробирками

	10 в каждом наборе	50 в каждом наборе
• Гранулы 1 и гранулы 2 (лиофилизированные)	по 2 каждого из типов в одном картридже	по 2 каждого из типов в одном картридже
• Гранулы 3 (лиофилизированные)	1 в одном картридже	1 в одном картридже
• Реактив 1	4,0 мл в одном картридже	4,0 мл в одном картридже
• Реактив 2	4,0 мл в одном картридже	4,0 мл в одном картридже

Флаконы с реактивом для пробоподготовки образца

	10 в каждом наборе	50 в каждом наборе
• Реактив для образцов (SR):	8 мл в одном флаконе	8 мл в одном флаконе
• Гидроксид натрия		
• Изопропанол		

Одноразовые пипетки для переноса

	12 в каждом наборе	60 в каждом наборе
Компакт-диск	1 в каждом наборе	1 в каждом наборе

- Файл с описанием теста (ADF)
- Инструкция по импорту ADF в программное обеспечение
- Инструкции по применению

Примечание

Цвет реактива для проб (SR) может варьироваться от бесцветного до желтого или янтарного. Цвет может становиться более интенсивным со временем, но он не влияет на рабочие характеристики реактива.

Примечание Паспорта безопасности вещества (Safety Data Sheet, SDS) можно найти по адресам www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com на вкладке **ПОДДЕРЖКА (SUPPORT)**.

Примечание Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма бычьей крови животных, выращенных в США. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время производства не происходило смешивания сырья с другими материалами животного происхождения.

Примечание На пипетки для переноса нанесено одно деление, показывающее минимальный объем обработанного образца, который необходимо перенести в картридж. Их следует применять только для этих целей. Все остальные пипетки должны приобретаться лабораторией отдельно.

4.2 Хранение и обращение



- Храните содержимое набора Xpert MTB/RIF при температуре 2-28 °C.
- Не используйте реактивы или картриджи с истекшим сроком годности.
- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение теста.
- После вскрытия пакета стабильность картриджей сохраняется в течение 6 недель при температуре от 2 °C до 45 °C.

5 Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Система GeneXpert Dx или система GeneXpert Infinity (каталожный номер зависит от конфигурации): Анализатор GeneXpert, компьютер, сканер штрих-кодов и руководство оператора
 - Для системы GeneXpert Dx: Программное обеспечение версии 4.0 или выше
 - Для систем GeneXpert Infinity-48: Программное обеспечение версии 4.3 или выше
 - Для систем GeneXpert Infinity-80 и Infinity-48s: Программное обеспечение Xpertise версии 6.0 или выше
- Принтер: Если необходим принтер, обратитесь к торговому представителю компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.
- Герметичные стерильные контейнеры с завинчивающейся крышкой для сбора образцов
- Одноразовые перчатки и средства защиты глаз
- Этикетки и/или нестираемый маркер
- Стерильные пипетки для обработки образцов

6 Предупреждения, меры предосторожности и опасные химические факторы

6.1 Предупреждения и меры предосторожности



- При работе со всеми биологическими образцами, в том числе и с использованными картриджами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются Центрами контроля и профилактики заболеваний США (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁶ и Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁷
- При работе с образцами и реактивами необходимо надевать одноразовые защитные перчатки, лабораторные халаты и средства индивидуальной защиты глаз. После работы с образцами и реактивами для проведения теста необходимо тщательно вымыть руки.
- Следуйте принятым в учреждении правилам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.
- Функциональные характеристики теста Xpert MTB/RIF для выявления МБТ не были установлены для образцов, полученных не из дыхательных путей (кровь, спинномозговая жидкость, кал или моча). Функциональные характеристики теста Xpert MTB/RIF не изучались для теста образцов, при обработке которых использовались методы, не описанные в данной инструкции по применению.
- При одновременной работе с несколькими образцами следует открыть только один картридж, ввести смесь «реактив для образцов — подготовленный образец», закрыть картридж, и только потом переходить к обработке следующего образца. Перчатки подлежат замене перед обработкой каждого последующего образца.

- Крышку картриджа Xpert MTB/RIF разрешается открывать только для введения подготовленного образца.
- Не используйте картридж, если он упал после извлечения из набора.
- Не используйте картридж, который падал или который встряхивали или с разлившимся содержимым после внесения подготовленного образца. Встряхивание или падение картриджа после вскрытия его крышки может привести к получению сомнительных результатов.
- Не используйте картридж с влажной поверхностью или с предположительно нарушенной герметичностью крышки.
- Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- ② • Все картриджи Xpert MTB/RIF предназначены для проведения одного теста. Не используйте повторно уже применявшиеся для теста картриджи.
- Ознакомьтесь с региональными/государственными требованиями по утилизации биологически опасных и медицинских отходов. В случае, когда в нормативных требованиях нет четких указаний по надлежащему удалению в отходы образцов или использованных картриджей, с ними следует обращаться как с возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний. Использованные картриджи следует удалять в отходы, обращаясь с ними как с химически опасными медицинскими отходами, согласно рекомендациям ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) по обращению с медицинскими отходами и их уничтожению.

6.2 Опасные химические факторы^{8,9}



Реактив для образцов:

Реактив для образцов содержит натрия гидроксид (рН > 12,5) и изопропанол.

- Символы опасности СГС ООН: 
- Сигнальное слово: ОПАСНО
- **Заявления об опасности СГС ООН**
 - Воспламеняющаяся жидкость и пар.
 - Вызывает тяжелые ожоги кожи и повреждение глаз.
 - Вызывает тяжелое повреждение глаз.
 - Предположительно вызывает генетические дефекты.
 - Предположительно неблагоприятно влияет на способность к деторождению или на развивающийся плод.
 - Может вызвать повреждение органов при длительном или повторяющемся воздействии.
- **Меры предосторожности СГС ООН**
 - Профилактика
 - Перед использованием получить специальные инструкции.
 - Перед использованием ознакомиться с инструкциями по технике безопасности.
 - Беречь от нагревания, искр, открытого огня и/или горячих поверхностей. Не курить.
 - Хранить в плотно закрытом контейнере.
 - Избегать вдыхания тумана, паров, вещества в распыленном состоянии.
 - После использования тщательно вымыть.
 - Пользоваться защитными перчатками, защитной одеждой, средствами защиты глаз/лица.
 - Использовать соответствующие индивидуальные средства защиты.
 - Реагирование
 - В случае пожара: Использовать соответствующие средства пожаротушения.
 - ПРИ ВДЫХАНИИ: Переместить пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении.
 - Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту/терапевту.
 - ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой/принять душ.
 - Выстирать загрязненную одежду перед повторным использованием.

- Требуется специальное лечение; см. дополнительную информацию о первой помощи.
- ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь, и если это легко сделать. Продолжить промывание.
- ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: Прополоскать рот. НЕ вызывать рвоту.
- ПРИ воздействии или подозрении на возможность воздействия: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
- При плохом самочувствии обратиться за помощью/консультацией к врачу.
- Хранение/удаление в отходы
 - Удаление в отходы содержимого и/или тары должно осуществляться в соответствии с местными, региональными, государственными и/или международными нормами.

7 Сбор, транспортировка и хранение образцов



Для данного теста можно использовать ресуспендированный осадок или свежую мокроту. Данные по необходимому объему образца представлены в Таблица 1.

таблица 1. Требуемый объем образца

Тип образца	Минимальный объем для одного теста	Минимальный полный объем для основного теста и повторного теста
Осадок мокроты	0,5 мл	1 мл
Свежая мокрота	1 мл	2 мл

Примечание Для получения надлежащего образца мокроты следуйте инструкциям данного раздела. Пациент должен сидеть или стоять.

7.1 Хранение и транспортировка



При хранении и транспортировке образцов до этапа их обработки следует при возможности поддерживать температуру от 2 до 8 °C. Однако при необходимости образцы могут храниться при температуре до 35 °C в течение ≤ 3 дней и при температуре от 2 до 8 °C в течение от 4 до 10 дней.

7.2 Процедура сбора образца

1. Пациент должен дважды прополоскать рот водой.
2. Откройте крышку контейнера для сбора мокроты.
3. Пациент должен глубоко вдохнуть, интенсивно откашляться и сплюнуть материал в контейнер. Материал не должен выливаться из контейнера или загрязнять его внешнюю поверхность.
4. Плотно закройте крышкой контейнер для сбора образца и отправьте контейнер в место, где будет проводиться обработка образца.

8 Процедуры теста

8.1 Подготовка осадков мороты

Примечание Отбракуйте образцы, содержащие явно видимые частицы пищи или другие твердые частицы.

Требования к объему: С помощью теста Xpert MTB/RIF можно исследовать осадок мокроты, приготовленный по методу Кента и Кубица¹⁰ и ресуспендированный в 67 мМ фосфатного буферного водного раствора. После разведения зарезервируйте не менее 0,5 мл ресуспендированного осадка для проведения теста Xpert MTB/RIF.

1. Нанесите на каждый картридж Xpert MTB/RIF идентификационные номера образцов. См. рисунок 1.

Примечание Наклейте на картридж этикетку с идентификационным номером или напишите номер маркером на боковой стороне картриджа. Не наклеивайте этикетку на крышку картриджа и не закрывайте этикеткой двухмерный штрих-код, имеющийся на картридже.

2. Перенесите с помощью стерильной пипетки не менее 0,5 мл полностью ресуспендированного осадка в коническую пробирку с завинчивающейся крышкой для проведения теста Xpert MTB/RIF. Также можно подвергнуть тесту весь образец мокроты, находящийся в исходной пробирке.

Примечание



Ресуспендированный осадок, который не будет сразу использоваться для теста, следует хранить при температуре от 2 до 8 °C. Срок хранения не должен превышать 12 часов.

3. Перенесите 1,5 мл реактива для образцов Xpert MTB/RIF в пробирку с 0,5 мл ресуспендированного осадка с помощью пипетки для переноса.
4. Энергично встряхните пробирку 10-20 раз или поместите ее в вихревую мешалку не менее чем на 10 секунд.

Примечание

Одно встряхивание — это одно движение пробиркой вперед-назад.

5. Инкубируйте в течение 10 минут при комнатной температуре и затем энергично встряхните пробирку 10-20 раз или поместите ее в вихревую мешалку не менее чем на 10 секунд.
6. Инкубируйте образец при комнатной температуре еще 5 минут.

8.2 Приготовление образцов мокроты после отхаркивания

Примечание

Отбракуйте образцы, содержащие явно видимые частицы пищи или другие твердые частицы.

1. Нанесите на каждый картридж Xpert MTB/RIF идентификационные номера образцов. См. рисунок 1.

Примечание

Наклейте на картридж этикетку с идентификационным номером или напишите номер маркером на боковой стороне картриджа. Не наклеивайте этикетку на крышку картриджа и не закрывайте этикеткой двухмерный штрих-код, имеющийся на картридже.



Рисунок 1. Маркировка картриджа маркером со стойкими чернилами

2. Образец находится в герметичном контейнере для сбора мокроты:
 - А. Осторожно откройте крышку контейнера для сбора мокроты.



Рисунок 2. Открывание контейнера с образцом мокроты

- В. Добавьте к мокроте реактив для образцов в объеме, приблизительно в 2 раза превышающем объем мокроты (разведение SR:мокрота должно составлять 2:1).

Примечание Выбросьте остаток реактива для образцов и флакон в контейнер для химических отходов.

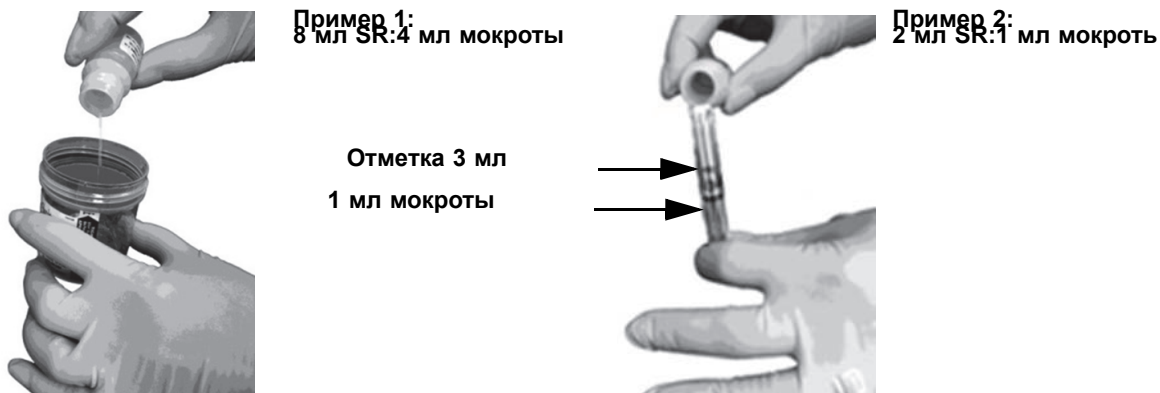


Рисунок 3. Примеры разведения 2:1

- С. Плотно закройте контейнер крышкой.
D. Энергично встряхните пробирку 10-20 раз или поместите ее в вихревую мешалку не менее чем на 10 секунд.

Примечание Одно встряхивание — это одно движение пробиркой вперед-назад.

3. Инкубируйте образец в течение 5 минут при комнатной температуре и затем энергично встряхните пробирку 10-20 раз или поместите ее в вихревую мешалку не менее чем на 10 секунд.
4. Инкубируйте образец при комнатной температуре еще 5 минут.

8.3 Подготовка картриджа

В случае применения системы GeneXpert Dx следует начинать тест не позднее чем через 4 часа после внесения образца в картридж. При использовании системы GeneXpert Infinity необходимо начать тест и установить картридж на конвейерную ленту в течение 30 минут после внесения образца, обработанного реактивом для образцов. Оставшийся срок хранения отслеживается программным обеспечением Xpertise, и тесты будут выполнены до истечения допустимого четырехчасового срока нахождения картриджей в системе.

Примечание

1. Откройте крышку картриджа, а потом откройте контейнер с образцом.
2. Возьмите входящую в набор пипетку для переноса и наберите разжиженный образец до отметки на пипетке. Если объем образца недостаточен, не используйте для теста этот образец. См. рисунок 4.



Рисунок 4. Аспирация до линии отметки на пипетке

3. Перенесите образец в камеру для образца картриджа Xpert MTB/RIF. Медленно дозируйте образец из пипетки, чтобы свести к минимуму риск образования аэрозоля. См. рисунок 5.



Рисунок 5. Внесение деконтаминированной разжиженного образца в камеру для образца картриджа

4. Плотнo закройте крышку картриджа.

Важно

Необходимо следить за тем, чтобы интервал между подготовкой картриджа и загрузкой картриджа в систему GeneXpert Dx не превышал 4 часов. При использовании системы GeneXpert Infinity необходимо начать тест и установить картридж на конвейерную ленту в течение 30 минут после внесения образца, обработанного реактивом для образцов. Оставшийся срок хранения отслеживается программным обеспечением Xpertise, и тесты будут выполнены до истечения допустимого четырехчасового срока нахождения картриджей в системе.

8.4 Запуск теста

Важно

Проследите за тем, чтобы файл с описанием теста Xpert MTB/RIF (ADF) был импортирован в программное обеспечение. В данном разделе перечисляются основные действия при выполнении теста. Подробные инструкции приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*.

Примечание

Выполняемые операции могут отличаться от здесь перечисленных, если системный администратор внес изменения в первоначальную последовательность операций системы.

1. Включите прибор GeneXpert:
 - При использовании прибора GeneXpert Dx вначале следует включить сам прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически, или же может потребоваться двойной щелчок по ярлыку GeneXpert Dx на рабочем столе Windows®.
 - или
 - При использовании прибора GeneXpert Infinity следует включить прибор. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически либо после двойного щелчка по ярлыку программного обеспечения Xpertise, находящегося на рабочем столе Windows.
2. Войдите в программное обеспечение приборной системы GeneXpert Dx, используя свое имя пользователя и пароль.
3. В окне системы GeneXpert щелкните **«Создать тест» (Create Test)** (для GeneXpert Dx) или **«Заказы» (Orders)**, а затем **«Заказать тест» (Order Test)** (для Infinity). Откроется окно «Создать тест» (Create Test).
4. Отсканируйте или введите вручную «ID пациента» (Patient ID). Если вводится «ID пациента» (Patient ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID пациента» (Patient ID) связывается с результатами теста и указывается в окне «Просмотреть результаты» (View Results) и во всех отчетах.

5. Отсканируйте или введите вручную «ID образца» (Sample ID). Если вводится «ID образца» (Sample ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID образца» (Sample ID) связывается с результатами теста и указывается в окне «Просмотреть результаты» (View Results) и во всех отчетах.
6. Просканируйте штрих-код на картридже Xpert MTB/RIF. На основе информации, считанной со штрих-кода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «Выбрать тест» (Select Assay), «ID партии реактива» (Reagent Lot ID), «С/Н картриджа» (Cartridge SN) и «Срок годности» (Expiration Date).
7. Щелкните **«Начать тест» (Start Test)** (для GeneXpert Dx) или **«Отправить» (Submit)** (для Infinity). В диалоговом окне в случае необходимости введите пароль.
8. При использовании системы GeneXpert Infinity поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, будет выполнен тест, а использованный картридж будет удален в контейнер для отходов.

или

Для прибора GeneXpert Dx:

- A. Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
- B. Закройте дверцу. После этого начинается тест, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса теста индикаторная лампа гаснет.
- C. Перед открытием модуля и извлечением картриджа дождитесь разблокирования системой замка дверцы.
- D. Использованные картриджи следует удалять в подходящие контейнеры для сбора отходов образцов согласно стандартным правилам, принятым в вашем учреждении.

8.5 Удаление использованных картриджей в отходы

1. Удаляйте использованные картриджи в контейнер для биологически опасных отходов с жесткими стенками, согласно стандартным правилам, принятым в учреждении. См. рисунок 6.



Рисунок 6. Удаляйте использованные картриджи в отходы должным образом

2. Не сжигайте использованные картриджи. См. рисунок 7.



Рисунок 7. Не сжигайте использованные картриджи.

3. Не сдавайте использованные картриджи для утилизации в местах захоронения отходов или на свалках. См. рисунок 8.



Рисунок 8. Не сдавайте использованные картриджи для утилизации в местах захоронения отходов.

8.6 Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечисляются основные действия по просмотру и печати результатов. Более подробные инструкции по просмотру и печати результатов представлены в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от того, какая модель используется.

Примечание

При передаче результатов заказчикам с использованием LIS удостоверьтесь, что результаты из системы соответствуют таковым в LIS для поля «ID пациента» (Patient ID); если в результатах имеется несоответствие, используйте только результаты системы.

1. Для просмотра результатов выберите ярлык **«Просмотреть результаты» (View Results)**.
2. По завершении теста выберите кнопку **«Отчет» (Report)** в окне «Просмотреть результаты» (View Results) для просмотра отчета и (или) получения отчета в формате PDF.

9 Контроль качества

В каждый тест входит контроль обработки образца (SPC) и контроль качества зондов (PCC).

SPC: Позволяет удостовериться в правильности обработки образца в процессе теста. SPC содержит не обладающие инфицирующей способностью споры в виде сухой пластинки, которая имеется в каждом картридже для проверки адекватности обработки МБТ. SPC позволяет верифицировать лизис МБТ (если они присутствуют в образце) и убедиться в правильности обработки образца. Кроме того, этот контроль позволяет выявить ингибирование реакции при использовании метода ПЦР в реальном времени.

Результат для контроля SPC должен быть положительным при отрицательном результате теста образца и может быть как положительным, так и отрицательным при положительном результате теста образца. Контроль SPC считается пройденным, если его результат соответствует прошедшим валидации критериям приемлемости. Если контроль SPC не обнаруживается при получении отрицательного результата теста, то результат такого теста будет помечен как **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)**.

РСС: Перед запуском ПЦР система GeneXpert измеряет флуоресцентный сигнал от зондов для проверки регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль РСС считается пройденным, если его результат соответствует установленным критериям приемлемости.

10 Интерпретация результатов

Результаты выдаются анализатором GeneXpert на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета. Результаты отображаются в окне «Просмотреть результаты» (View Results). См. конкретные примеры в работах рисунок 9, рисунок 10 и рисунок 11; перечень всех возможных результатов содержится в работе Таблица 2.

таблица 2. Результаты теста Xpert MTB/RIF и их интерпретация

Результат	Интерпретация
МБТ ОБНАРУЖЕНА СРЕДНИЙ; Rif Resistance НЕ ОБНАРУЖЕНА (MTB DETECTED MEDIUM; Rif Resistance NOT DETECTED) См. рисунок 9.	В образце присутствует целевая последовательность МБТ: <ul style="list-style-type: none"> Мутация в гене groV не выявлена. SPC: NA (неприменимо). Сигнал контроля SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации МБТ с данным контролем. Проверка зондов: ПРОЙДЕНО (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
МБТ ОБНАРУЖЕНА НИЗКИЙ; Rif Resistance ОБНАРУЖЕНА (MTB DETECTED LOW; Rif Resistance DETECTED) См. рисунок 10.	В образце присутствует целевая последовательность МБТ: <ul style="list-style-type: none"> Обнаружена мутация гена groV, которая соответствует допустимому уровню экспрессии дельта Ct. SPC: NA (неприменимо). Сигнал контроля SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации МБТ с данным контролем. Проверка зондов: ПРОЙДЕНО (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
МБТ ОБНАРУЖЕНА; УСТОЙЧИВОСТЬ к рифампицину ПРОМЕЖУТОЧНАЯ (MTB DETECTED; Rif Resistance INDETERMINATE)	В образце присутствует целевая последовательность МБТ: <ul style="list-style-type: none"> Не удалось установить наличие или отсутствие устойчивости к RIF вследствие недостаточной интенсивности полученного сигнала. SPC: NA (неприменимо). Сигнал контроля SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации МБТ с данным контролем. Проверка зондов: ПРОЙДЕНО (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
МБТ не выявлены (MTB Not Detected) См. рисунок 11.	В образце отсутствует целевая последовательность МБТ: <ul style="list-style-type: none"> SPC: ПРОЙДЕНО (PASS). Результат для SPC соответствует критериям приемлемости. Проверка зондов: ПРОЙДЕНО (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.

таблица 2. Результаты теста Xpert MTB/RIF и их интерпретация

Результат	Интерпретация
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)	<p>Присутствие или отсутствие МБТ в образце установить невозможно. Результат для SPC не соответствует критериям приемлемости, процесс обработки образца прошел ненадлежащим образом или ПЦР была ингибирована. Повторите тест. См. раздел 10.2, «Процедура повторного теста».</p> <ul style="list-style-type: none"> МТВ НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ ТЕСТА НА МБТ (INVALID): Невозможно установить, присутствует или отсутствует в образце ДНК МБТ. SPC: НЕ ПРОЙДЕНО (FAIL). Результат теста на целевую последовательность МБТ отрицательный, при этом результат для SPC не находится в пределах допустимого диапазона. Проверка зондов: ПРОЙДЕНО (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
ОШИБКА (ERROR)	<p>Присутствие или отсутствие МБТ в образце установить невозможно. Повторите тест. См. раздел 10.2, «Процедура повторного теста».</p> <ul style="list-style-type: none"> МТВ (МБТ): НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) SPC: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) Проверка зондов: НЕ ПРОЙДЕНО (FAIL). Все или одна из проверок в рамках контроля качества зондов не пройдены(-а). <p>Примечание: Если проверка качества зондов пройдена, ошибка вызвана сбоем компонента системы.</p>
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	<p>Присутствие или отсутствие МБТ в образце установить невозможно. Повторите тест. См. раздел 10.2, «Процедура повторного теста». Сообщение РЕЗУЛЬТАТ ОТСУТСТВУЕТ (NO RESULT) свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если лаборант прервал текущий процесс теста.</p> <ul style="list-style-type: none"> МТВ (МБТ): НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) SPC: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) Проверка зондов: NA (неприменимо)

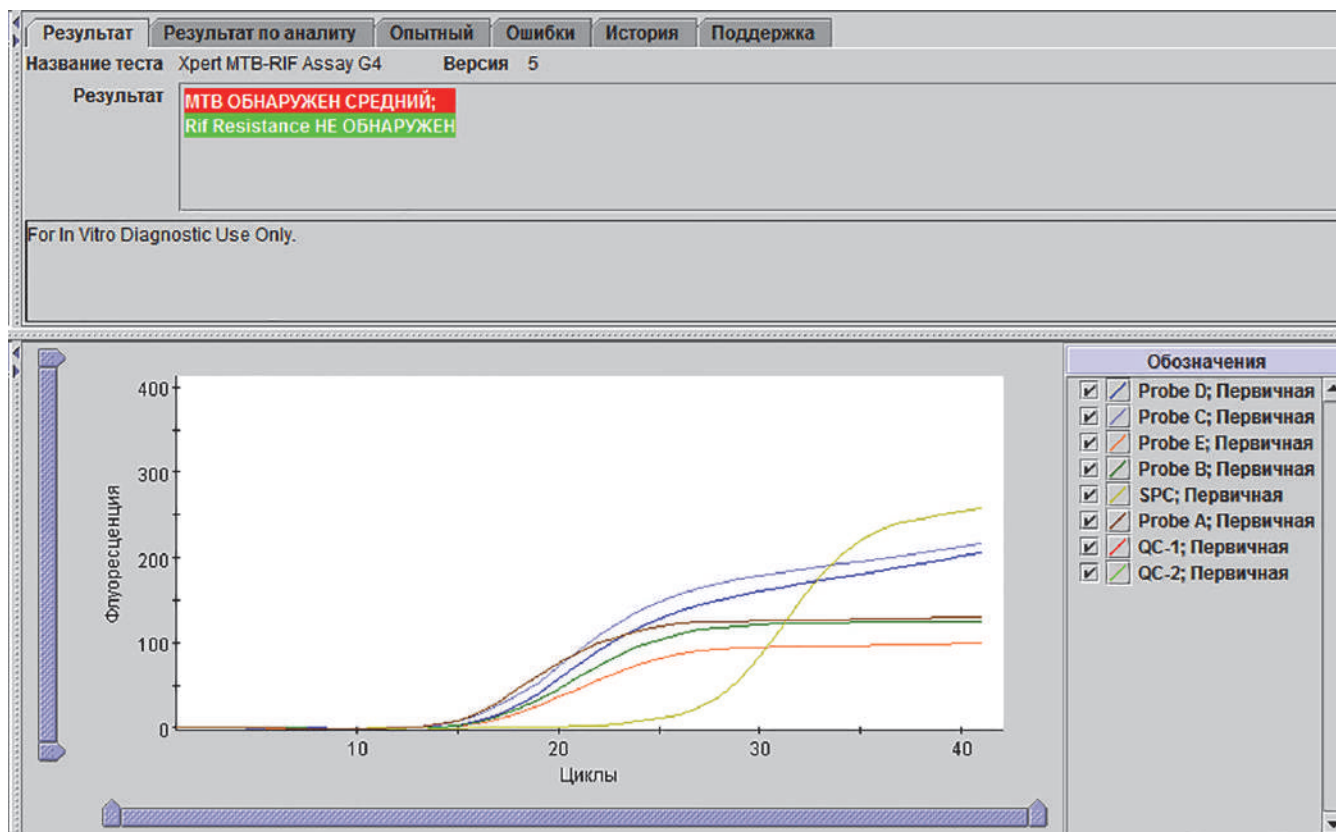


Рисунок 9. МБТ ОБНАРУЖЕНА СРЕДНИЙ; Rif Resistance НЕ ОБНАРУЖЕНА
(представление для пользователя GeneXpert Dx с расширенными полномочиями)

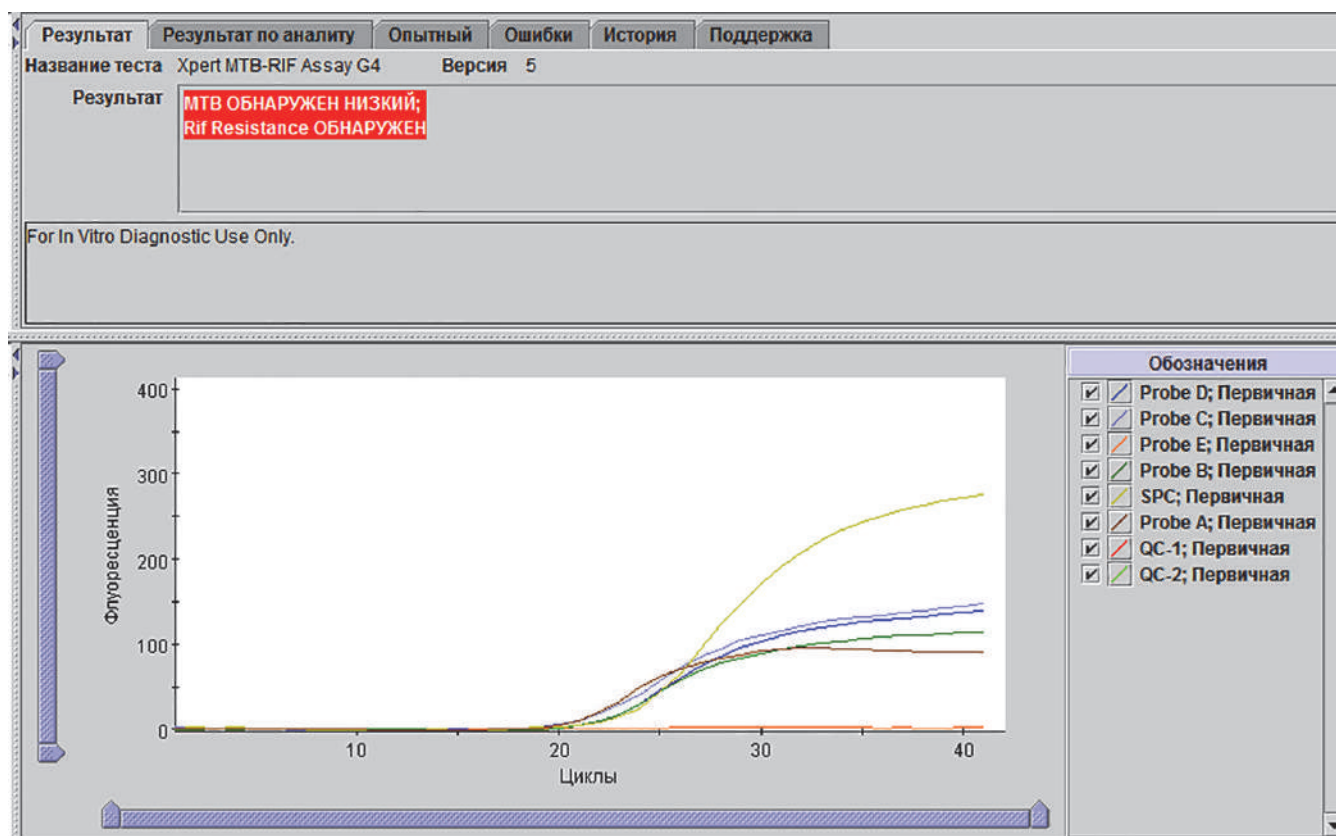


Рисунок 10. МБТ ОБНАРУЖЕНА НИЗКИЙ; Rif Resistance ОБНАРУЖЕНА
(представление для пользователя GeneXpert Dx с расширенными полномочиями)

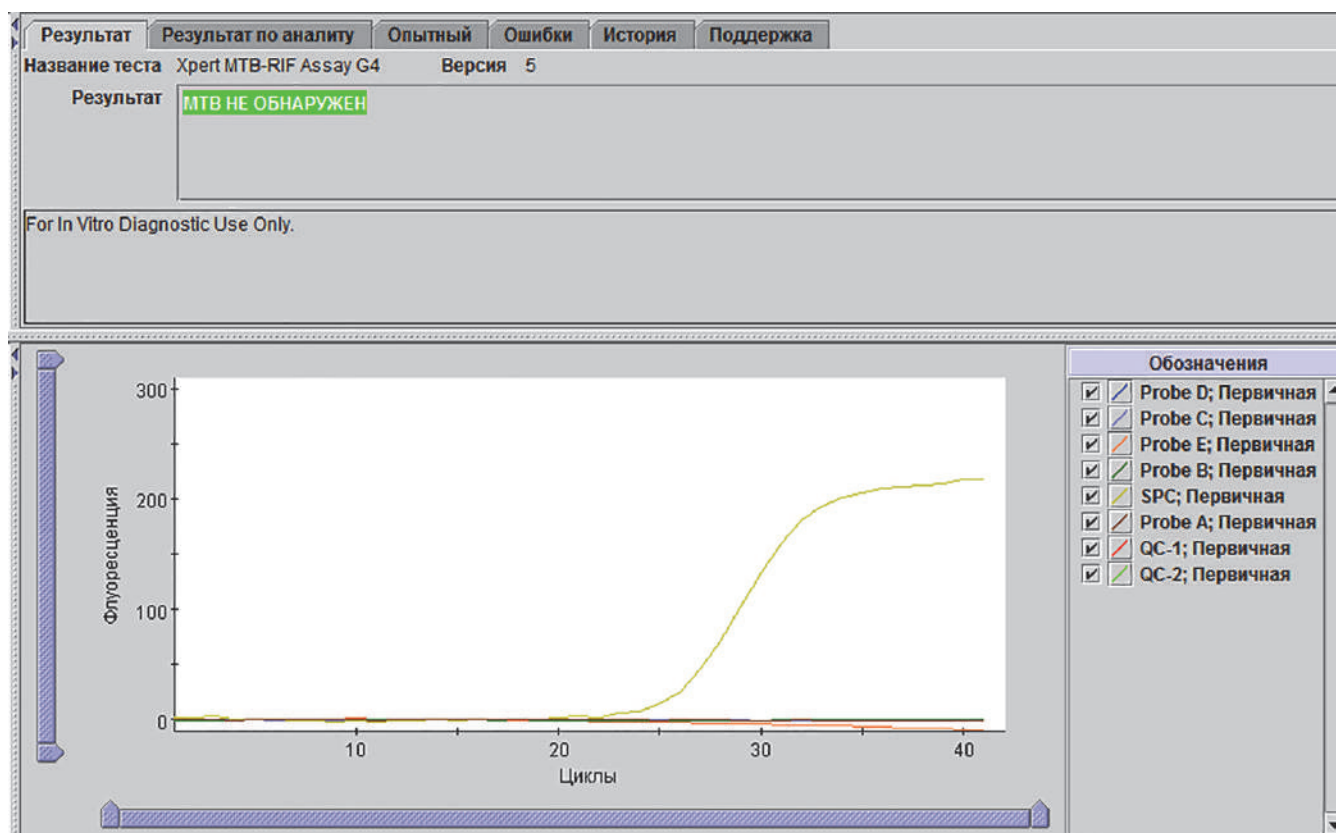


Рисунок 11. МБТ НЕ ОБНАРУЖЕНА
(представление для пользователя GeneXpert Dx с расширенными полномочиями)

10.1 Причины повторного выполнения теста

Выполните тест повторно с использованием нового картриджа, при получении одного из следующих результатов теста:

- **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** результат указывает на то, что не пройдены проверки SPC. Процесс обработки образца прошел ненадлежащим образом или ПЦР была ингибирована.
- Результат **ОШИБКА (ERROR)** означает, что не пройден контроль РСС и тест был прерван по следующим возможным причинам: ненадлежащим образом была заполнена пробирка для проведения реакции, выявлено нарушение целостности зонда, превышено максимально допустимое давление или произошел сбой модуля GeneXpert.
- Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если лаборант прервал текущий процесс теста.

10.2 Процедура повторного теста

При наличии неиспользованной свежей мокроты или восстановленного осадка всегда используйте новый реактив для образцов с целью деконтаминации и разжижения мокроты перед проведением теста. См. раздел 8.1, «Подготовка осадков мороты» или раздел 8.2, «Приготовление образцов мокроты после отхаркивания».

Если имеется достаточный объем неиспользованного образца, подготовленного при помощи реактива для образцов, и прошло не более 4 часов после первого добавления реактива для образцов, можно использовать такой оставшийся образец для подготовки нового картриджа и проведения теста. Для повторного теста всегда следует использовать новый картридж. См. раздел 8.3, «Подготовка картриджа».

Примечание

При использовании прибора Infinity повторный тест должен инициироваться на модулях, которые являются резервными модулями STAT.

11 Ограничения

Функциональные характеристики теста Xpert MTB/RIF прошли валидацию с использованием процедур, описанных в данной инструкции по применению. Внесение изменений в эти процедуры может нарушить функциональные характеристики теста. Результаты, полученные с использованием теста Xpert MTB/RIF, следует интерпретировать с учетом других лабораторных и клинических данных, имеющихся у врача.

Так как возможность обнаружения МБТ зависит от количества присутствующих в образце микроорганизмов, достоверность результатов зависит от правильности сбора образца, обращения с ним и его хранения. Ошибочные результаты теста могут быть связаны с неправильным сбором образца, несоблюдением рекомендованной процедуры сбора образцов, инструкций по обращению и хранению, технической ошибкой, перемешиванием образцов или недостаточной концентрацией исходного материала. Чтобы избежать получения ошибочных результатов необходимо тщательно соблюдать инструкции, представленные в данной инструкции по применению.

Положительный результат теста не свидетельствует однозначно о присутствии жизнеспособных микроорганизмов. Он позволяет предположить наличие МБТ и устойчивости к рифампицину.

Предшествующая или сопутствующая антибиотикотерапия может повлиять на результаты теста. При помощи этого теста нельзя оценивать успех или неэффективность лечения, так как возможно присутствие ДНК микобактерий в образцах и после завершения антимикробной терапии.

Мутации или полиморфизм в участках связывания праймера или зонда могут повлиять на возможность обнаружения новых или неизвестных штаммов МЛУ-МБТ или штаммов с устойчивостью к рифампицину, и привести к получению ложно-отрицательных результатов.

12 Функциональные характеристики

В данном разделе перечисляются функциональные характеристики и ограничения теста Xpert MTB/RIF.

12.1 Оценка функциональных характеристик — клинические аспекты

Функциональные характеристики теста Xpert MTB/RIF в отношении обнаружения МБТ и устойчивости к рифампицину изучались в пяти учреждениях, находящихся в Азии, Европе, Африке и Южной Америке.¹¹

Исследование проводилось в соответствии с протоколом Фонда для инновационных и новых диагностических средств (ФИНД) (Foundation for Innovative New Diagnostics, FIND) — *(Оценка теста Xpert MTB: оценка использования теста FIND/Cepheid Xpert MTB для выявления туберкулеза легких при тесте мокроты взрослых с клиническими проявлениями заболевания)*.

В исследование включались лица с симптомами туберкулеза легких и находящиеся в группе риска множественной лекарственной устойчивости. У испытуемых, соответствовавших критериям участия, собирались по три образца мокроты для обследования при помощи теста Xpert MTB/RIF и референсных методов.

Функциональные характеристики теста Xpert MTB/RIF оценивались в сравнении с результатами, полученными при помощи следующих методов:

- микроскопии мазка, окрашенного по Циль-Нильсену (ZN)¹²;
- посева на жидкие (BACTEC™ 960 MGIT™ производства Becton Dickinson) и плотные (Левенштейна-Йенсена) питательные среды¹³;
- определения чувствительности к лекарственным препаратам (DST) в пропорции L-J или в пробирке с индикатором роста микобактерий (MGIT) с оценкой чувствительности по меньшей мере к четырем препаратам первого ряда¹⁴;
- стандартных тестов амплификации нуклеиновых кислот (прямой тест амплификации микобактерий туберкулеза от компании Gen-Probe и тест на микобактерии туберкулеза MTB, выполняемый на аппарате AMPLICOR® компании Roche) в части случаев.

Образцы собирались для обычного обследования пациентов с подозрением на туберкулезную инфекцию из группы риска ТБ с множественной лекарственной устойчивостью.

12.2 Общие результаты

Всего 1448 образцов мокроты изучались на присутствие МБТ и устойчивость к рифампицину с использованием теста Xpert MTB/RIF; также выполнялась микроскопия мазка и посев этих образцов. В трех исследовательских центрах образцы также изучались с использованием теста AMPLICOR MTB Test (Кейптаунский университет, ЮАР и Индия) или прямого теста амплификации микобактерий туберкулеза (Азербайджан). Среди 1448 участников: у 563 МБТ

обнаружены в мазке и в посеве (S+C+), у 170 МБТ не обнаружены в мазке, но выявлены при посеве (S-C+), и у 618 туберкулез был исключен. Остальные 97 пациентов получали лечение от туберкулеза на основании клинических симптомов, и на фоне этого лечения произошло улучшение их состояния, однако микроскопия мазков или посева не проводились; эти пациенты не включены в тест данных, представленных в таблице.

12.3 Результаты тестов с целью обнаружения МБТ

В целом, если оценивать совокупность результатов тестов трех образцов мокроты от каждого пациента, чувствительность теста Xpert MTB/RIF при анализе образцов, в которых МБТ обнаружены культуральным методом, составила 97,3% (713/733). У пациентов S+C+ чувствительность теста Xpert MTB/RIF составляла 99,5% (560/563); а у пациентов S-C+ чувствительность составляла 90,0% (153/170). Специфичность теста Xpert MTB/RIF у пациентов без туберкулеза составила 97,9% (605/618). См. Таблица 3.

таблица 3. Функциональные характеристики теста Xpert MTB/RIF при анализе образцов мокроты^{a,b}

Исследовательский центр	Чувствительность S+C+	Чувствительность S-C+	Специфичность
Перу	100% (199/199) [98,1%-100%]	83,3% (10/12) [55,2%-95,3%]	100% (102/102) [96,4%-100%]
Азербайджан	100% (76/76) [95,2%-100%]	92,3% (60/65) [83,2%-96,7%]	95,8% (69/72) [88,5%-98,6%]
ЮАР-1	99,0% (95/96) [94,3%-99,8%]	90,4% (47/52) [79,4%-95,8%]	98,4% (186/189) [95,4%-99,5%]
ЮАР-2	100% (30/30) [88,6%-100%]	86,7% (13/15) [62,1%-96,3%]	97,3% (213/219) [94,2%-98,7%]
Индия	98,8% (160/162) [95,6%-99,7%]	88,5% (23/26) [71,0%-96,0%]	97,2% (35/36) [85,8%-99,5%]
Всего	99,5% (560/563) [98,4%-99,8%]	90,0% (153/170) [84,6%-93,7%]	97,9% (605/618) [96,4%-98,8%]

a. Учитываются результаты 3 тестов с использованием Xpert, микроскопии 3 мазков и 4 обследований культуральным методом.

b. S = мазок; C = посев

Если оценивать только результаты теста одного прямого образца мокроты, чувствительность теста Xpert MTB/RIF составила 97,8% (545/557) у пациентов S+C+ и 73,1% (122/167) у пациентов S-C+. Специфичность у пациентов без туберкулеза составила 99,0% (605/611).

12.4 Устойчивость к рифампицину

В целом, если оценивать совокупность результатов тестов трех образцов мокроты от каждого пациента, чувствительность теста Xpert MTB/RIF при обнаружении устойчивости к рифампицину среди пациентов, инфицированных МБТ с фенотипической устойчивостью к рифампицину, составила 96,1% (195/203). Специфичность теста Xpert MTB/RIF среди пациентов, инфицированных МБТ с фенотипической чувствительностью к рифампицину, составила 98,6% (502/509). См. Таблица 4.

таблица 4. Функциональные характеристики теста Xpert MTB/RIF при анализе образцов мокроты^а

Исследовательский центр	Чувствительность в случаях устойчивости к рифампицину	Специфичность в случаях чувствительности к рифампицину
Перу	100% (16/16) [80,6%-100%]	98,4% (190/193) [95,5%-99,5%]
Азербайджан	95,5% (42/44) [84,9%-98,7%]	98,9% (90/91) [94,0%-99,8%]
ЮАР-1	93,8% (15/16) [71,7%-98,9%]	100% (126/126) [97,0%-100%]
ЮАР-2	100% (3/3) [43,8%-100%]	100% (38/38) [90,8%-100%]
Индия	96,0% (119/124) [90,9%-98,3%]	95,1% (58/61) [86,5%-98,3%]
Всего	96,1% (195/203) [92,4%-98,0%]	98,6% (502/509) [97,2%-99,3%]

а. Учитываются результаты 3 тестов с использованием Xpert, микроскопии 3 мазков и 4 обследований культуральным методом.

Если оценивать только результаты теста одного прямого образца мокроты, чувствительность теста Xpert MTB/RIF при обнаружении устойчивости к рифампицину составила 97,2% (141/145) среди пациентов, инфицированных МБТ с устойчивостью к рифампицину. Специфичность теста в случаях чувствительности к рифампицину составила 98,3% (412/419). См. Таблица 5.

таблица 5. Функциональные характеристики теста Xpert MTB/RIF при анализе образцов мокроты^а

Исследовательский центр	Чувствительность в случаях устойчивости к рифампицину	Специфичность в случаях чувствительности к рифампицину
Перу	100% (16/16) [80,6%-100%]	98,4% (180/183) [95,3%-99,4%]
Азербайджан	97,4% (38/39) [86,8%-99,5%]	98,7% (74/75) [92,8%-99,8%]
ЮАР-1	90,9% (10/11) [62,3%-98,4%]	98,1% (102/104) [93,3%-99,5%]
ЮАР-2	100% (1/1) [20,7%-100%]	100% (23/23) [85,7%-100%]
Индия	97,4% (76/78) [91,1%-99,3%]	97,1% (33/34) [85,1%-99,5%]

таблица 5. Функциональные характеристики теста Xpert MTB/RIF при анализе образцов мокроты^а

Исследовательский центр	Чувствительность в случаях устойчивости к рифампицину	Специфичность в случаях чувствительности к рифампицину
Всего	97,2% (141/145) [93,1%-98,9%]	98,3% (412/419) [96,6%-99,2%]

а. Учитываются результаты 1 прямого теста с использованием Xpert, микроскопии 3 мазков и 4 обследований культуральным методом.

Результаты, полученные с помощью теста Xpert MTB/RIF при анализе образцов из исследовательских центров, где также применялся тест амплификации нуклеиновых кислот (НААТ), показаны в Таблица 6. Результаты, полученные при помощи теста амплификации нуклеиновых кислот, представлены для сравнения.

таблица 6. Сравнение функциональных характеристик теста Xpert MTB/RIF и альтернативного теста амплификации нуклеиновых кислот при анализе образцов мокроты

Статистические данные	Тест ^а	Азербайджан	ЮАР-1	Индия	Всего
Чувствительность S+C+	Xpert(3)	100% (76/76) [95,2%-100%]	99,0% (95/96) [94,3%-99,8%]	98,8% (160/162) [95,6%-99,7%]	99,1% (331/334) [97,4%-99,8%]
	Xpert(1)	97,3% (73/75) [90,8%-99,3%]	96,8% (92/95) [91,1%-98,9%]	98,8% (159/161) [95,6%-99,7%]	97,9% (324/331) [95,7%-99,2%]
	NAAT	100% (76/76) [95,2%-100%]	93,7% (89/95) [86,9%-97,1%]	94,2% (147/156) [89,4%-96,9%]	95,4% (312/327) [92,3%-97,4%]
Чувствительность S-C+	Xpert(3)	92,3% (60/65) [83,2%-96,7%]	90,4% (47/52) [79,4%-95,8%]	88,5% (23/26) [71,0%-96,0%]	90,9% (130/143) [85,0%-95,1%]
	Xpert(1)	68,8% (44/64) [56,6%-78,8%]	86,3% (44/51) [74,3%-93,2%]	69,2% (18/26) [50,0%-83,5%]	75,2% (106/141) [67,2%-82,1%]
	NAAT	66,2% (43/65) [54,0%-76,5%]	45,7% (16/35) [30,5%-61,8%]	72,0% (18/25) [52,4%-85,7%]	61,6% (77/125) [52,5%-70,2%]
Специфичность	Xpert(3)	95,8% (69/72) [88,5%-98,6%]	98,4% (186/189) [95,4%-99,5%]	97,2% (35/36) [85,8%-99,5%]	97,6% (290/297) [95,2%-99,1%]
	Xpert(1)	97,2% (69/71) [90,3%-99,2%]	99,5% (185/186) [97,0%-99,9%]	100% (35/35) [90,1%-100%]	99,0% (289/292) [97,0%-99,8%]
	NAAT	95,8% (69/72) [88,5%-98,6%]	100% (187/187) [98,0%-100%]	100% (36/36) [90,4%-100%]	99,0% (292/295) [97,1%-99,8%]

а. Xpert(3) = результаты 3 тестов с использованием теста Xpert, микроскопии 3 мазков и 4 обследований культуральным методом; Xpert(1) = результаты 1 прямого теста с использованием теста Xpert, микроскопии, 3 мазков и 4 обследований культуральным методом; NAAT = тесты ProbeТес (Азербайджан), и AMPLICOR (ЮАР и Индия); «пограничный» результат теста NAAT считался отрицательным.

Серии анализов, выполненных с использованием теста Xpert MTB/RIF, в 96,5% случаев (4327/4484) были успешными с первой попытки. В остальных 157 сериях после первой попытки были получены не поддающиеся интерпретации результаты. После повторного теста для ста восьми из 157 образцов были получены действительные результаты. В целом доля успешных попыток составила 98,9% (4435/4484).

12.5 Субстанции, препятствующие проведению теста

Проводилось исследование для оценки потенциального ингибирующего влияния разных субстанций, которые могут присутствовать в мокроте, исследуемой при помощи теста Xpert MTB/RIF. Сюда относятся следующие субстанции, не ограничиваясь перечисленным: кровь, гной, клетки млекопитающих и гемоглобин. Для выявления возможного влияния этих субстанций на функциональные характеристики теста Xpert MTB/RIF тестировались образцы, содержащие эти субстанции либо в 5% конечной концентрации (кровь, гной, клетки млекопитающих) или в 0,2% конечной концентрации (гемоглобин). Каждая субстанция добавлялась к образцу, содержащему целевые клетки БЦЖ в количестве, в 5 раз превышающем порог обнаружения (LoD); образцы тестировались дважды.

Ни у одной из перечисленных выше субстанций не было выявлено ингибирующего влияния.

12.6 Аналитическая чувствительность

Для определения 95% доверительного интервала для аналитического порога обнаружения этого теста были проведены дополнительные исследования. Порог обнаружения определялся как наименьшее количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в образце, который может воспроизводимо различаться при помощи теста от образцов, в которых МБТ не обнаруживалась с 95% доверительным интервалом. Аналитический порог обнаружения устанавливался путем теста образцов с разными концентрациями 20 репликатов образцов *M. tuberculosis*; бактерии добавляли к клиническим образцам мокроты, в которых МБТ не обнаруживалась. По результатам этого исследования, порог обнаружения *M. tuberculosis* составляет 131 КОЕ/мл с 95% доверительным интервалом от 106,2 до 176,4 КОЕ/мл. Оценочное значение порога обнаружения и границы доверительного интервала были определены с помощью метода логистической регрессии к данным (количество положительных результатов среди всего количества проведенных тестов пула образцов) для каждой концентрации МБТ.

Доверительные интервалы были определены с помощью максимально вероятных оценок параметров логистической модели с помощью вариационно-ковариационной матрицы с большой выборкой.

12.7 Аналитическая специфичность (эксклюзивность)

Тест Xpert MTB/RIF применялся для теста материалов, содержащих культуры 18 штаммов нетуберкулезных микобактерий НТМ (ранее МОТТ). По два и более репликатов образцов каждого изолята добавлялись к клиническим образцам мокроты (в которых не обнаруживались МБТ) в концентрации 10^6 КОЕ/мл и затем проводился тест этих образцов. См. Таблица 7.

таблица 7. Штаммы НТМ, использовавшиеся для оценки специфичности

Использовавшиеся штаммы НТМ (10^6 КОЕ/мл)			
1	<i>M. avium</i> , SmT Mc2, 2500	10	<i>M. genevenses</i> , #51233
2	<i>M. avium</i> , SmD Mc2, 2501	11	<i>M. xenopi</i> , #2278
3	<i>M. intracellulare</i> , #35790	12	<i>M. szulgai</i> , Cap E9-1997
4	<i>M. intracellulare</i> , #35771	13	<i>M. celatum</i> , #51131
5	<i>M. kansasii</i> , #12478	14	<i>M. marinum</i> , Cap E10
6	<i>M. scrofulaceum</i> , Cap E5-1985	15	<i>M. simiae</i> , #25275
7	<i>M. malmoense</i> , #29571	16	<i>M. asiaticum</i> , E1-1985
8	<i>M. fortuitum</i> , #35754	17	<i>M. thermoresistable</i> , e22-1985
9	<i>M. chelonae</i> , #35749	18	<i>M. flavescens</i> , PoH 193D

В этом исследовании результаты теста всех образцов, содержащих изоляты НТМ, были отрицательными: МБТ в них не были обнаружены.

Кроме того, чтобы установить, препятствуют ли высокие концентрации НТМ выявлению МБТ, присутствующих в образце в небольшом количестве, штаммы, перечисленные в Таблица 7, смешивались со штаммом микобактерии туберкулеза H37Rv в мокроте; конечная концентрация НТМ составляла 10^6 КОЕ/мл, а штамма H37Rv — 200 КОЕ/мл.

Штаммы НТМ, которые были проверены на способность препятствовать обнаружению МБТ:

- *M. avium*, SmT Mc2, 2500
- *M. avium*, SmD Mc2, 2501
- *M. intracellulare*, #35790
- *M. intracellulare*, #35771
- *M. kansasii*, #12478
- *M. malmoense*, #29571

Пять из шести штаммов не препятствовали обнаружению *M. tuberculosis* в концентрации 200 КОЕ/лм; т.е. полученный сигнал был таким же, как при использовании только штамма H37Rv. Шестой штамм, *M. malmoense*, в слабой степени препятствовал обнаружению в концентрации 10⁶ КОЕ/мл, однако в концентрации 10⁵ КОЕ/мл или ниже такого эффекта не наблюдалось. Следовательно, присутствие НТМ не препятствует обнаружению *M. tuberculosis* даже в концентрации 10⁵ КОЕ/мл.

Проводился тест материалов, содержащих немикобактериальные микроорганизмы (n = 59), к которым относились самые различные возбудители инфекций, микроорганизмы, часто встречающиеся как посторонние примеси или как компоненты микрофлоры, в концентрации 10⁶ копий ДНК в конечном объеме реакционной смеси. Все образцы правильно идентифицировались при помощи теста Xpert MTB/RIF как не содержащие МБТ. В исследовании использовали положительный и отрицательный контроли. Специфичность теста составила 100%.

12.8 Виды/штаммы, использовавшиеся для оценки специфичности

В Таблица 8 показаны виды и штаммы микроорганизмов, использовавшиеся для оценки специфичности.

таблица 8. Виды/штаммы, использовавшиеся для оценки специфичности

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Actinomyces meyeri</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Staphylococcus capitis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Listeria grayi</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphthericum</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus equi</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Neisseria lactamica</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Escherichia coli</i> (штамм типа 2)	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Escherichia coli</i> O157H7 (штамм типа 1)	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	

12.9 Аналитическая инклюзивность

Образцы ДНК, полученные в общей сложности от 79 штаммов МБТ, были протестированы на анализаторе GX по протоколу Xpert MTB/RIF, модифицированному для теста ДНК. Составляющие конечного этапа реакции и условия проведения циклов ПЦР соответствовали протоколу, разработанному для теста образцов, полученных от пациентов. Семьдесят штаммов были получены из коллекции ВОЗ/ТБИ (Специальной программы по научным исследованиям и

подготовке специалистов в области тропических болезней), и еще 9 штаммов — из коллекции лаборатории Университета медицины и стоматологии штата Нью-Джерси (University of Medicine and Dentistry of New Jersey, UMDNJ). Эти штаммы были представлены изолятами из 31 страны, и включали 37 устойчивых к рифампицину изолятов, с 13 уникальными мутациями центрального участка гена *rpoB*. В этом наборе штаммов присутствовали все уникальные мутации гена *rpoB*, занесенные в базу данных программы ТБИ. В качестве отрицательного контроля использовалась вода.

Конечная реакционная смесь содержала 90 копий генома изолятов в общем объеме 100 мкл.

В Таблица 9 показано, что с помощью теста Xpert MTB/RIF были правильно обнаружены все штаммы МБТ и правильно выявлены устойчивые к рифампицину изоляты.

таблица 9. Обнаружение штаммов МБТ и устойчивых к рифампицину изолятов

			Результаты, полученные на системе GeneXpert		
			Выявлены МБТ		Не выявлены МБТ
			Выявлены устойчивые к рифампицину МБТ	Не выявлены устойчивые к рифампицину МБТ	
Референсные образцы	МБТ +	Устойчивость к рифампицину	37	0	0
		Чувствительные к рифампицину МБТ	0	42	0
	МТВ –		0	0	52

12.10 Аналитическая инактивация микобактерий в образцах мокроты

Дезинфицирующая способность реактива для образцов Xpert MTB/RIF определялась с использованием стандартизированного метода выращивания туберкулоцидальной культуры.¹⁵ В образцы мокроты были посеяны жизнеспособные микроорганизмы *M. bovis*, смешанные с реактивом для проб в соотношении 2:1 и проинкубированные в течение 15 минут. После инкубации смесь реактива для образцов/мокроты подвергалась нейтрализации путем разбавления и фильтрации, затем проводилось выращивание культуры. Жизнеспособность микроорганизмов *M. bovis* из обработанной мокроты была снижена не менее чем на 6 логарифмических единиц по сравнению с необработанным контролем.

Каждая лаборатория должна самостоятельно определять дезинфекционную эффективность реактива для образцов с применением собственных стандартизованных методов и следовать всем нормативным требованиям по биологической безопасности.

13 Справочная литература

1. WHO report 2008. http://www.who.int/tb/publications/global_report/2008
2. Anti-tuberculosis resistance in the world: fourth global report. WHO/HTM/TB/2008.394
3. Morris SL, Bai G, Suffys P, Portillo-Gomez L, Fairchok M, Rouse D. *Molecular mechanisms of multidrug resistance in clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis*. J Infect Dis 1995; 171:954-60.
4. Ashok Rattan, Awdhesh Kalia, and Nishat Ahmad. *Multidrug-Resistant Mycobacterium tuberculosis: Molecular Perspectives*, Emerging Infectious Diseases, Vol.4 No.2, <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no2/rattan.htm>
5. Francis J. Curry National Tuberculosis Center and California Department of Public Health, 2008: *Drug-Resistant Tuberculosis, A Survival Guide for Clinicians*, Second Edition.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
8. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpart Z).
10. Kent PT, Kubica GP 1985. Public Health Mycobacteriology—*A Guide for Level III Laboratory*, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546.
11. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, et al. *Rapid Molecular Detection of Tuberculosis and Rifampin Resistance*. N Engl J Med 2010;363:1005-15.
12. Laboratory Services in Tuberculosis Control: Part II, Microscopy WHO/TB/98.258; p 1-61.
13. Laboratory Services in Tuberculosis control: Part III Culture. WHO/TB/98.258. p 1- 74.
14. NCCLS, Susceptibility testing of Mycobacteria, Nocardia, and other Aerobic Actinomycetes: Approved Standard. NCCLS document M24-A (ISBN 1- 56238-500-3). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 – 1898, USA. 2003.
15. Banada, P. et al. Containment of Bioaerosol Infection Risk by the Xpert MTB/RIF Assay and Its Applicability to Point-of-Care Settings. Journal of Clinical Microbiology. 2010. 48:10. 3551-3557.

14 Расположение штаб-квартир корпорации Cepheid

Головной офис

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Соединенные Штаты Америки
Телефон: + 1 408 541 4191
Факс: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Европейский офис

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Франция
Телефон: + 33 563 825 300
Факс: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

15 Техническая поддержка

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

Контактная информация

Соединенные Штаты Америки
Телефон: + 1 888 838 3222
Адрес электронной почты:
techsupport@cepheid.com

Франция
Телефон: + 33 563 825 319
Адрес электронной почты:
support@cepheideurope.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Cepheid доступна на нашем веб-сайте: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

16 Условные обозначения

Символ	Значение
	Каталожный номер
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Марка CE – Европейское соответствие
	Не использовать повторно
	Код партии
	Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно
	Изготовитель
	Место производства
	Содержимого достаточно для проведения <n> анализов
	Контроль
	Срок годности
	Температурные ограничения
	Биологическая опасность
	Горючие жидкости
	Разъедающее воздействие на кожу
	Токсичность для репродуктивных органов



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Швеция



Xpert® MTB/RIF Ultra

REF GXMTB/RIF-ULTRA-10
GXMTB/RIF-ULTRA-50

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert® and Xpert® are trademarks of Cepheid.

Windows® is a trademark of Microsoft Corporation.

Sensititre™ is a trademark of Thermo Fisher Scientific Inc.

BD BACTEC™ and MGIT™ are trademarks of Becton, Dickinson and Company

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

Copyright © 2017-2021 Cepheid. All rights reserved.

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

Cepheid®, логотип Cepheid, GeneXpert® и Xpert® являются товарными знаками компании Cepheid.

Windows® является товарным знаком корпорации Microsoft Corporation.

Sensititre™ является товарным знаком корпорации Thermo Fisher Scientific Inc.

BD BACTEC™ и MGIT™ являются товарными знаками компании Becton, Dickinson and Company

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩИМ ВКЛАДЫШЕМ-ИНСТРУКЦИЕЙ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

Copyright © 2017-2021 Cepheid. Все права защищены.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden

Xpert® MTB/RIF Ultra

Для диагностических тестов *in vitro*

Фирменное название

Xpert® MTB/RIF Ultra

Общепринятое название

Тест Xpert MTB/RIF Ultra

A. Назначение

Тест Xpert MTB/RIF Ultra, выполняемый на системе GeneXpert, представляет собой диагностический тест *in vitro*, основанный на полуколичественной гнездной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени и применяемый с целью обнаружения ДНК *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) complex в пробах необработанной мокроты или концентрированных осадках, полученных из индуцированной или спонтанной мокроты. В образцах, в которых обнаружены *Mycobacterium tuberculosis* complex, тест Xpert MTB/RIF Ultra также позволяет выявлять мутации гена *rpoB*, связанные с устойчивостью к рифампицину.

Тест Xpert MTB/RIF Ultra предназначен для анализа образцов пациентов, у которых туберкулез (ТБ) подозревается на основании клинических данных, и которые не получали противотуберкулезной терапии или продолжительность терапии составила менее 3 дней за последние 6 месяцев. Тест предназначен для применения в качестве вспомогательного при диагностике туберкулеза легких, совместно с клиническими и другими лабораторными данными.

B. Краткие сведения и разъяснения

Около 2 миллиардов человек по всему миру инфицированы МБТ.¹ В 2016 г. отмечено 10,4 миллиона случаев активной формы туберкулеза, а число погибших от туберкулеза составило 1,7 миллиона человек.² Заражение легочным туберкулезом происходит через воздух, что позволяет возбудителю легко распространяться. Учитывая инфекционную природу легочного туберкулеза, важным элементом лечения и контроля ТБ является быстрая и точная диагностика.

Лечение заключается в длительном приеме нескольких лекарств, и обычно такое лечение бывает высокоэффективным. Однако штаммы *M. tuberculosis* могут приобретать устойчивость к одному или нескольким препаратам, что существенно затрудняет излечение. Четырьмя широко применяемыми препаратами противотуберкулезной терапии первого ряда являются изониазид (INH), рифампин (также называется рифампицин, RIF), этамбутол (EMB) и пипразинамид (PZA). Согласно данным ВОЗ, устойчивость к рифампицину редко бывает изолированной, и обычно она указывает на устойчивость к ряду других противотуберкулезных препаратов.³ Устойчивость к рифампицину чаще всего наблюдается у штаммов с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) — то есть устойчивых и к рифампицину и к изониазиду. Сообщается, что в таких изолятах ее частота может превышать 95%.^{4,5,6} Устойчивость к рифампицину или к другим препаратам первого ряда обычно указывает на необходимость определения чувствительности ко всем препаратам, включая препараты второго ряда терапии.

Обнаружение, при помощи молекулярных методов, ТБ и мутаций гена *rpoB*, связанных с устойчивостью к рифампицину, существенно ускоряет диагностику туберкулеза, вызванного чувствительными к препаратам микобактериями, и МЛУ-ТБ. Благодаря тесту Xpert MTB/RIF Ultra это можно сделать менее чем за 80 минут, используя образцы необработанной мокроты или подготовленные образцы осадка мокроты. Быстрое обнаружение МБТ и устойчивости к рифампицину позволяет врачу принимать важнейшие решения относительно лечения вскоре после начала обследования пациента.

С. Принципы выполнения анализа

В приборах системы GeneXpert объединены и автоматически выполняются следующие процессы: подготовка проб, амплификация нуклеиновых кислот и выявление целевых последовательностей в простых и сложных пробах с использованием ПЦР в реальном времени и обнаружения пиков плавления. Система состоит из анализатора, персонального компьютера, сканера штрих-кодов и предустановленного программного обеспечения для управления процессом анализа проб пациентов и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи GeneXpert, которые содержат реактивы для ПЦР и в которых происходит ПЦР. Поскольку картриджи представляют собой замкнутые системы, вероятность перекрестной контаминации между пробами сводится к минимуму. Полное описание системы представлено в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*.

Тест Xpert MTB/RIF Ultra содержит реактивы для обнаружения МБТ и устойчивости к рифампицину, а также контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC), предназначенный для контроля адекватности обработки целевых бактерий, выявления ингибиторов в среде, где происходит ПЦР, и последующего обнаружения пиков плавления. Контроль качества зондов (Probe Check Control, PCC) предназначен для проверки правильности регидратации реактивов, заполнения пробирки для проведения ПЦР в картридже, целостности зондов и стабильности красителя.

Праймеры теста Xpert MTB/RIF Ultra амплифицируют целевые последовательности, представляющие собой участок гена *rpoB*, содержащий «центральный» регион из 81 пар оснований и участки многокопийных встраивающихся элементов *IS1081* и *IS6110*. Анализ кривых плавления четырех зондов *rpoB* позволяет отличить консервативную последовательность микобактерии «дикого типа» от мутаций центрального региона, связанных с устойчивостью к рифампицину. Применение зондов к двум встраивающимся элементам способствуют обнаружению *Mycobacterium tuberculosis* complex, так как целевые последовательности многокопийных встраивающихся элементов присутствуют в большинстве штаммов ТБ.

D. Реактивы и приборы

D.1 Материалы, входящие в комплект поставки



Наборы теста Xpert MTB/RIF Ultra содержат достаточно реактивов для обработки 10 или 50 проб. В наборы входят указанные ниже компоненты.

Картриджи теста Xpert MTB/RIF Ultra с встроенными реакционными пробирками

- Гранулы 1 и гранулы 2 (лиофилизированные)
- Гранулы 3 (лиофилизированные)
- Реактив 1
- Реактив 2

10 в каждом наборе

- по 2 каждого из типов в одном картридже
- 1 каждого из типов в одном картридже
- 4 мл в каждом картридже
- 4 мл в каждом картридже

50 в каждом наборе

- по 2 каждого из типов в одном картридже
- 1 каждого из типов в одном картридже
- 4 мл в одном картридже
- 4 мл в каждом картридже

Флаконы реактива для проб

- Реактив для проб

10

- 8 мл в одном флаконе

50

- 8 мл в одном флаконе

Одноразовые пипетки для переноса

12 в каждом наборе

60 в каждом наборе

Компакт-диск

1

1

- Файлы с описанием теста (assay definition file, ADF)
- Инструкция по импортированию файла ADF в программное обеспечение
- Инструкция по применению (вкладыш-инструкция)

Примечание

Цвет реактива для проб может варьироваться от бесцветного до желтого или янтарного. Цвет может становиться более интенсивным со временем, но он не влияет на рабочие характеристики реактива.

Примечание

Паспорта безопасности вещества (Safety Data Sheet, SDS) можно найти по адресам www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com, на вкладке **ПОДДЕРЖКА (SUPPORT)**.

Примечание

Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма бычьей крови животных, выращенных в США. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время производства не происходило смешивания сырья с другими материалами животного происхождения.

Примечание

На пипетки для переноса нанесено одно деление, показывающее минимальный объем обработанной пробы, которую необходимо перенести в картридж. Пипетки следует применять только с этой целью. Все остальные пипетки должны предоставляться лабораторией.

D.2**Хранение и обращение**

- Храните картриджи и реактивы для обработки образцов теста Xpert MTB/RIF Ultra при температуре 2–28 °C.
- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение анализа.
- Не используйте реактивы или картриджи с истекшим сроком годности.

**E.****Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки**

- Система GeneXpert Dx или GeneXpert Infinity (каталожный номер зависит от конфигурации): прибор GeneXpert, компьютер, сканер штрих-кодов и руководство оператора
 - Для системы GeneXpert Dx: Программное обеспечение версии 4.7b или выше
 - Для системы GeneXpert Infinity: Программное обеспечение версии 6.4b или выше
- Принтер: если необходим принтер, обратитесь к торговому представителю компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.
- Герметичные стерильные контейнеры для сбора с завинчивающейся крышкой
- Одноразовые перчатки
- Этикетки и (или) нестираемый маркер
- Стерильные пипетки для обработки пробы

F.**Предупреждения, меры предосторожности и опасные химические факторы****F.1****Предупреждения и меры предосторожности**

- При работе со всеми биологическими образцами, в том числе и с использованными картриджами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются агентством «Центры по контролю и профилактике заболеваний США» (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁷ и «Институтом клинических и лабораторных стандартов» (Clinical and Laboratory Standards Institute)⁸.
- При работе с пробами и реактивами необходимо надевать одноразовые защитные перчатки, лабораторные халаты и средства индивидуальной защиты глаз. После работы с пробами и реактивами теста необходимо тщательно вымыть руки.
- Следуйте принятым в учреждении процедурам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.
- Не заменяйте реактивы теста Xpert MTB/RIF Ultra другими реактивами.
- Крышку картриджа Xpert MTB/RIF Ultra разрешается открывать только для внесения подготовленной пробы.
- Не используйте картридж, если он упал после извлечения из набора.
- Не используйте картридж, который падал или который встряхивали или с разлившимся содержимым после внесения подготовленной пробы. Встряхивание или падение картриджа после вскрытия его крышки может привести к получению сомнительных результатов.
- Не размещайте этикетку с идентификационным номером образца на крышке картриджа или на этикетке со штрих-кодом.
- Не использовать картридж с влажной поверхностью или с предположительно нарушенной герметичностью крышки.
- Не использовать картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- При одновременной работе с несколькими пробами следует открыть только один картридж, ввести смесь «реактив для проб — подготовленная проба», закрыть картридж, и только потом переходить к обработке следующей пробы. Перчатки подлежат замене перед работой с каждой следующей пробой.



- Все картриджи Xpert MTB/RIF Ultra предназначены для проведения одного теста. Не использовать повторно уже применявшиеся для анализа картриджи.
- Чтобы избежать загрязнения образцов и реактивов следует соблюдать принципы надлежащей лабораторной практики и менять перчатки перед работой с каждым следующим образцом. Регулярно очищайте рабочую поверхность / рабочие зоны 10% раствором гипохлорита натрия, затем повторно протирайте поверхность 70% этиловым или изопропиловым спиртом до и после работы с образцами.
- Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, и они требуют соблюдения стандартных мер предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реактивов выполняйте принятые в вашем учреждении правила защиты окружающей среды. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых национальных или региональных процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе правила не дают ясных указаний по правильному удалению в отходы, биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их удаления.

F.2 Опасные химические факторы^{9,10}

Реактив для проб:

- Содержит изопропиловый спирт
- Содержит гидроксид натрия
- Сигнальное слово: ОПАСНО!
- Символы опасности СГС ООН: 
- **Заявления об опасности СГС ООН**
 - Воспламеняющаяся жидкость и пар.
 - Вызывает серьезные ожоги кожи и повреждение глаз.
 - Вызывает тяжелое повреждение глаз.
 - Предположительно вызывает генетические дефекты.
 - Предположительно неблагоприятно влияет на способность к деторождению или на развивающийся плод.
 - Может вызвать повреждение органов при длительном или повторном воздействии.
- **Меры предосторожности СГС ООН**
 - **Профилактика**
 - Перед использованием получить специальные инструкции.
 - Перед использованием ознакомиться с инструкциями по технике безопасности.
 - Беречь от нагревания, искр, открытого огня и (или) горячих поверхностей. Не курить.
 - Хранить в плотно закрытом контейнере.
 - Избегать вдыхания тумана, паров и (или) вещества в распыленном состоянии.
 - После использования тщательно вымыть.
 - Пользуйтесь защитными перчатками, защитной одеждой, средствами защиты глаз/лица.
 - Использовать соответствующие индивидуальные средства защиты.
 - **Реагирование**
 - В случае пожара: использовать соответствующие средства пожаротушения.
 - **ДЕЙСТВИЯ ПРИ ВДЫХАНИИ.** Вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении.
 - Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту/терапевту.
 - **ДЕЙСТВИЯ ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы).** Немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой или принять душ.
 - Выстирать загрязненную одежду перед повторным использованием.
 - Требуется специальное лечение. См. дополнительную информацию о первой помощи.

- **ДЕЙСТВИЯ ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА.** Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь и если это легко сделать. Продолжить промывание.
- **ПРИ ПРИЕМЕ ВНУТРЬ:** Прополоскать рот. НЕ вызывать рвоту.
- **ПРИ воздействии или подозрении на возможность воздействия:** Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
- При плохом самочувствии обратиться за помощью/консультацией к врачу.
- **Хранение/удаление в отходы**
 - Удаление в отходы тары и/или содержимого должно осуществляться в соответствии с местными, региональными, государственными и/или международными нормами.

G. Сбор и транспортировка образцов



Следуйте принятому в вашем учреждении протоколу по сбору проб.

Сбор, транспортировка и хранение проб

Сбор

При сборе спонтанной мокроты или индуцированной при помощи аэрозоля мокроты следуйте стандартным процедурам, используемым в вашем учреждении. В тесте используется необработанная мокрота или концентрированный/деконтаминированный осадок мокроты. Данные по необходимому объему образца представлены в Таблица 1.

Таблица 1. Требуемый объем образца

Тип образца	Минимальный объем для одного теста	Максимальный объем пробы	Соотношение объемов пробы и реактива для проб
Осадок мокроты	0,5 мл	2,5 мл	1:3 ^a
Необработанная мокрота	1 мл	4,0 мл	1:2

а. если объем пробы составляет 0,7 мл или более, соотношение объемов пробы и реактива для проб должно составлять 1:2 для одного теста.

Хранение и транспортировка



Осадок мокроты: Ресуспендированный осадок мокроты следует хранить при температуре от 2 °C до 8 °C не более семи дней.



Необработанная мокрота: Мокроту следует хранить и транспортировать при температуре от 2 °C до 8 °C всегда, когда это возможно. Допускается хранение необработанной мокроты при температуре до 35 °C в течение не более трех дней, и далее при температуре от 2 °C до 8 °C еще в течение семи дней.

H. Процедура теста

H.1 Процедура с использованием деконтаминированного концентрированного осадка мокроты

Примечание Отбракуйте образцы, содержащие явно видимые частицы пищи или другие твердые частицы.

Требования к объему: Тест Xpert MTB/RIF Ultra пригоден для анализа образцов осадка мокроты, приготовленных по методу Кента (Kent) и Кубица (Kubica)¹¹ (процедура деконтаминации разложением с применением NALC-NaOH) и ресуспендированных в 67 мМ фосфатно/водном буфере. После ресуспендирования зарезервируйте не менее 0,5 мл ресуспендированного осадка для проведения теста Xpert MTB/RIF Ultra. Если объем составляет менее 0,7 мл, выполните действия 1–6. Для этого требуется 3 части реактива для проб и 1 часть осадка, чтобы получить адекватный объем (~2 мл) пробы и обеспечить оптимальные рабочие характеристики теста.

Если объем пробы составляет 0,7 мл или более, адекватный объем для теста можно получить, добавив 2 части реактива для проб к 1 части осадка. В данном примере 1,4 мл реактива для проб добавляется к 0,7 мл осадка. Таким образом 2 части реактива для проб добавляются к 1 части осадка.

1. Дождитесь согревания картриджа до комнатной температуры. Нанесите на каждый картридж Xpert MTB/RIF Ultra идентификационные номера образцов. См. Рисунок 1.

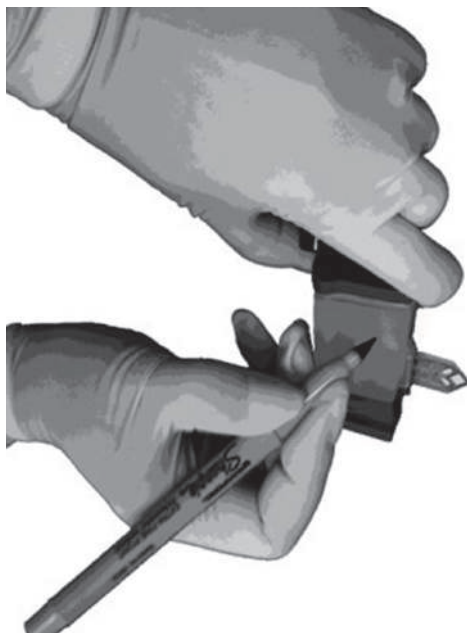


Рисунок 1. Надпишите номер на боковой части картриджа

Примечание

Наклейте на картридж этикетку с идентификационным номером или напишите номер маркером на боковой стороне картриджа. Не наклеивайте этикетку на крышку картриджа и не закрывайте этикеткой двухмерный штрих-код, имеющийся на картридже.

2. Перемешайте осадок на вихревой мешалке, или при помощи пипетки, аспирируя и выпуская материал достаточное количество раз так, чтобы все микроорганизмы были суспендированы.
3. Перенесите с помощью пипетки для переноса не менее 0,5 мл от общего объема ресуспендированного осадка в коническую пробирку с закручивающейся крышкой для проведения теста Xpert MTB/RIF Ultra.

Примечание



Ресуспендированный осадок, который не будет сразу использоваться для анализа, следует хранить при температуре от 2 °C до 8 °C. Не используйте тест Xpert MTB/RIF Ultra для исследования ресуспендированного осадка, который хранился в условиях охлаждения >7 дней.

4. Перенесите 1,5 мл реактива для проб Xpert MTB/RIF Ultra в пробирку с 0,5 мл ресуспендированного осадка с помощью пипетки для переноса. Плотно закройте крышку.
5. Энергично встряхните пробирку 10—20 раз или обработайте в вихревой мешалке не менее 10 секунд.

Примечание

Одно встряхивание — это одно движение пробиркой вперед-назад.

6. Инкубируйте в течение 10 минут при комнатной температуре и затем энергично встряхните пробирку 10—20 раз или обработайте в вихревой мешалке не менее 10 секунд.
7. Инкубируйте пробу при комнатной температуре еще 5 минут.

Н.2 Процедура с использованием необработанной мокроты

Требования к объему: требуется ≥ 1 мл необработанной мокроты.

1. Дождитесь согревания картриджа до комнатной температуры. Нанесите на каждый картридж Xpert MTB/RIF Ultra идентификационные номера образцов. См. Рисунок 1.

Примечание

Наклейте на картридж этикетку с идентификационным номером или напишите номер маркером на боковой стороне картриджа. Не наклеивайте этикетку на крышку картриджа и не закрывайте этикеткой двухмерный штрих-код, имеющийся на картридже.

2. После сбора мокроты в герметичный контейнер для сбора мокроты аккуратно откройте крышку контейнера и осмотрите содержимое с целью убедиться в отсутствии частиц пищи или других твердых частиц. См. Рисунок 2.

Примечание

Отбракуйте образцы, содержащие явно видимые частицы пищи или другие твердые частицы.



Рисунок 2. Открытый контейнер с пробой

3. Влейте в пробу мокроты реактив для проб в объеме, приблизительно в 2 раза превышающем объем мокроты (соотношение реактив:мокрота должно составлять 2:1). См. Рисунок 3.



Пример 1
8 мл реактива для
проб: 4 мл мокроты



Отметка
3 мл

Пример 2
2 мл реактива для
проб: 1 мл мокроты

Примечание: удалите остаток реактива для проб и флакон в контейнер для химических отходов.

Рисунок 3. Примеры разведений 2:1

4. Плотнo закройте контейнер крышкой. Энергично встряхните пробирку 10—20 раз или обработайте в вихревой мешалке не менее 10 секунд.

Примечание Одно встряхивание — это одно движение пробиркой вперед-назад.

5. Инкубируйте пробу при комнатной температуре в течение 10 минут.
6. Энергично встряхните пробирку 10—20 раз или обработайте в вихревой мешалке не менее 10 секунд. Инкубируйте пробу при комнатной температуре еще 5 минут.

Примечание Убедитесь, что образец полностью разжижился. Если образец не разжижился, повторите действие 6.

Н.3 Подготовка картриджа

Примечание

При использовании прибора GeneXpert Dx начинайте тест как можно скорее и в пределах четырех часов после внесения пробы, обработанной реактивом для проб, в картридж. После внесения пробы в картридж он может оставаться при комнатной температуре до начала теста в течение четырех часов. При использовании системы GeneXpert Infinity, необходимо начать тест и установить картридж на конвейерную ленту в течение 30 минут после внесения пробы, обработанной реактивом для проб. Оставшийся срок хранения отслеживается программным обеспечением Xpertise и тесты будут выполнены до истечения допустимого четырехчасового срока нахождения картриджей в системе.

1. Откройте крышку картриджа, а потом откройте контейнер с образцом.
2. Возьмите входящую в набор пипетку для переноса и наберите разжиженную пробу до уровня несколько выше отметки на пипетке. См. Рисунок 4. Если объем образца недостаточен, не используйте для анализа этот образец.



Рисунок 4. Аспирация до отметки на пипетке

3. Перенесите пробу в камеру для пробы картриджа Xpert MTB/RIF Ultra. Медленно выливайте пробу из пипетки, чтобы свести к минимуму риск образования аэрозоля. См. Рисунок 5.



Рисунок 5. Внесение деконтаминированной разжиженной пробы в камеру для пробы картриджа



4. Плотнo закройте крышку картриджа. Оставшуюся часть разжиженной пробы можно хранить до 4 часов при температуре от 2 °C до 8 °C на случай необходимости повторного теста.

Н.4 Запуск теста

Важно! При использовании системы GeneXpert Dx перед началом анализа убедитесь, что в системе работает программное обеспечение GeneXpert версии 4.7b или выше, и что файл с описанием теста (Assay Definition File, ADF) Xpert MTB/RIF Ultra импортирован в программное обеспечение.

Важно! При использовании системы GeneXpert Infinity перед началом анализа убедитесь, что в системе работает программное обеспечение GeneXpert версии 6.4b или выше, и что файл с описанием теста (Assay Definition File, ADF) Xpert MTB/RIF Ultra импортирован в программное обеспечение.

В данном разделе перечисляются основные действия при выполнении теста. Подробные инструкции приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемой модели.

Примечание

Выполняемые вами действия могут быть другими, если системный администратор изменит установленную по умолчанию рабочую последовательность.

1. Включите прибор GeneXpert.
 - При использовании GeneXpert Dx вначале следует включить прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически.
- или
- При использовании GeneXpert Infinity следует включить прибор. На рабочем столе Windows® дважды щелкните мышью на ярлыке программного обеспечения Xpertise.
2. Войдите в программное обеспечение системы GeneXpert под своим именем пользователя и паролем.
3. В окне системы GeneXpert выберите пункт **Создать анализ (Create Test)** (для GeneXpert Dx) или выберите пункт **Команды (Orders)**, а затем **Задать команду на проведение анализа (Order Test)** (для Infinity).
4. Отсканируйте или введите вручную «ID пациента» (Patient ID). Удостоверьтесь в правильности введенного вручную «ID пациента» (Patient ID). «ID пациента» (Patient ID) связывается с результатами анализа и указывается в окне **Просмотреть результаты (View Results)** и во всех отчетах.
5. Отсканируйте или введите вручную «ID образца» (Sample ID). Удостоверьтесь в правильности введенного вручную «ID образца» (Sample ID). «ID образца» (Sample ID) связывается с результатами анализа и указывается в окне **Просмотреть результаты (View Results)** и во всех отчетах.
6. Просканируйте штрих-код на картридже Xpert MTB/RIF Ultra. На основе информации, считанной со штрих-кода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «Выбрать тест» (Select Assay), «ID партии реактива» (Reagent Lot ID), «С/Н картриджа» (Cartridge SN) и «Срок годности» (Expiration Date).
7. Выберите пункт **Начать анализ (Start Test)** (для GeneXpert Dx) или **Отправить (Submit)** (для Infinity). В диалоговом окне введите пароль, при необходимости.
8. При использовании системы GeneXpert Infinity поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, будет выполнен тест, а использованный картридж удален в контейнер для отходов.

или

Для прибора GeneXpert Dx:

- A. Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
- B. Закройте дверцу. После этого начинается анализ, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса анализа индикаторная лампа выключается.
- C. Прежде чем открывать дверцу модуля, дождитесь разблокирования системой замка дверцы. Затем извлеките картридж.
- D. Использованные картриджи следует удалять в подходящие контейнеры для сбора отходов образцов согласно стандартным правилам, принятым в вашем учреждении.

N.5 Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечисляются основные действия по просмотру и печати результатов. Более подробные инструкции по просмотру и печати результатов представлены в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемой модели.

Примечание

При сообщении результатов при помощи ЛИС удостоверьтесь, что результаты системы соответствуют таковым в ЛИС для поля ID пациента; если результаты не соответствуют, используйте только результаты системы.

1. Для просмотра результатов выберите ярлык **Просмотреть результаты (View Results)**.
2. По завершении анализа выберите кнопку **Отчет (Report)** в окне «Просмотреть результаты» (View Results) для просмотра отчета и (или) получения отчета в формате PDF.

I. Контроль качества

CONTROL

В каждый тест входит контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC) и контроль качества зондов (Probe Check Control, PCC).

SPC — позволяет удостовериться в правильности обработки пробы. SPC содержит не обладающие инфицирующей способностью споры в виде сухой пластинки, которая имеется в каждом картридже для проверки адекватности обработки МБТ. SPC позволяет верифицировать лизис МБТ (если они присутствуют в образце) и убедиться в правильности обработки образца. Кроме того, этот контроль позволяет выявить связанное с образцом ингибирование реакции при использовании метода ПЦР в реальном времени.

Результат для SPC должен быть положительным для отрицательной пробы и может быть как положительным, так и отрицательным для положительной пробы. Контроль SPC считается пройденным, если его результат соответствует валидированным критериям приемлемости. Если SPC не обнаруживается при получении отрицательного результата теста, то результат будет «Недействительный» (Invalid).

PCC — перед началом ПЦР системой GeneXpert измеряется флуоресцентный сигнал от зондов для проверки регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль PCC считается пройденным, если его результат соответствует установленным критериям приемлемости.

J. Интерпретация результатов

Результаты выдаются системой GeneXpert на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета. Результаты отображаются в окне **Просмотреть результаты (View Results)**. См. конкретные примеры на Рисунок 6, Рисунок 7 и Рисунок 8. Перечень всех возможных результатов указывается в Таблица 2.

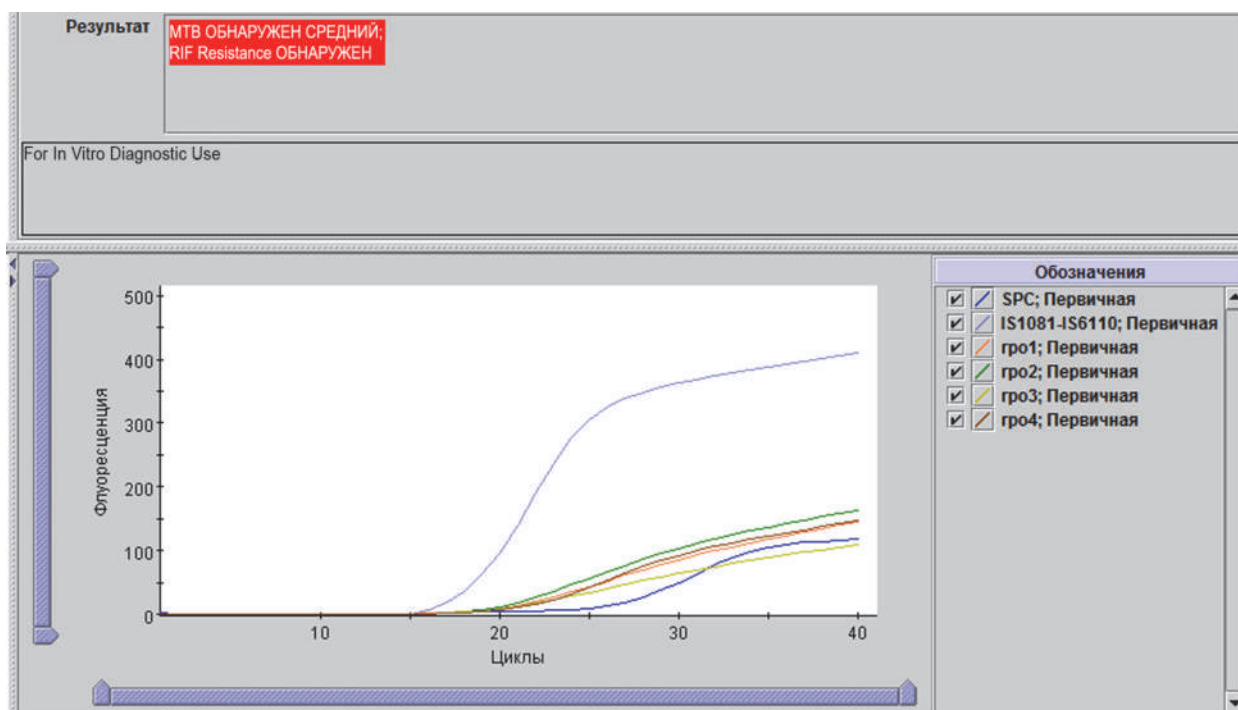


Рисунок 6. МТВ ОБНАРУЖЕН СРЕДНИЙ; RIF Resistance ОБНАРУЖЕН
(представление для пользователя GeneXpert Dx с расширенными полномочиями)

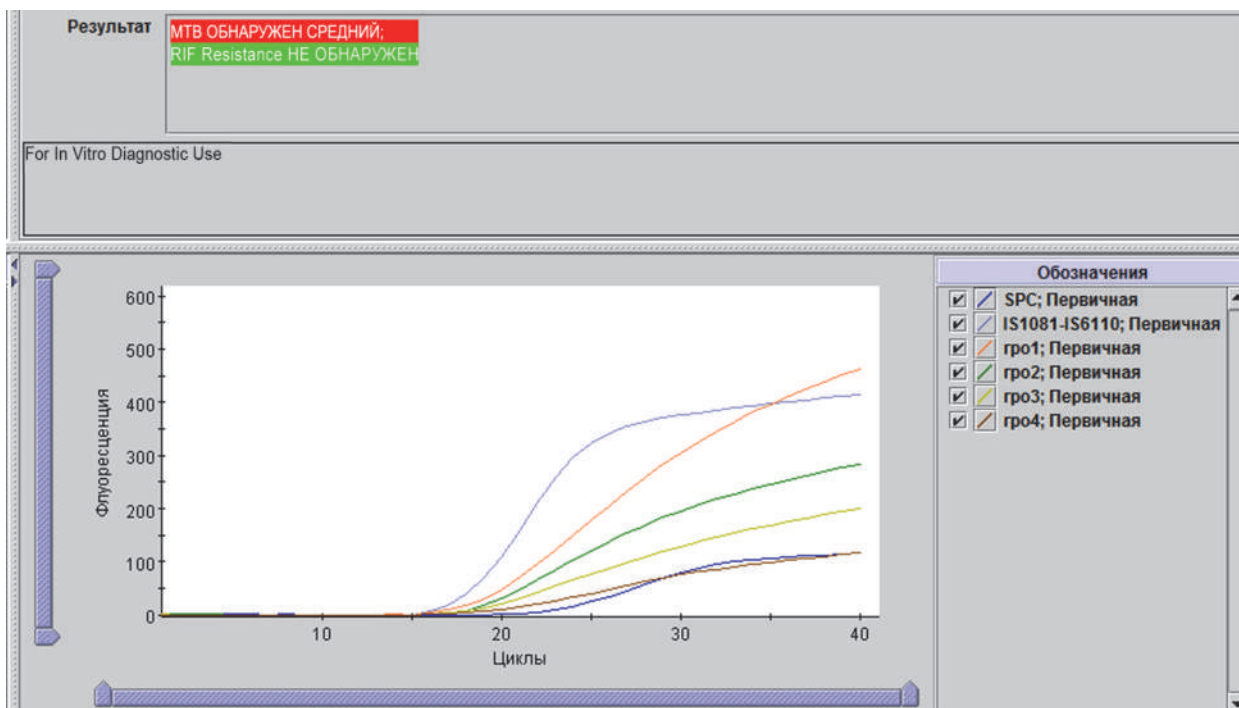


Рисунок 7. MTB ОБНАРУЖЕН СРЕДНИЙ; RIF Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН
(представление для пользователя GeneXpert Dx с расширенными полномочиями)

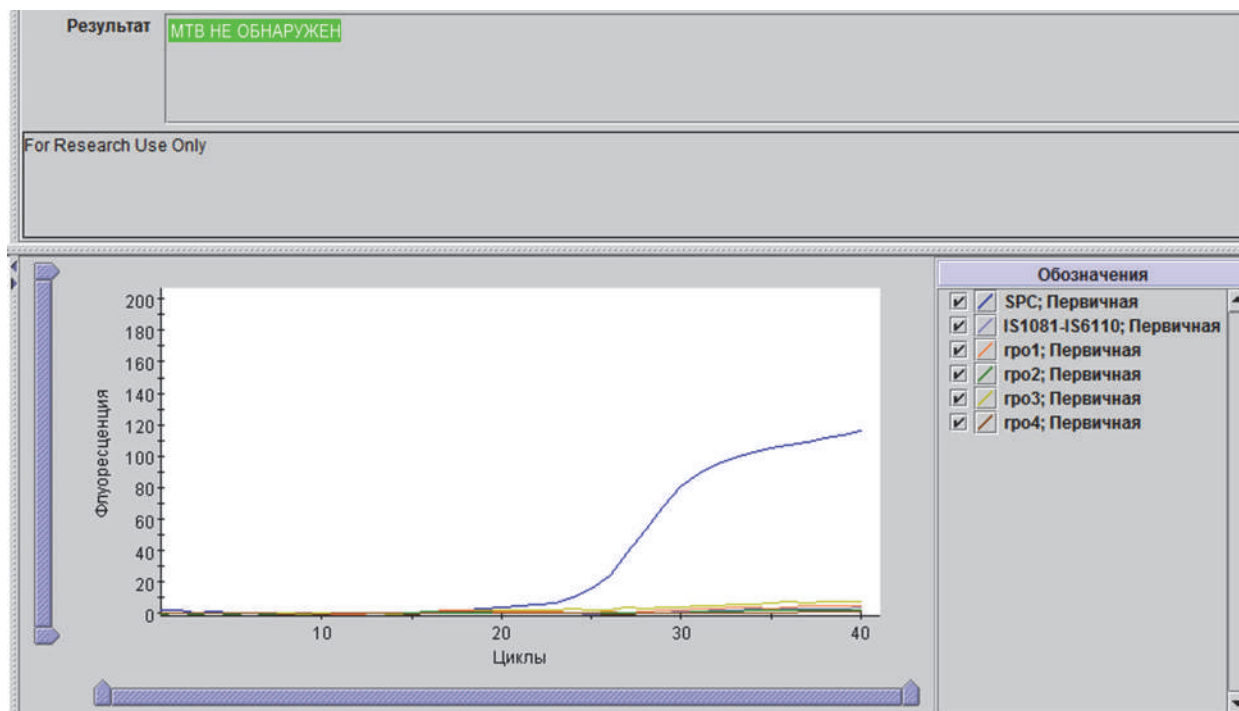


Рисунок 8. MTB НЕ ОБНАРУЖЕН
(представление для пользователя GeneXpert Dx с расширенными полномочиями)

Таблица 2. Результаты теста Xpert MTB/RIF Ultra и их интерпретация

Результат	Интерпретация
MTB ОБНАРУЖЕН ВЫСОКИЙ; RIF Resistance ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance DETECTED)	<p>В образце присутствует целевая последовательность МБТ:</p> <ul style="list-style-type: none"> Обнаружена мутация целевой последовательности гена <i>rpoB</i>. SPC: неприменимо. Сигнал контроля SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации МБТ с данным контролем. Проверка качества зондов: ПРОЙДЕНА. Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
MTB ОБНАРУЖЕН СРЕДНИЙ; RIF Resistance ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance DETECTED)	
MTB ОБНАРУЖЕН НИЗКИЙ; RIF Resistance ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance DETECTED)	
MTB ОБНАРУЖЕН ОЧЕНЬ НИЗКИЙ; RIF Resistance ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance DETECTED)	
MTB ОБНАРУЖЕН ВЫСОКИЙ; RIF Resistance ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance NOT DETECTED)	<p>В образце присутствует целевая последовательность МБТ:</p> <ul style="list-style-type: none"> Не обнаружено мутаций целевой последовательности гена <i>rpoB</i>. SPC: неприменимо. Сигнал контроля SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации МБТ с данным контролем. Проверка качества зондов: ПРОЙДЕНА. Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
MTB ОБНАРУЖЕН СРЕДНИЙ; RIF Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance NOT DETECTED)	
MTB ОБНАРУЖЕН НИЗКИЙ; RIF Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance NOT DETECTED)	
MTB ОБНАРУЖЕН ОЧЕНЬ НИЗКИЙ; RIF Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance NOT DETECTED)	
MTB ОБНАРУЖЕН ВЫСОКИЙ; RIF Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance INDETERMINATE)	<p>В образце присутствует целевая последовательность МБТ:</p> <ul style="list-style-type: none"> Устойчивость к рифампицину определить невозможно в связи с недействительными пиками плавления. SPC: неприменимо. Сигнал контроля SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации МБТ с данным контролем. Проверка качества зондов: ПРОЙДЕНА. Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
MTB ОБНАРУЖЕН СРЕДНИЙ; RIF Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance INDETERMINATE)	
MTB ОБНАРУЖЕН НИЗКИЙ; RIF Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance INDETERMINATE)	
MTB ОБНАРУЖЕН ОЧЕНЬ НИЗКИЙ; RIF Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance INDETERMINATE)	

Таблица 2. Результаты теста Xpert MTB/RIF Ultra и их интерпретация (продолжение)

Результат	Интерпретация
MTB Trace ОБНАРУЖЕН; RIF Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (MTB TRACE DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)	<p>В образце присутствует целевая последовательность МБТ:</p> <ul style="list-style-type: none"> Не удалось установить наличие или отсутствие устойчивости к рифампицину вследствие недостаточной интенсивности полученного сигнала. SPC: неприменимо. Сигнал контроля SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации МБТ с данным контролем. Проверка качества зондов: ПРОЙДЕНА. Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
MTB НЕ ОБНАРУЖЕН (MTB NOT DETECTED)	<p>В образце отсутствует целевая последовательность МБТ:</p> <ul style="list-style-type: none"> SPC: ПРОЙДЕНА. Результат для SPC соответствует критериям приемлемости. Проверка качества зондов: ПРОЙДЕНА. Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)	<p>Присутствие или отсутствие МБТ в образце установить невозможно. Результат для SPC не соответствует критериям приемлемости, процесс обработки образца прошел ненадлежащим образом или ПЦР была ингибирована. Повторите анализ. См. раздел «Процедура повторного тестирования» этого документа.</p> <ul style="list-style-type: none"> НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ АНАЛИЗА НА МБТ: Невозможно установить, присутствует или отсутствует в образце ДНК МБТ. SPC: НЕ ПРОЙДЕНА. Результат анализа на целевую последовательность МБТ отрицательный, при этом результат для SPC не находится в пределах диапазона валидности. Проверка качества зондов: ПРОЙДЕНА. Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
ОШИБКА (ERROR)	<p>Присутствие или отсутствие МБТ в образце установить невозможно. Повторите анализ. См. раздел «Процедура повторного тестирования» этого документа.</p> <ul style="list-style-type: none"> МБТ: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА SPC: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА Проверка качества зондов: НЕ ПРОЙДЕНА. Все или одна из проверок в рамках контроля качества зондов не пройдены(-а). <p>Примечание: Если проверка качества зондов пройдена, ошибка вызвана сбоем компонента системы.</p>
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	<p>Присутствие или отсутствие МБТ в образце установить невозможно. Повторите анализ. См. раздел «Процедура повторного тестирования» этого документа. Сообщение НЕТ РЕЗУЛЬТАТА свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если лаборант прервал текущий процесс анализа.</p> <ul style="list-style-type: none"> МБТ: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА SPC: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА Проверка качества зондов: неприменимо

Таблица 3. Тест Xpert MTB/RIF Ultra: все возможные результаты

Результаты теста на ТБ	Результаты теста на устойчивость к рифампицину
MTB ОБНАРУЖЕН ВЫСОКИЙ (MTB DETECTED HIGH)	RIF Resistance ОБНАРУЖЕН (RIF Resistance DETECTED)
MTB ОБНАРУЖЕН ВЫСОКИЙ (MTB DETECTED HIGH)	RIF Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (RIF Resistance NOT DETECTED)
MTB ОБНАРУЖЕН ВЫСОКИЙ (MTB DETECTED HIGH)	RIF Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB ОБНАРУЖЕН СРЕДНИЙ (MTB DETECTED MEDIUM)	RIF Resistance ОБНАРУЖЕН (RIF Resistance DETECTED)
MTB ОБНАРУЖЕН СРЕДНИЙ (MTB DETECTED MEDIUM)	RIF Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (RIF Resistance NOT DETECTED)
MTB ОБНАРУЖЕН СРЕДНИЙ (MTB DETECTED MEDIUM)	RIF Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB ОБНАРУЖЕН НИЗКИЙ (MTB DETECTED LOW)	RIF Resistance ОБНАРУЖЕН (RIF Resistance DETECTED)
MTB ОБНАРУЖЕН НИЗКИЙ (MTB DETECTED LOW)	RIF Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (RIF Resistance NOT DETECTED)
MTB ОБНАРУЖЕН НИЗКИЙ (MTB DETECTED LOW)	RIF Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB ОБНАРУЖЕН ОЧЕНЬ НИЗКИЙ (MTB DETECTED VERY LOW)	RIF Resistance ОБНАРУЖЕН (RIF Resistance DETECTED)
MTB ОБНАРУЖЕН ОЧЕНЬ НИЗКИЙ (MTB DETECTED VERY LOW)	RIF Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (RIF Resistance NOT DETECTED)
MTB ОБНАРУЖЕН ОЧЕНЬ НИЗКИЙ (MTB DETECTED VERY LOW)	RIF Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB Trace ^a ОБНАРУЖЕН (MTB Trace ^a DETECTED)	RIF Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB НЕ ОБНАРУЖЕН (MTB NOT DETECTED)	
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)	
ОШИБКА (ERROR)	
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	

- а. Результат Следы означает, что обнаружен низкий уровень МБТ, и не обнаружено устойчивости к рифампицину. Такой результат связан с повышенной чувствительностью обнаружения ТБ с использованием многокопийных целевых последовательностей IS6110 и IS1081, в отличие от обнаружения чувствительности к рифампицину с использованием одной копии гена *rpoB*. Следовательно, нельзя определить наличие устойчивости или чувствительности к рифампицину в пробе со следами МБТ. Результат Следы всегда означает, что **RIF Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (RIF Resistance INDETERMINATE)**.

J.1 Причины повторного выполнения теста

Выполните тест повторно с использованием нового картриджа, при получении одного из следующих результатов.

- Результат **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** означает, что не пройден контроль SPC. Проба не была обработана в анализе надлежащим образом или произошло ингибирование ПЦР.
- Результат **ОШИБКА (ERROR)** означает, что не пройден контроль РСС и тест был прерван, по следующим возможным причинам: ненадлежащим образом была заполнена реакционная пробирка, выявлено нарушение целостности зонда, превышено максимально допустимое давление или произошел сбой модуля GeneXpert.
- Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если лаборант прервал текущий процесс анализа.

J.2 Процедура повторного тестирования

При наличии неиспользованной свежей мокроты или восстановленного осадка всегда следует использовать новый реактив для проб с целью деконтаминации и разжижения мокроты перед проведением теста. См. Раздел Н., Процедура теста или Раздел Н.2, Процедура с использованием необработанной мокроты.

Если имеется достаточный объем неиспользованной пробы, подготовленной при помощи реактива для проб, и прошло не более 4 часов после первого добавления реактива для проб, можно использовать такую оставшуюся пробу для подготовки нового картриджа и проведения анализа. При повторном тестировании следует использовать только новый картридж и немедленно начинать выполнение теста. См. Раздел Н.3, Подготовка картриджа.

К. Ограничения

Так как возможность обнаружения МБТ зависит от количества присутствующих в образце микроорганизмов, достоверность результатов зависит от правильности сбора пробы, обращения с ней и ее хранения. Ошибочные результаты теста могут быть связаны с неправильным сбором пробы, ненадлежащим обращением с пробой или ее хранением, технической ошибкой, перемешиванием проб или недостаточной концентрацией исходного материала. Чтобы избежать получения ошибочных результатов необходимо тщательно соблюдать инструкции, представленные в данном листке-вкладыше.

Положительный результат теста не свидетельствует однозначно о присутствии жизнеспособных микроорганизмов. Он позволяет предположить наличие МБТ и устойчивости к рифампицину.

Мутации или полиморфизм в участках связывания праймера или зонда могут повлиять на возможность обнаружения новых или неизвестных штаммов МЛУ-МБТ или штаммов с устойчивостью к рифампицину, и привести к получению неправильного результата о наличии чувствительности к рифампицину.

Характеристики теста Xpert MTB/RIF Ultra не оценивались у пациентов в возрасте до восемнадцати лет.

Тест Xpert MTB/RIF Ultra не может подтвердить наличие чувствительности к рифампицину, так как могут существовать другие механизмы устойчивости к рифампицину, отличающиеся от обнаруживаемых данным тестом, и сопровождающиеся недостаточным клиническим ответом на лечение. Следует рассмотреть возможность дополнительного исследования на чувствительность к лекарственным препаратам для образцов, при исследовании которых при помощи теста Xpert MTB/RIF Ultra обнаружена ДНК МБТ complex и мутации гена *rpoB*, связанные с устойчивостью к рифампицину.

Рабочие характеристики теста Xpert MTB/RIF Ultra зависят от профессиональных навыков оператора и соблюдения процедур выполнения теста. Ошибки при выполнении теста могут приводить к получению ложно-положительных или ложно-отрицательных результатов. Все операторы, работающие с устройством, должны пройти надлежащее обучение.

Относительно пациентов с результатами «ОБНАРУЖЕНЫ следы МБТ» (MTB Trace DETECTED) могут потребоваться дополнительная клиническая информация и анализ их клинического состояния для принятия решений о лечении ТБ при некоторых обстоятельствах.

L. Клинические рабочие характеристики

В данном разделе перечисляются рабочие характеристики теста Xpert MTB/RIF Ultra.

L.1 Дизайн клинического исследования

Рабочие характеристики теста MTB/RIF Ultra оценивали в отношении обнаружения ДНК МБТ complex и мутаций, связанных с устойчивостью к рифампицину, в образцах мокроты, в сравнении с результатами, полученными при посеве (твердые и/или жидкие культуральные среды) и определении чувствительности к лекарственным препаратам, соответственно. В данном многоцентровом исследовании использовали проспективные и архивные образцы необработанной мокроты или концентрированного осадка, полученные у пациентов в возрасте 18 лет или старше. Участниками были лица с подозрением на ТБ легких, которые не получали противотуберкулезной терапии или продолжительность терапии составила менее 3 дней за последние 6 месяцев (с подозрением на ТБ) и лица, ранее получавшие лечение, с подозрением на ТБ с множественной лекарственной устойчивостью (с подозрением на МЛУ-ТБ). Исследование проводилось в различных странах мира (Беларусь, Бразилия, Китай, Грузия, Германия, Индия, Италия, Кения, Перу, Южная Африка, Уганда, Вьетнам и США). Чувствительность и специфичность теста MTB/RIF Ultra в отношении обнаружения МБТ определяли только с использованием данных участников с подозрением на ТБ; при этом данные участников с подозрением на МЛУ-ТБ объединялись для оценки рабочих характеристик в отношении обнаружения устойчивости к рифампицину.

Образцы были получены у участников исследования, среди которых 61% были мужчинами (n=1111), 35% женщинами (n=648); пол 4% (n=76) неизвестен. Участники проживали в различных географических регионах: 12% (n=217) в США (штаты Калифорния, Нью-Йорк и Флорида) и 88% (n=1618) за пределами США (Беларусь, Бразилия, Китай, Грузия, Германия, Индия, Италия, Южная Африка, Кения, Перу, Вьетнам и Уганда). Из 1835 образцов 1228 были собраны проспективно, и 607 получены из замороженных образцов, архивированных в банках.

L.2 Рабочие характеристики теста Xpert MTB/RIF Ultra по сравнению с посевом на МБТ

Для использования в исследовании у каждого участника собирали до трех образцов мокроты. Проспективные образцы — первый образец мокроты исследовали в тесте Xpert MTB/RIF Ultra, а второй и третий использовали для посева на ТБ. Архивные образцы — результаты посева были уже известны и получены стандартным методом, а тест Xpert MTB/RIF Ultra использовали для исследования первого образца достаточного объема. Если результаты теста были сомнительными (**ОШИБКА (ERROR)**, **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)**), при наличии образца достаточного объема проводилось повторное тестирование. Всего для 1,0% проб, полученных от участников, соответствовавших критериям включения (19/1854; 95% ДИ: 0,7, 1,6), в тесте были получены сомнительные результаты. Кислотоустойчивые бактерии (КУБ) в мазках мокроты определяли путем окрашивания флуоресцентным аурамин-О (АО) или окрашиванию по Цилю — Нильсену (ZN). Мазки получали из образцов с соответствующим результатом в тесте Xpert MTB/RIF Ultra. Наличие МБТ в посеве определяли для всех участников и всех образцов, полученных у участника в течение семи дней.

Рабочие характеристики теста MTB/RIF Ultra в отношении обнаружения МБТ по сравнению с результатами посева на МБТ, со стратификацией по наличию КУБ в мазке, показаны в Таблица 4. Чувствительность при исследовании образцов, положительных и отрицательных в тесте на КУБ в мазке, составила 99,5% (426/428), 95% ДИ: 98,3, 99,9 и 73,3% (200/273), 95% ДИ: 67,7, 78,2, соответственно. Общая чувствительность теста Xpert MTB/RIF Ultra, независимо от наличия КУБ в мазке, составила 95,5% (1222/1280), 95% ДИ: 94,2, 96,5.

Таблица 4. Рабочие характеристики теста Xpert MTB/RIF Ultra по сравнению с результатами посева на МБТ

		Мазок/посев				Всего
		Положительные			Отрицательные	
		Мазок на КУБ +	Мазок на КУБ -	Посев на МБТ +	Посев на МБТ -	
Тест Xpert MTB/RIF Ultra	МТВ ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED)	426	200	630 ^a	58	688
	МТВ НЕ ОБНАРУЖЕН (MTB NOT DETECTED)	2	73	75	1222	1297
	Всего	428	273	705	1280	1985
<p>Рабочие характеристики — положительный результат исследования мазка: Чувствительность: 99,5% (426/428), 95% ДИ: 98,3, 99,9</p> <p>Рабочие характеристики — отрицательный результат исследования мазка: Чувствительность: 73,3% (200/273), 95% ДИ: 67,7, 78,2</p> <p>Рабочие характеристики в целом: Чувствительность: 89,4% (630/705), 95% ДИ: 86,9, 91,4 Специфичность: 95,5% (1222/1280), 95% ДИ: 94,2, 96,5</p>						

а. Результаты исследования мазка отсутствовали для 4 образцов, с положительным результатом посева на МБТ.

Рабочие характеристики теста MTB/RIF Ultra в отношении обнаружения ДНК МБТ complex по сравнению с посевом на МБТ, со стратификацией по центрам за пределами США и в США показаны в Таблица 5. Из 1985 образцов 1768 были получены в центрах за пределами США и 217 в центрах на территории США.

Таблица 5. Тест MTB/RIF Ultra по сравнению с посевом на МБТ, разделение по центрам за пределами США и в США

	За пределами США		В США	
	N	Процент (95% ДИ)	N	Процент (95% ДИ)
Чувствительность, положит. рез-т исследования мазка	380/382	99,5% (98,1, 99,9)	46/46	100,0% (92,3, 100)
Чувствительность, отрицат. рез-т исследования мазка	180/245	73,5% (67,6, 78,6)	20/28	71,4% (52,9, 84,7)
Общая чувствительность	564/631 ^a	89,4% (86,7, 91,6)	66/74	89,2% (80,1, 94,4)
Общая специфичность	1080/1137	95,0% (93,6, 96,1)	142/143	99,3% (96,1, 99,9)

а. Результаты исследования мазка отсутствовали для 4 образцов, с положительным результатом посева на МБТ.

L.3 Рабочие характеристики теста Хpert MTB/RIF Ultra по сравнению с посевом, по типу мазка

Рабочие характеристики теста Хpert MTB/RIF Ultra в отношении обнаружения МБТ определяли в сравнении с результатами посева на МБТ с использованием образцов, исследовавшихся на КУБ путем окрашивания АО и по ZN. Результаты показаны в Таблица 6. Из 1985 образцов 1810 окрашивали АО и 175 — по методу ZN.

Таблица 6. Рабочие характеристики теста Хpert MTB/RIF Ultra в сравнении с результатами посева на МБТ в образцах, исследовавшихся путем окрашивания аурамином О (АО) и по Цию — Нильсену (ZN).

	Окрашивание аурамином О		Окрашивание по Цию — Нильсену	
	N	Процент (95% ДИ)	N	Процент (95% ДИ)
Чувствительность, положит. рез-т исследования мазка	386/388	99,5% (98,1, 99,9)	40/40	100% (91,2, 100)
Чувствительность, отрицат. рез-т исследования мазка	153/219	69,9% (63,5, 75,6)	47/54	87,0% (75,6, 93,6)
Общая чувствительность	543/611 ^а	88,9% (86,1, 91,1)	87/94	92,6% (85,4, 96,3)
Общая специфичность	1145/1199	95,5% (94,2, 96,5)	77/81	95,1% (88,0, 98,1)

а. Результаты исследования мазка отсутствовали для 4 образцов, с положительным результатом посева на МБТ.

L.4 Рабочие характеристики теста Хpert MTB/RIF Ultra по сравнению с посевом, по типу образца

Рабочие характеристики теста Хpert MTB/RIF Ultra в отношении обнаружения МБТ определяли в сравнении с результатами посева на МБТ с использованием образцов необработанной мокроты и концентрированного осадка мокроты. Результаты показаны в Таблица 7. Из 1895 образцов 1543 представляли собой необработанную мокроту и 442 — концентрированный осадок мокроты.

Таблица 7. Тест Хpert MTB/RIF Ultra по сравнению с посевом на МБТ, по типу образца

	Необработанная мокрота		Осадок мокроты	
	N	% (95% ДИ)	N	% (95% ДИ)
Чувствительность, положит. рез-т исследования мазка	323/324	99,7% (98,3, 99,9)	103/104	99,0% (94,8, 99,8)
Чувствительность, отрицат. рез-т исследования мазка	168/229	73,4% (67,3, 78,7)	32/44	72,7% (58,2, 83,7)
Общая чувствительность	495/557 ^а	88,9% (86,0, 91,2)	135/148	91,2% (85,6, 94,8)
Общая специфичность	937/986	95,0% (93,5, 96,2)	285/294	96,9% (94,3, 98,4)

а. Результаты исследования мазка отсутствовали для 4 образцов, с положительным результатом посева на МБТ.

L.5 Рабочие характеристики теста Xpert MTB/RIF Ultra по сравнению с определением чувствительности к лекарственным препаратам (рифампицину)

Изоляты, полученные из культур, положительных на МБТ, исследовали на чувствительность к рифампицину методом пропорций в агаре на среде Миддлбука или Левенштейна — Йенсена, на планшете для определения минимальной ингибирующей концентрации Sensititre™ Mycobacterium tuberculosis производства Thermo Scientific или при помощи теста BACTEC™ MGIT™ 960 SIRE компании BD. Рабочие характеристики теста Xpert MTB/RIF Ultra в отношении обнаружения мутаций, связанных с устойчивостью к рифампицину, определяли в сравнении с результатами исследования чувствительности к лекарственным препаратам изолятов в культурах МБТ.

Результаты в отношении обнаружения мутаций, связанных с устойчивостью к рифампицину, полученные в тесте Xpert MTB/RIF Ultra, сообщались только при выявлении последовательности гена *rpoB* МБТ complex. Рабочие характеристики в отношении чувствительности/устойчивости к рифампицину представлены в Таблица 8. Из анализа исключены образцы, не исследовавшиеся на чувствительность к лекарственным препаратам, а также с результатами **МТВ НЕ ОБНАРУЖЕН (MTB NOT DETECTED)** и **МТВ ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED); RIF Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (RIF Resistance INDETERMINATE)**. Для 63 из 67 образцов с неопределенной чувствительностью к рифампицину был получен результат **МТВ Trace ОБНАРУЖЕН; RIF Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (MTB Trace DETECTED, RIF Resistance INDETERMINATE)**.

Таблица 8. Рабочие характеристики теста Xpert MTB/RIF Ultra по сравнению с определением чувствительности к лекарственным препаратам

Определение чувствительности к лекарственным препаратам				
		Устойчивые к рифампицину	Чувствительные к рифампицину	Всего
Xpert MTB/RIF Ultra	МТВ ОБНАРУЖЕН; RIF Resistance ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED; RIF Resistance DETECTED)	128	12 ^a	140
	МТВ ОБНАРУЖЕН; RIF Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED; RIF Resistance NOT DETECTED)	5 ^b	314	319
	Всего	133	326	459
		Чувствительность: 96,2% (128/133), 95% ДИ: 91,5, 98,4 Специфичность: 96,3% (314/326), 95% ДИ: 93,7, 97,9		

- a. Расхождение результатов с секвенированием: 11 из 12 устойчивы к рифампицину, результат для 1 из 12 недоступен.
- b. Расхождение результатов с секвенированием: 4 из 5 чувствительны к рифампицину, результат для 1 из 5 недоступен.

L.6 Рабочие характеристики теста Xpert MTB/RIF Ultra по сравнению с тестом Xpert MTB/RIF

Оба теста Xpert MTB/RIF Ultra и Xpert MTB/RIF использовали для исследования 1594 образцов. Общее совпадение результатов для этих двух тестов составило 96,5% [(1538/1594) 95% ДИ: 95,5, 97,3]. Совпадение положительных и отрицательных результатов составило 99,2% [(491/495) 95% ДИ: 97,9, 99,7] и 95,3% [(1047/1099) 95% ДИ: 93,8, 96,4] соответственно.

L.7 Воспроизводимость

Воспроизводимость результатов теста Xpert MTB/RIF Ultra оценивали в трех центрах с применением панели образцов, состоящей из штаммов МБТ, чувствительных и устойчивых к рифампицину. МБТ-положительные образцы были приготовлены из воспроизведенного матрикса мокроты с низкими (~1X LoD) и умеренными (2–3X LoD) концентрациями. В панель был также включен отрицательный образец, состоящий из воспроизведенного матрикса мокроты. Панель из пяти образцов исследовали в течение шести разных дней два различных оператора по два раза в день в каждом из трех центров (240 тестов в каждом центре = 2 оператора x 6 дней x 2 повтора x 2 серии тестов в день). В исследовании были использованы три партии наборов реактивов теста Xpert MTB/RIF Ultra. Данные о проценте совпадения для каждого компонента панели представлены по центрам в таблице 9.

Таблица 9. Сводные данные по воспроизводимости — % совпадений результатов между исследовательскими центрами/приборами

Проба	Центр 1 (GeneXpert Dx)	Центр 2 (GeneXpert Dx)	Центр 3 (Infinity-90)	Общий % совпадений на пробу
Отрицательный	98% (47/48)	100% (48/48)	100% (48/48)	99,3% (143/144)
МБТ низкоположительный, устойчивый к RIF	96% (46/48)	96% (46/48)	98% (47/48)	96,5% (139/144)
МБТ умеренно положительный, устойчивый к RIF	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (144/144)
МБТ низкоположительный, чувствительный к RIF	100% (48/48)	100% (48/48)	98% (47/48)	99,3% (143/144)
МБТ умеренно положительный, чувствительный к RIF	100% (47/47)	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (143/143)

Воспроизводимость результатов теста Xpert MTB/RIF Ultra также оценивали по флуоресцентному сигналу, выраженному в значениях порогового цикла (Ct), для каждой обнаруживаемой целевой последовательности. В таблице 10 указаны значения средней величины, стандартного отклонения (СО) и коэффициента вариации (КВ) для каждого компонента панели, исследованного в разных центрах, в разные дни, разными операторами и в разных сериях тестов. Серией тестов считали исследование четырех образцов каждого компонента панели одним оператором в одном центре в один день.

Таблица 10. Сводные данные по воспроизводимости

Проба		N	Среднее Ct	Вариабельность											
				Между центрами		Между партиями		Между днями		Между операторами		В одной серии/одном тесте		Всего	
				CO	KB (%)	CO	KB (%)	CO	KB (%)	CO	KB (%)	CO	KB (%)	CO	KB (%)
Отрицательный	Ct SPC	144	25,7	0,00	0,0	0,30	1,1	0,00	0,0	0,70	2,8	1,40	5,5	1,60	6,3
МБТ низкоположительный, устойчивый к RIF	IC Ct	144	20,0	0,00	0,0	0,20	1,1	0,00	0,0	0,40	2,0	0,90	4,6	1,00	5,1
	rpo1C	141	31,0	0,00	0,0	0,50	1,6	0,00	0,0	0,60	2,0	2,20	7,2	2,40	7,7
	rpo2C	141	29,8	0,20	0,7	0,40	1,4	0,00	0,0	0,80	2,5	2,10	7,1	2,30	7,7
	rpo3C	139	33,8	0,20	0,6	0,60	1,9	0,00	0,0	0,70	2,0	2,00	5,9	0,20	6,5
	rpo4C	141	30,4	0,80	2,5	0,50	1,7	0,00	0,0	0,80	2,5	2,50	8,4	2,80	9,2
МБТ умеренно положительный, устойчивый к RIF	IC Ct	144	18,4	0,30	1,4	0,00	0,0	0,10	0,5	0,10	0,3	0,70	3,7	0,80	4,1
	rpo1C	143	28,3	0,40	1,5	0,00	0,0	0,50	1,8	0,00	0,0	1,80	6,4	1,90	6,08
	rpo2C	144	27,2	0,50	1,8	0,00	0,0	0,50	1,8	0,00	0,0	1,80	6,7	1,90	7,1
	rpo3C	143	31,1	0,10	0,4	0,00	0,0	0,50	1,6	0,00	0,0	1,70	5,6	1,80	5,8
	rpo4C	144	27,2	0,80	3,1	0,00	0,0	0,70	2,4	0,00	0,0	2,20	8,0	2,40	8,9
МБТ низкоположительный, чувствительный к RIF	IC Ct	143	23,7	0,00	0,0	0,20	0,6	0,40	1,6	0,00	0,0	1,70	7,4	1,80	7,6
	rpo1C	130	30,2	0,10	0,3	0,00	0,0	0,90	3,0	0,00	0,0	2,60	8,4	2,70	9,0
	rpo2C	130	29,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,80	2,6	0,00	0,0	2,40	8,1	2,50	8,5
	rpo3C	130	31,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,80	2,6	0,20	0,7	2,30	7,4	2,50	7,8
	rpo4C	120	36,1	0,30	0,9	0,40	1,1	0,00	0,0	0,50	1,4	2,10	5,7	2,20	6,1
МБТ умеренно положительный, чувствительный к RIF	IC Ct	143	21,8	0,10	0,6	0,00	0,0	0,20	1,1	0,00	0,0	1,20	5,4	1,20	5,5
	rpo1C	142	27,6	0,20	0,7	0,00	0,0	0,30	1,2	0,00	0,0	2,00	7,2	2,00	7,3
	rpo2C	141	26,7	0,00	0,0	0,40	1,4	0,00	0,0	0,10	0,2	1,60	5,9	1,60	6,1
	rpo3C	141	28,9	0,00	0,0	0,30	1,1	0,00	0,0	0,50	1,7	1,70	5,7	1,70	6,0
	rpo4C	140	33,9	0,70	2,0	0,60	1,7	0,00	0,0	0,00	0,0	2,00	5,9	2,20	6,5

М. Аналитические рабочие характеристики

М.1 Субстанции, препятствующие проведению анализа

Проведено исследование с искусственным материалом мокроты для оценки влияния субстанций, потенциально способных препятствовать проведению теста Xpert MTB/RIF Ultra. Всего оценивали 32 субстанции, потенциально способных препятствовать проведению теста. К эндогенным субстанциям, потенциально способным препятствовать проведению теста, могут относиться, помимо прочих, кровь, гной (лейкоциты), клетки из дыхательных путей, ДНК человека и кислота желудочного сока. К другим субстанциям, потенциально способным препятствовать проведению теста, могут относиться анестетики, антибиотики, антибактериальные средства, противотуберкулезные препараты, противовирусные препараты, бронхорасширяющие средства, ингаляционные бронхорасширяющие средства, живая интраназальная вакцина против гриппа, бактерицидное средство для полоскания рта, реактивы для обработки образца, лекарственный препарат против *Pneumocystis jiroveci*, гомеопатические средства для облегчения аллергии, интраназальные кортикостероиды, интраназальные гели, интраназальные спреи, анестетики для полости рта, отхаркивающие средства для перорального применения, нейтрализующие буферы, табак. Эти субстанции с указанием их активных компонентов и концентраций перечислены в Таблица 11. В исследовании применялись положительные и отрицательные пробы. Положительные пробы, содержащие клетки БЦЖ в количестве, в 3 раза превышающем порог обнаружения, исследовали в 8 повторях. Отрицательные пробы, представляющие собой субстанции без добавления штамма МКБ, тестировали по восемь повторов на каждую субстанцию для определения влияния на функциональные характеристики контроля обработки образца (SPC).

Ни для одной из 32 исследованных субстанций, потенциально способных препятствовать проведению теста, не было выявлено ингибирующего влияния (Таблица 11).

Таблица 11. Субстанции, препятствующие проведению анализа

Субстанция	Описание/активный компонент	Концентрация, применявшаяся в анализе
Кровь	Кровь (человеческая)	5% по объему
Бактерицидное средство для полоскания рта	Хлоргексидина глюконат (0,12%), 20% раствор	20% по объему
Реактивы для обработки образца	Цетилпиридина хлорид, 1% в 2% NaCl	0,5% по объему в 1% NaCl
Реактивы для обработки образца	Цетилпиридина хлорид, 1% в 2% NALC	0,5% по объему в 1% NALC
Реактивы для обработки образца	Цетилпиридина хлорид, 1% в 2% NALC и 25 мМ цитрата	0,5% по объему в 1% NALC и 12,5 мМ цитрата
Кислота желудочного сока	pH от 3 до 4, раствор в воде, нейтрализованный бикарбонатом натрия	100% по объему
Человеческая ДНК/клетки	HELA 229	10 ⁶ клеток в 1 мл
Противогрибковое средство, антибиотик	Суспензия нистатина для перорального приема, 20%	20% по объему
Лейкоциты (человека)	Лейкоциты/материал гноя (30% лейкоцитарная пленка; 30% плазма; 40% забуференный фосфатом физиологический раствор)	100% по объему
Анестетики (эндотрахеальная интубация)	Лидокаин HCl 4%	30% по объему
Растворы для распыления	NaCl 5% вес/объем	5% вес/объем
Муцин	Муцин 5% вес/объем	5% вес/объем
Антибактериальные средства, системные	Левифлоксацин 25 мг/мл	5 мг/мл
Интраназальные кортикостероиды	Флутиказон 500 мкг/спрей	5 мкг/мл
Ингаляционные бронхорасширяющие средства	Альбутерола сульфат 2,5 мг/3 мл	75 мкг/мл
Анестетики для полости рта	Орагель (20% бензокаина)	5% вес/объем
Противовирусные препараты	Ацикловир, в/в 50 мг/мл	50 мкг/мл
Антибиотиковая интраназальная мазь	Неоспорин (400 ед. бацитрацина, 3,5 мг неомицина, 5000 ед. полимиксина В)	5% вес/объем
Табак	Никогель (40% экстракт табака)	0,5% вес/объем
Противотуберкулезные препараты	Стрептомицин 1 мг/мл	25 мкг/мл
Противотуберкулезные препараты	Этамбутол 1 мг/мл	50 мкг/мл
Противотуберкулезные препараты	Изониазид 1 мг/мл	50 мкг/мл
Отхаркивающие средства для перорального применения	Гуайфенезин (400 мг/таблетка)	5 мг/мл
Противотуберкулезные препараты	Пиразинамид 10 мг/мл	10 мкг/мл
Интраназальный гель (гомеопатический)	Гель Цикам	50% вес/объем
Интраназальный спрей	Фенилэфрин 0,5%	1% по объему
Противотуберкулезные препараты	Рифампицин 1 мг/мл	25 мкг/мл

Таблица 11. Субстанции, препятствующие проведению анализа (продолжение)

Субстанция	Описание/активный компонент	Концентрация, применявшаяся в анализе
Средство для облегчения аллергии (гомеопатическое)	Масло чайного дерева (<5% цинеол, >35% терпинен- 4-01)	0,5% по объему
Живая интраназальная противогриппозная вакцина	Живая противогриппозная вакцина Флумист	5% по объему
Препарат против <i>Pneumocystis jiroveci</i>	Пентамидин	300 нг/мл по объему
Бронхорасширяющее средство	Адреналин (для инъекций)	1 мг/мл
Противотуберкулезные препараты	Амоксициллин	25 мкл

М.2 Аналитическая чувствительность

Были выполнены исследования для определения аналитической чувствительности или порога обнаружения (LoD) теста Xpert MTB/RIF Ultra с применением штамма *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv и *Mycobacterium bovis* BCG (бацилла Кальметта — Герена), разведенных мокротой человека и осадком мокроты человека. Результат, положительный в отношении МБТ, основан на обнаружении целевых последовательностей IS1081/IS6110.

Были также проведены исследования с целью определения аналитической чувствительности или порога обнаружения теста Xpert MTB/RIF Ultra в отношении устойчивости к RIF с применением хорошо охарактеризованного клинического рифампицин-устойчивого штамма *Mycobacterium tuberculosis* (TDR125) (несущего мутацию D516V в коровой области из 81 пар оснований гена *rpoB*), разведенного мокротой человека или осадком мокроты человека.

Порог обнаружения — это наименьшая концентрация (регистрируемая в КОЕ/мл), воспроизводимо отличимая от отрицательных образцов с 95% достоверностью. Исследовали не менее 20 повторов из двух штаммов при пяти — восьми концентрациях на протяжении 3 дней, и LoD определяли с применением пробит-анализа. Заявленные значения LoD приведены в таблице ниже.

Table 12. Данные пробит-анализа и заявленные значения LoD в КОЕ/мл

Вид микобактерий	Тип образца	Заявленный LoD
<i>M. bovis</i> (BCG)	Мокрота	30
	Осадок мокроты	21
<i>M. tuberculosis</i> (H37Rv)	Мокрота	12
	Осадок мокроты	25

Table 13. Данные пробит-анализа и заявленные значения LoD устойчивости к рифампицину в КОЕ/мл

Вид микобактерий	Тип образца	Заявленный LoD
<i>M. tuberculosis</i> (TDR125)	Мокрота	1093
	Осадок мокроты	4000

М.3 Аналитическая специфичность (эксклюзивность)

Тест Xpert MTB/RIF Ultra применяли для исследования материалов, содержащих культуры 30 штаммов нетуберкулезных микобактерий (НТМ). Каждый изолят добавляли в буферный раствор и тестировали в концентрациях $\geq 10^7$ КОЕ/мл; исследования выполняли в трех повторях. См. Таблица 14.

Таблица 14. Штаммы НТМ, использовавшиеся для оценки специфичности

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

В этом исследовании были получены следующие результаты для всех образцов, содержащих изоляты НТМ — **MTB НЕ ОБНАРУЖЕН (MTB NOT DETECTED)**. В исследовании использовали положительный и отрицательный контроли. Специфичность теста составила 100%.

Кроме того, чтобы установить, препятствуют ли высокие концентрации НТМ выявлению МБТ, присутствующих в пробе в небольшом количестве (3X LoD), шесть репрезентативных штаммов из перечисленных в Таблица 14 смешивали со штаммом микобактерии туберкулеза H37Rv и *M. bovis* в мокроте до конечной концентрации НТМ 10^6 КОЕ/мл, штамма *M. tuberculosis* H37Rv 36 КОЕ/мл и *M. bovis* 90 КОЕ/мл.

Штаммы НТМ, которые были проверены на способность препятствовать обнаружению МБТ (H37Rv):

- *M. abscessus*, ATCC 19977
- *M. avium* клинические изоляты National Jewish Hospital
- *M. celatum*, клинические изоляты National Jewish Hospital
- *M. kansasii*, ATCC 12478
- *M. gordonae*, ATCC 14470
- *M. intracellulare*, клинические изоляты National Jewish Hospital

Исследованные штаммы НТМ не препятствовали обнаружению *M. tuberculosis* (H37Rv) в концентрации 36 КОЕ/мл или *M. bovis* в концентрации 90 КОЕ/мл, т. е. полученные сигналы были такими же, как при использовании только штамма H37Rv.

М.4 Виды/штаммы, использовавшиеся для оценки специфичности

В исследовании возможности получения ложно-положительных результатов теста Xpert MTB/RIF Ultra использовали следующие микроорганизмы, включая грамотрицательные и грамположительные бактерии, грибковые микроорганизмы, вирусы и дрожжи. Каждый изолят вносили в буферный раствор и исследовали в концентрациях $\geq 10^7$ КОЕ/мл (бактерии и грибки) или $\geq 10^6$ копий/мл (геномная ДНК бактерий и грибов) и $\geq 10^5$ TCID₅₀/мл (вирусы).

Таблица 15. Виды и штаммы

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Респираторно-синцитиальный вирус мун В
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	Rhinovirus
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Chlamydomypha pneumoniae</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Nocardia asteroides</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	Вirus парагриппа мун 1	<i>Streptococcus agalactiae</i>
Коронавирус	Вirus парагриппа мун 2	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	Вirus парагриппа мун 3	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	Респираторно-синцитиальный вирус мун А	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Метапневмовирус человека (hMPV) 16 мун А1		

В условиях данного исследования для всех использованных микроорганизмов получен результат **МТВ НЕ ОБНАРУЖЕН (MTB NOT DETECTED)**. В исследовании использовали положительный и отрицательный контроли. Специфичность теста составила 100%.

М.5 Аналитическая инклюзивность

Тридцать семь штаммов комплекса МБТ, включающие 16 чувствительных к рифампицину штаммов с немутантной коровой областью гена *rpoB* и 21 устойчивый к рифампицину штамм, исследовали в тесте Xpert MTB/RIF Ultra. Образцы ДНК, полученные в общей сложности от 37 штаммов МБТ, были протестированы на системе GeneXpert по протоколу Xpert MTB/RIF Ultra, модифицированному для анализа ДНК. Составляющие конечного этапа реакции и условия проведения циклов ПЦР соответствовали протоколу, разработанному для анализа образцов, полученных от пациентов. Двенадцать штаммов были получены из коллекции ВОЗ/ТБИ (Специальной программы по научным исследованиям и подготовке специалистов в области тропических болезней) и 6 штаммов из коллекции лаборатории Ратгерского университета. В целом эти штаммы были представлены изолятами из 8 стран и включали 21 устойчивый к рифампицину изолят с одиночными, двойными и тройными мутациями коровой области гена *rpoB*. Образцы исследовали путем внесения 100 мкл ДНК в предназначенную для лизата камеру картриджа. В качестве отрицательного контроля использовался буферный раствор. В тесте были правильно идентифицированы все 16 немутантных штаммов и правильно обнаружена устойчивость к рифампицину у 18 из 21 устойчивого к рифампицину штамма с мутациями коровой области гена *rpoB*. Неопределенный результат в отношении устойчивости к рифампицину получен для 3 мутантных штаммов. *M. caprae* и *M. pinnipedii* не были изучены в этом исследовании.

М.6 Аналитическая инаktivация микобактерий в образцах мокроты

Дезинфицирующую активность реактива для образцов Xpert MTB/RIF Ultra определяли стандартизованным методом количественного измерения туберкулоцидной активности в культуре. В образцы мокроты добавлялись живые *M. bovis* в высокой концентрации, затем добавлялся реактив для образцов в соотношении 2:1. Полученная смесь инкубировалась в течение 15 минут. После инкубации смесь реактива для образцов и мокроты была нейтрализована путем разведения и фильтрации, и затем исследовалась культуральным методом. Жизнеспособность *M. bovis* из подготовленной таким образом мокроты была ниже не менее чем на 6 lg по сравнению с неподготовленным контрольным образцом.

Каждая лаборатория должна самостоятельно определять дезинфекционную эффективность реактива для образцов с применением собственных стандартизованных методов и следовать всем нормативным требованиям по биологической безопасности.

N. Справочная литература

1. WHO report 2008. http://www.who.int/tb/publications/global_report/2008.
2. WHO report 2017. http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr2017_executive_summary.pdf?ua=1.
3. Anti-tuberculosis resistance in the world: fourth global report. WHO/HTM/TB/2008.394
4. Morris SL, Bai GH, Suffys P, Portillo-Gomez L, Fairchok M, Rouse D. Molecular mechanisms of multidrug resistance in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. J Infect Dis. 1995. 171:954-60.
5. Rattan A, Kalia A, Ahmad N. 1998. Multidrug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis*: Molecular Perspectives, Emerging Infectious Diseases, Vol.4 No.2, <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no2/rattan.htm>.
6. Francis J. Curry National Tuberculosis Center and California Department of Public Health, 2008: Drug-Resistant Tuberculosis, A Survival Guide for Clinicians, Second Edition.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 1993. Richmond JY and McKinney RW (eds). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
9. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazardous Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpart Z).
11. Kent PT, Kubica GP. 1985. Public Health Mycobacteriology—*A Guide for Level III Laboratory*, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546.
12. Helb, D. et al. Rapid Detection of *Mycobacterium tuberculosis* and Rifampin Resistance by Use of On-Demand, Near-Patient Technology. Journal of Clinical Microbiology. 2010. 48:1. 229-237.
13. Banada, P. et al. Containment of Bioaerosol Infection Risk by the Xpert MTB/RIF Assay and Its Applicability to Point-of-Care Settings. Journal of Clinical Microbiology. 2010. 48:10. 3551-3557.

О. Расположение штаб-квартир корпорации Cepheid

Головной офис

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Соединенные Штаты Америки
Телефон: + 1 408 541 4191
Факс: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Европейский офис

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Франция
Телефон: + 33 563 825 300
Факс: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

Р. Техническая поддержка

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

Контактная информация

Соединенные Штаты Америки
Телефон: + 1 888 838 3222
Адрес электронной почты:
techsupport@cepheid.com

Франция
Телефон: + 33 563 825 319
Адрес электронной почты:
support@cepheideurope.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Cepheid доступна на нашем веб-сайте: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

Q. Условные обозначения

Символ	Значение
	Каталожный номер
	Медицинское устройство для диагностики <i>in vitro</i>
	Не использовать повторно
	Код партии
	Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно
	Производитель
	Страна-изготовитель
	Содержимого достаточно для проведения <n> анализов
	Контроль
	Срок годности
	Марка CE – Европейское соответствие
	Температурные ограничения
	Биологическая опасность
	Горючие жидкости
	Разъедающее воздействие на кожу
	Серьезная опасность для здоровья



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden (Швеция)



Xpert® MTB/XDR

REF GXMTB/XDR-10



Cepheid®

Медицинское устройство для
диагностики *in vitro*



302-3514-RU, Ред. В июль 2020 г.

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, and Xpert® are trademarks of Cepheid.

Windows® is a trademark of Microsoft Corporation.

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

Copyright © Cepheid, 2020. All rights reserved.

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

Cepheid®, логотип Cepheid, GeneXpert® и Xpert® являются товарными знаками компании Cepheid.

Windows® является товарным знаком Microsoft Corporation.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩЕЙ ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

Авторское право © Cepheid, 2020. Все права защищены.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden

Xpert® MTB/XDR

Для диагностического использования *in vitro*

1 Фирменное название

Xpert® MTB/XDR

2 Общепринятое или распространенное наименование

Xpert MTB/XDR Тест

3 Назначение

Тест Xpert MTB/XDR, выполняемый на системе приборов GeneXpert, представляет собой диагностический тест *in vitro*, основанный на гнездовой полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени и применяемый с целью обнаружения ДНК комплекса *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ) в образцах необработанной мокроты или концентрированных осадках, приготовленных из мокроты. В образцах, в которых обнаружена MTB, тест Xpert MTB/XDR также может обнаружить мутации, связанные с устойчивостью к изониазиду (INH) в генах *katG* и *fabG1*, интергенный регион *oxyR-ahpC* и промотор *inhA*; устойчивость к этионамиду (ETH), связанную только с мутациями промотора *inhA*; устойчивость к фторхинолонам (FLQ), связанную с мутациями в регионах *gyrA* и *gyrB*, определяющих устойчивость к хинолонам (QRDR); и мутации, связанные с инъекционным препаратом второй линии (SLID) в гене *rrs* и промоторном участке *eis*.

Тест Xpert MTB/XDR предназначен для применения в качестве уточняющего теста с образцом (необработанной мокротой или концентрированными осадками мокроты), в которых обнаружена MTB. Тест предназначен для применения в качестве вспомогательного при диагностике туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ) совместно с клиническими и другими лабораторными данными.

4 Краткие сведения и разъяснения

Туберкулез (ТБ) — это заболевание, вызванное *Mycobacterium tuberculosis*, которое остается одним из главных причин смерти от заболеваний в мире. По существующим оценкам, в 2018 году обнаружено 10 миллионов новых случаев ТБ и примерно полмиллиона новых случаев рифампицин-устойчивого ТБ, из которых 78 % имели ТБ с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ)¹. МЛУ-ТБ, определяемый по устойчивости к изониазиду и рифампицину (двум наиболее эффективным препаратам первой линии), по-прежнему является угрозой общественному здоровью, и Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) выпустила новые рекомендации по лечению, подчеркивающие значение быстрых тестов на чувствительность к лекарственным препаратам^{2,3}. Несмотря на это, в 2018 году во всем мире число случаев МЛУ/рифампицин-устойчивого ТБ составило только 39 % оцениваемого количества впервые выявленных случаев, и число получающих лечение пациентов составило 32 %¹. Аналогичным образом, также существует возрастающая озабоченность недиагностированными и нелеченными случаями изониазид-устойчивого рифампицин-чувствительного ТБ. Без легкого доступа к тестам ИН-устойчивости разные страны стремятся выявлять пациентов и применяют рекомендации ВОЗ 2018 года по лечению изониазид-устойчивого рифампицин-чувствительного ТБ (Нг-ТБ)⁴. Наиболее тяжелые случаи ТБ вызваны штаммами МЛУ-ТБ с приобретенной дополнительной устойчивостью к фторхинолонам и любому одному из инъекционных препаратов второй линии: амикацину (АМК), канамицину (KAN) или капреомицину (CAP). Эти высокоустойчивые штаммы называются штаммами туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ). ШЛУ-ТБ очень трудно лечить, и он может сопровождаться высокой смертностью, обычно при отсутствии диагностики ШЛУ-ТБ и позднем назначении соответствующего лечения⁵.

Исследования лекарственной чувствительности MTB, связанные с культурами и фенотипом, занимают много времени, трудоемки и представляют серьезные биологический риск для сотрудников лабораторий, в результате чего в странах, эндемичных по MTB, число аккредитованных лабораторий мало². Даже если исследования чувствительности на основе культур доступны, их выполнение может занять от нескольких недель до месяцев. Возможно также исследование лекарственной чувствительности MTB с применением быстрых, чувствительных и более безопасных тестов для определения генотипа, в которых устойчивость определяется путем выявления мутаций, несущих устойчивость к препаратам первой и второй линии у большинства клинических штаммов². Подходы к тестам на основе определения генотипа могут быть сведены к нескольким выполняемым вручную этапам и более пригодны к приближенной к пациенту помощи, что может существенно расширить их доступность для групп, недостаточно охваченных медицинской помощью, в условиях низкой и высокой эндемичности⁵.

5 Принципы проведения процедуры

Тест Xpert MTB/XDR является автоматизированным диагностическим тестом *in vitro* для выявления ДНК комплекса ШЛУ-МТВ и связанных с устойчивостью мутаций. Этот тест выполняется в системе приборов Cepheid GeneXpert, оборудованной 10-цветными модулями GeneXpert.

В приборах системы GeneXpert объединены и автоматически выполняются следующие процессы: подготовка проб, амплификация нуклеиновых кислот и выявление целевых последовательностей в образцах с использованием гнездной ПЦР в реальном времени и обнаружения пиков плавления. Система приборов GeneXpert состоит из прибора, персонального компьютера, сканера штрих-кодов и предустановленного программного обеспечения для выполнения анализа собранных образцов и просмотра результатов. Эта система требует применения одноразовых картриджей Xpert, которые содержат специфичные для целевой последовательности реактивы полимеразной цепной реакции (ПЦР) и являются местом выполнения процесса ПЦР и обнаружения пика плавления. Поскольку картриджи Xpert представляют собой целостные системы, риск перекрестной контаминации образцов сведен к минимуму. Полное описание системы дано в *Руководстве оператора системы GeneXpert Dx*.

Картридж теста Xpert MTB/XDR содержит реактивы для определения профиля ШЛУ-МТВ, а также контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC), для контроля правильной обработки целевых бактерий и выявления ингибитора (-ов) реакции ПЦР. Контроль зондов (Probe Check Control, PCC) предназначен для проверки правильности регидратации реактивов, заполнения пробирки для проведения ПЦР в картридже, целостности зондов и стабильности красителя.

Картридж теста Xpert MTB/XDR содержит все реактивы, кроме реактива для образцов (sample reagent, SR), поэтому пользователь должен добавить SR к образцу до загрузки обработанного образца в картридж. Этот тест предназначен для использования в качестве подтверждающего с МТВ-положительными образцами.

Результаты интерпретируются программным обеспечением GeneXpert на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета, а затем отображаются в окне «Просмотреть результаты» (View Results) в табличном и графическом форматах. Также выводится сообщение, если анализ недействительный, выполнен с ошибкой или не дал результата. Тест Xpert MTB/XDR менее чем за 90 мин обнаруживает ШЛУ-МТВ с устойчивостью к INH, ETH, FLQ, and SLID непосредственно в необработанной мокроте или в концентрированном осадке мокроты.

6 Реактивы и приборы

6.1 Комплект поставки

Набор Xpert MTB/XDR содержит достаточное количество реактивов для анализа 10 полученных от пациентов образцов или образцов для контроля качества. В набор входят следующие компоненты:

Картриджи теста Xpert MTB/XDR со встроенными реакционными пробирками	10 в каждом наборе
• Гранулы 1, 2, 3, 4 и 5 (лиофилизированные)	1 каждого из типов в одном картридже
• Гранулы контроля обработки образца (лиофилизированные)	1 каждого из типов в одном картридже
• Реактив 1	4,0 мл в одном картридже
• Реактив 2	4,0 мл в одном картридже
Одноразовые пипетки для переноса	1 пакет с 12 шт. на набор
Реактив для проб	10 x 8 мл в одном флаконе
Компакт-диск	1 в каждом наборе
• Файлы с описанием теста (assay definition files, ADF)	
• Инструкция по импорту файла ADF в программное обеспечение GeneXpert	
• Инструкция по применению (вкладыш-инструкция)	

Примечание Цвет реактива для проб может варьироваться от бесцветного до желтого или янтарного. Цвет может становиться более интенсивным со временем, но он не влияет на рабочие характеристики реактива.

Примечание Паспорта безопасности вещества (Safety Data Sheet, SDS) можно найти по адресам www.cephheid.com или www.cephheidinternational.com на вкладке **ПОДДЕРЖКА (SUPPORT)**.

Примечание

Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма бычьей крови животных, выращенных в США. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время производства не происходило смешивания сырья с другими материалами животного происхождения.

Примечание

На пипетки для переноса нанесено одно деление, показывающее минимальный объем обработанного образца, который необходимо перенести в картридж. Пипетки следует применять только с этой целью. Все остальные пипетки должны предоставляться лабораторией.

7 Хранение и обращение



- Храните содержимое набора Xpert MTB/XDR при температуре 2–28 °C до указанной на маркировке даты истечения срока годности.

- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение теста.

- Начинайте тест в течение 2,5 ч после добавления SR к образцу или в течение 4 ч при хранении в условиях 2–8 °C



- Не используйте реактивы или картриджи с истекшим сроком годности.

- Не используйте картриджи с вытекшими реактивами.

8 Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Система GeneXpert Dx: Прибор GeneXpert, оснащенный 10-цветными модулями GeneXpert, компьютер, сканер штрих-кодов и руководство оператора.

- Для системы GeneXpert Dx: Программное обеспечение версии 6.2 или выше

- Принтер: если необходим принтер, обратитесь к торговому представителю компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.

- Стерильный контейнер для образцов с закручивающейся крышкой

- Одноразовые перчатки

- Этикетки и/или нестираемый маркер

- Стерильные пипетки для обработки образцов

9 Предупреждения и меры предосторожности

9.1 Общие

- Для диагностического использования *in vitro*



- При работе со всеми биологическими образцами, в том числе и с использованными картриджами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами требует соблюдения стандартных мер предосторожности.

- Методические рекомендации по обращению с образцами можно получить от Центров по контролю и профилактике заболеваний США (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)³ и Института клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute)^{6,7,8}.

- Следуйте принятым в учреждении правилам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.

- При работе с образцами и реактивами необходимо надевать одноразовые защитные перчатки, лабораторные халаты и средства индивидуальной защиты глаз. После работы с образцами и реактивами для проведения анализа необходимо тщательно вымыть руки.



- Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, и они требуют соблюдения стандартных мер предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реактивов следуйте принятым в вашем учреждении правилам защиты окружающей среды при обращении с отходами. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых национальных или региональных процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе нормативные документы не дают ясных указаний по правильному удалению в отходы, биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их удаления⁹.

- Реактив для образцов содержит натрия гидроксид ($\text{pH} > 12,5$) и изопропанол. Опасен при проглатывании (H302), вызывает тяжелые ожоги кожи и повреждение глаз (H314). Огнеопасная жидкость и пары (H226).
- Функциональные характеристики этого анализа установлены только для типов образцов, перечисленных в разделе «Назначение». Функциональные характеристики этого теста для других образцов или типов образцов не установлены.
- Следуйте принятым в учреждении процедурам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.

9.2 Образец

- Процедуры взятия и обработки образцов требуют специальной подготовки и инструкций.
- Соблюдайте надлежащие условия хранения при транспортировке образцов, чтобы обеспечить целостность образцов (см. Раздел 12, Процедура). Не изучалась стабильность образца при транспортировке в условиях, отличных от рекомендованных.
- Отбракуйте образцы, содержащие явно видимые частицы пищи или другие твердые частицы.
- Правильное выполнение процедур взятия, хранения и транспортировки образцов крайне важно для получения правильных результатов.

9.3 Тест/реактив

- Не заменяйте реактивы теста Xpert MTB/XDR другими реактивами.
- Открывайте крышку картриджа теста Xpert MTB/XDR только для внесения образца.
- Не используйте картридж, который падал после извлечения из набора или подвергался сотрясениям после открытия крышки картриджа! Встряхивание или падение картриджа после вскрытия его крышки может привести к получению сомнительных результатов.
- Не размещайте этикетку с идентификационным номером образца на крышке картриджа или на этикетке со штрих-кодом.
- Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- Каждый одноразовый картридж Xpert MTB/XDR применяется для выполнения одного теста. Не используйте уже применявшиеся картриджи повторно.
- Одноразовая пипетка используется для переноса одного образца. Не используйте одноразовые пипетки повторно.
- Не используйте картридж с влажной поверхностью или с предположительно нарушенной герметичностью крышки.
- Во избежание контаминации образцов и реактивов рекомендуется следовать принципам надлежащей лабораторной практики, включая правило смены перчаток перед началом работы с образцом следующего пациента.
- При разливе образцов или контролей наденьте перчатки и впитайте разлитую жидкость бумажными полотенцами. Затем тщательно очистите загрязненную область разбавленным в соотношении 1:10 свежеприготовленным раствором бытового хлорного отбеливателя. Конечная концентрация активного хлора должна составлять 0,5 % независимо от концентрации гипохлорита в хозяйственном отбеливателе в вашей стране. Продолжительность контакта поверхности с раствором отбеливателя должна составлять не менее двух минут. Высушите рабочую поверхность и затем удалите с нее остатки раствора отбеливателя при помощи 70 % денатурированного этилового спирта. Прежде чем продолжать, дождитесь полного высыхания поверхности. Также можно следовать стандартным процедурам, предусмотренным для случаев контаминации или разлива в вашем учреждении. При загрязнении оборудования следуйте рекомендациям по деонтаминации, предоставленным производителем этого оборудования.
- Этот тест прошел валидацию с использованием разработанного компанией Cepheid программного обеспечения GeneXpert Dx версии 6.2 и выше.

10 Опасные химические факторы^{9,10}



Реактив для образцов:

- Содержит изопропиловый спирт
- Содержит гидроксид натрия
- Сигнальное слово: ОПАСНО
- Символы опасности GHS ООН:



- **Заявления об опасности СГС ООН**
 - Воспламеняющиеся жидкость и пары.
 - Вызывает серьезные ожоги кожи и повреждение глаз.
 - Вызывает серьезное повреждение глаз.
 - Предположительно вызывает генетические дефекты.
 - Предположительно неблагоприятно влияет на способность к деторождению или на развивающийся плод.
 - Может вызвать повреждение органов при длительном или повторном воздействии.
- **Меры предосторожности СГС ООН**
- **Профилактика**
 - Перед использованием получить специальные инструкции.
 - Перед использованием ознакомиться с инструкциями по технике безопасности.
 - Беречь от нагревания, искр, открытого огня и/или горячих поверхностей. - Не курить.
 - Хранить в плотно закрытом контейнере.
 - Избегать вдыхания тумана, паров и (или) вещества в распыленном состоянии.
 - После использования тщательно вымыть.
 - Пользоваться защитными перчатками, защитной одеждой, средствами защиты глаз и лица.
 - Использовать соответствующие индивидуальные средства защиты.
- **Реагирование**
 - В случае пожара: Использовать соответствующие средства пожаротушения.
 - ПРИ ВДЫХАНИИ: Переместить пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении.
 - Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту/терапевту.
 - ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой/принять душ.
 - Выстирать загрязненную одежду перед повторным использованием.
 - Требуется специальное лечение; см. дополнительную информацию о первой помощи.
 - ДЕЙСТВИЯ ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА. Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь и если это легко сделать. Продолжить промывание.
 - ДЕЙСТВИЯ ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ. Прополоскать рот. НЕ вызывать рвоту.
 - ПРИ воздействии или подозрении на возможность воздействия: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
 - При плохом самочувствии обратиться за помощью/консультацией к врачу.
- **Хранение/удаление в отходы**
 - Удаление в отходы содержимого и/или тары должно осуществляться в соответствии с местными, региональными, государственными и/или международными нормами.

11 Образцы: взятие, транспортировка и хранение

Образцы можно собирать стандартными методами, принятыми в учреждении пользователя.

Правильное взятие, хранение и транспортировка образцов имеют решающее значение для функциональных характеристик этого анализа! Стабильность образцов для теста Xpert MTB/XDR в условиях транспортировки и хранения, не соответствующих рекомендованным ниже, не изучена.

11.1 Транспортировка



Рекомендуется по возможности транспортировать образцы при температуре 2–8 °C.

Необработанные образцы мокроты можно хранить при температуре 2–35 °C.

11.2 Необработанные образцы

Необработанные образцы мокроты можно хранить при температуре 2–35 °С в течение 7 дней (включая время доставки).

Деконтаминированный/концентрированный и ресуспендированный осадок мокроты можно хранить в холодильнике при 2–8 °С не более 7 суток до выполнения теста в системе GeneXpert.

Чтобы определить адекватный объем образца необработанной мокроты или деконтаминированного/концентрированного осадка мокроты, ознакомьтесь с Таблица 1 ниже.

Таблица 1. Требуемый объем образца

Тип образца	Минимальный объем для одного анализа	Максимальный объем пробы	Соотношение объемов образца и реактива для проб (SR)
Осадок мокроты	0,5 мл	2,5 мл	1:3 ^a
Необработанная мокрота	1,0 мл	4,0 мл	1:2

а. если объем пробы составляет 0,7 мл или более, соотношение объемов пробы и реактива для проб должно составлять 1:2 для одного теста.

11.3 Остаток образцов, обработанных SR

Тест Xpert MTB/XDR можно применять для исследования остатков обработанных SR образцов для теста Xpert MTB/RIF или Xpert MTB/RIF Ultra. Однако в таких случаях объем остатка обработанного SR образца должен быть не менее 2 мл и смесь следует хранить при 2–8 °С не более 4 ч или при температуре не выше 35 °С не более 2,5 ч.

12 Процедура

12.1 Процедура с необработанной мокротой

Важно! Начинайте тест в течение 2,5 ч после добавления SR к образцу или в течение 4 ч при хранении в условиях 2–8 °С.

Примечание Отбракуйте образцы, содержащие явно видимые частицы пищи или другие плотные частицы.

Требования к объему: требуется ≥ 1 мл необработанной мокроты.

- Осторожно откройте крышку герметичного контейнера для сбора мокроты. См. Рисунок 1.



Рисунок 1. Открытый контейнер для сбора мокроты

- Добавьте к мокроте реактив для образцов (SR) в объеме, приблизительно в 2 раза превышающем объем мокроты (разведение SR:мокрота должно составлять 2:1). См. Рисунок 2.



Пример 1.
8 мл реактива
для образцов:
4 мл: мокрота



Пример 2.
2 мл реактива
для проб:
1 мл: мокрота

Отметка 3 мл

Рисунок 2. Примеры разведений 2:1

Примечание Удалите остатки SR и флакон в соответствующий контейнер для отходов согласно стандартным правилам вашего учреждения.

3. Закрепите крышку на контейнере с образцом.
4. Энергично встряхните пробирку 10–20 раз или обработайте на вихревой мешалке в течение не менее 10 с.

Примечание Одно встряхивание — это одно движение пробиркой вперед-назад.

5. Инкубируйте в течение 10 мин при комнатной температуре и затем энергично встряхните пробирку 10–20 раз или обработайте на вихревой мешалке в течение не менее 10 с.
6. Инкубируйте образец при комнатной температуре еще 5 мин.

12.2 Процедура с использованием деконтаминированного концентрированного осадка мокроты

Важно! Начинайте тест в течение 2,5 ч после добавления SR к образцу или в течение 4 ч при хранении в условиях 2–8 °C.

Примечание Отбракуйте образцы, содержащие явно видимые частицы пищи или другие плотные частицы.

Требования к объему: Осадок мокроты, приготовленный с NALC-NaOH (N-ацетил-L-цистеин-гидроксид натрия) по методу Kent и Kubica¹¹, и ресуспендированный в 67 нМ фосфат/H₂O буфера, можно исследовать в тесте Xpert MTB/XDR. После ресуспендирования сохраните не менее 0,5 мл ресуспендированного осадка для выполнения теста Xpert MTB/XDR. При использовании любого объема менее 0,7 мл выполните действия от 1 до 5 для приготовления образца. Для этих действий требуется 3 части SR и 1 часть осадка, чтобы получить достаточный объем и обеспечить оптимальные рабочие характеристики теста. Если объем пробы составляет 0,7 мл или более, адекватный объем для теста можно получить, добавив 2 части реактива для проб к 1 части осадка. В данном примере 1,4 мл реактива для проб добавляется к 0,7 мл осадка. Таким образом, 2 части SR добавляют к 1 части осадка.

1. Пипеткой для переноса внесите не менее 0,5 мл полностью ресуспендированного осадка в коническую пробирку с завинчивающейся крышкой, помеченной идентификатором образца и (или) пациента.

Примечание Ресуспендированный осадок, который не будет немедленно использован для теста, следует хранить при температуре 2–8 °C. Срок хранения не должен превышать 7 суток.

2. Добавьте 1,5 мл реактива для образцов (SR) к 0,5 мл ресуспендированного осадка.
3. Энергично встряхните пробирку 10–20 раз или обработайте на вихревой мешалке не менее чем на 10 с.

Примечание Одно встряхивание — это одно движение пробиркой вперед-назад.

4. Инкубируйте в течение 10 мин при комнатной температуре и затем энергично встряхните пробирку 10–20 раз или обработайте на вихревой мешалке в течение не менее 10 с.
5. Инкубируйте образец при комнатной температуре еще 5 мин.

12.3 Подготовка картриджа

Важно! Убедитесь в том, что модуль готов к приему картриджа. Начните тест как можно скорее, но не более чем через 2,5 ч после добавления в картридж образца, обработанного реактивом для образцов, или в течение 4 ч при хранении в условиях 2–8 °С.

Подготовьте следующие материалы: Картридж Xpert, пипетка для переноса (входит в комплект) и надлежащим образом собранный и маркированный образец.

1. Извлеките картридж из упаковки.
2. Осмотрите картридж на предмет отсутствия повреждений. В случае повреждения не используйте его.
3. Дождитесь согревания картриджа до комнатной температуры. Нанесите на каждый картридж Xpert MTB/XDR идентификатор образца. См. Рисунок 3.



Рисунок 3. Надпишите номер на боковой части картриджа.

Примечание

Напишите идентификационный номер на боковой стороне картриджа или прикрепите этикетку с идентификационным номером. Не наклеивайте этикетку на крышку картриджа и не закрывайте этикеткой двухмерный штрих-код, имеющийся на картридже.

4. Откройте крышку картриджа, а потом откройте контейнер с образцом.
5. Возьмите входящую в набор пипетку для переноса и наберите разжиженный образец до отметки на пипетке. Если объем образца недостаточен, не используйте для анализа этот образец. См. Рисунок 4.



Рисунок 4. Аспирация до отметки на пипетке

6. Медленно выливайте образец из пипетки, чтобы свести к минимуму риск образования аэрозоля. См. Рисунок 5.



Рисунок 5. Картридж теста Xpert MTB/XDR

7. Закройте крышку картриджа.

12.4 Запуск теста

Важно!

Перед началом анализа убедитесь, что файл с описанием теста (assay definition file, ADF) Xpert MTB/XDR импортирован в программное обеспечение. В данном разделе перечисляются основные действия при выполнении теста. Для подробных инструкций см. *Руководство оператора GeneXpert Dx System (GeneXpert Dx System Operator Manual)*.

Примечание

Выполняемые вами действия могут быть другими, если системный администратор изменил установленную по умолчанию рабочую последовательность.

1. Включите прибор GeneXpert:
 - При использовании прибора GeneXpert Dx сначала следует включать сам прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert Dx запустится автоматически или после двойного щелчка на ярлыке GeneXpert Dx на рабочем столе Windows®.
2. Войдите в программное обеспечение приборной системы GeneXpert, используя свое имя пользователя и пароль.
3. В окне GeneXpert Dx System щелкните **Создать анализ (Create Test)**. Открывается диалоговое окно «Создать анализ» (Create Test).
4. Введите при помощи сканера или введите их с клавиатуры ID пациента (Patient ID) или ID образца (Sample ID). При вводе ID образца (Sample ID) с клавиатуры убедитесь, что он введен правильно. «ID образца» (Sample ID) указывается в левой части окна «Просмотреть результаты» (View Results) и связывается с результатами анализа.
5. Отсканируйте штрих-код на картридже теста Xpert MTB/XDR. На основе информации, считанной со штрих-кода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «ID партии реактива» (Reagent Lot ID), «С/Н картриджа» (Cartridge S/N) и «Срок годности» (Expiration Date). См. Рисунок 6.

Примечание

Если штрих-код картриджа Xpert MTB/XDR не сканируется, повторите анализ с новым картриджем.

Рисунок 6. Окно GX Dx «Создать анализ» (Create Test)

6. Щелкните **«Начать анализ» (Start Test)**. В появившемся диалоговом окне введите свой пароль.
7. Для прибора GeneXpert Dx:
 - А. Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
 - В. Закройте дверцу. Начинается анализ, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса анализа индикаторная лампа выключается.
 - С. Перед открытием дверцы модуля и извлечением картриджа дождитесь разблокирования системой замка дверцы.
8. Удалите использованные картриджи в подходящий контейнер для сбора отходов образцов согласно стандартной практике, принятой в вашем учреждении.

13 Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечисляются основные действия по просмотру и печати результатов. Подробные инструкции о просмотре и печати результатов приведены в *Руководстве оператора системы GeneXpert Dx*.

- Для просмотра результатов выберите ярлык **Просмотреть результаты (View Results)**.
- По завершении анализа выберите кнопку **Отчет (Report)** в окне «Просмотреть результаты» (View Results) для просмотра отчета и (или) получения отчета в формате PDF.

14 Контроль качества

14.1 Встроенные контроли качества

CONTROL

В каждый тест входит контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC) и контроль зондов (Probe Check Control, PCC).

- **Контроль обработки образца (SPC)** — проверяет правильность обработки образца. Кроме того, этот контроль позволяет выявить связанное с пробой ингибирование реакции ПЦР в реальном времени, удостовериться в наличии надлежащих для протекания реакции амплификации условий ПЦР (температура и время) и в действенности реактивов для ПЦР. Результат для SPC должен быть положительным для отрицательной пробы и может быть как положительным, так и отрицательным для положительной пробы. SPC считается пройденным, если его результат соответствует заданным критериям приемлемости.
- **Контроль зондов (PCC)** — перед началом ПЦР системой GeneXpert измеряется флуоресцентный сигнал от зондов для проверки регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль PCC считается пройденным, если его результат соответствует заданным критериям приемлемости.
- **Внешние контроли** — в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики, внешние контроли, не входящие в данный набор, следует использовать согласно применимым требованиям местных и государственных уполномоченных организаций.
- **Контроль достаточности объема образца (SVA)** — перед обработкой образца система GeneXpert проверяет достаточность объема образца в камере для образца. Если контроль достаточности объема образца не пройден, это означает, что достаточный объем образца, требуемый для теста, не был внесен в камеру для образца.

15 Интерпретация результатов

Система приборов GeneXpert выдает результаты на основании анализа комплекса измеренных значений флуоресцентных сигналов и температуры плавления (T_m). Обнаружение системой GeneXpert мутаций и немутантных последовательностей основано на значениях T_m . Определение чувствительности или устойчивости зависит от того, попадает ли значение T_m конкретного анализируемой последовательности в диапазон значений немутантных или мутантных последовательностей. Положительным считаются следующие результаты теста Xpert MTB/XDR: **MTB ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED)** и все устойчивые целевые последовательности **НЕ ОБНАРУЖЕН (NOT DETECTED)** или **MTB ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED)** и одна или несколько из устойчивых последовательностей **ОБНАРУЖЕН (DETECTED)** или **MTB ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED)** и (или) одна или несколько из следующих устойчивых последовательностей **НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (INDETERMINATE)**. Перечень возможных результатов для каждой целевой последовательности приведен в Таблица 2.

Таблица 2. Возможные результаты определения каждой целевой последовательности в тесте Xpert MTB/XDR

Класс лекарственных препаратов	Индикация результата
Неприменимо	НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)/ОШИБКА (ERROR)/НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)
	MTB ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED)
	MTB НЕ ОБНАРУЖЕН (MTB NOT DETECTED)
Изониазид	Low INH Resistance ОБНАРУЖЕН (Low INH Resistance DETECTED)
	INH Resistance ОБНАРУЖЕН (INH Resistance DETECTED)
	INH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (INH Resistance NOT DETECTED)
	INH Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (INH Resistance INDETERMINATE)

Таблица 2. Возможные результаты определения каждой целевой последовательности в тесте Xpert MTB/XDR (Продолжение)

Класс лекарственных препаратов	Индикация результата
Фторхинолоны	Low FLQ Resistance ОБНАРУЖЕН (Low FLQ Resistance DETECTED)
	FLQ Resistance ОБНАРУЖЕН (FLQ Resistance DETECTED)
	FLQ Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (FLQ Resistance NOT DETECTED)
	FLQ Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (FLQ Resistance INDETERMINATE)
Амикацин	AMK Resistance ОБНАРУЖЕН (AMK Resistance DETECTED)
	AMK Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (AMK Resistance NOT DETECTED)
	AMK Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (AMK Resistance INDETERMINATE)
Канамицин	KAN Resistance ОБНАРУЖЕН (KAN Resistance DETECTED)
	KAN Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (KAN Resistance NOT DETECTED)
	KAN Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (KAN Resistance INDETERMINATE)
Капреомицин	CAP Resistance ОБНАРУЖЕН (CAP Resistance DETECTED)
	CAP Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (CAP Resistance NOT DETECTED)
	CAP Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (CAP Resistance INDETERMINATE)
Этионамид ^а	ETH Resistance ОБНАРУЖЕН (ETH Resistance DETECTED)
	ETH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (ETH Resistance NOT DETECTED)

а. Этионамид в связи с процедурой теста не дает неопределенных результатов

В Таблица 3 представлен перечень генов, обнаруживаемых тестом Xpert MTB/XDR, а также регион кодона и нуклеотиды, учитываемые в каждом из исследуемых генов с целью обнаружения или предположения лекарственной устойчивости.

Таблица 3. Определяемые и учитываемые регионы определяющие лекарственную устойчивость

Препарат	Целевой ген	Области кодонов	Нуклеотид
Изониазид	промотор <i>inhA</i>	Н/П (NA)	от -1 до -32 интергенный
	<i>katG</i>	311-319	939-957
	<i>fabG1</i>	199-210	597-630
	<i>oxyR- ahpC</i> интергенный регион	Н/П (NA)	от -5 до -50 интергенный (или от -47 до -92) ^{12,13}
Этионамид	промотор <i>inhA</i> ^а	Н/П (NA)	от -1 до -32 интергенный
Фторхинолоны	<i>gyrA</i>	87-95	261-285
	<i>gyrB</i>	531-544 (или 493-505) ^{12,14}	1596-1632

Таблица 3. Определяемые и учитываемые регионы определяющие лекарственную устойчивость

Препарат	Целевой ген	Области кодонов	Нуклеотид
Амикацин, Канамицин, Капреомицин	<i>rrs</i>	Н/П (NA)	1396-1417
	промотор <i>eis</i>	Н/П (NA)	от -6 до -42 интергенный

а. Отсутствие мутаций в промоторной области гена *inhA* не исключает устойчивости к этионамиду (ETH). Было установлено, что мутации, обеспечивающие устойчивость к ETH, присутствуют в геномных областях, не охваченных тестом Xpert MTB/XDR.¹⁵

В Таблица 4 приведены примеры возможных результатов и соответствующая интерпретация. На рисунках от Рисунок 7 до Рисунок 15 приведены примеры возможных результатов теста Xpert MTB/XDR.

Таблица 4. Примеры результатов теста Xpert MTB/XDR и их интерпретации

Результат	Интерпретация
MTB ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED) INH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (INH Resistance NOT DETECTED) FLQ Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (FLQ Resistance NOT DETECTED) AMK Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (AMK Resistance NOT DETECTED) KAN Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (KAN Resistance NOT DETECTED) CAP Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (CAP Resistance NOT DETECTED) ETH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (ETH Resistance NOT DETECTED)	В образце присутствует целевая последовательность MTB: <ul style="list-style-type: none"> Мутации, несущие устойчивость к INH, FLQs, AMK, KAN, CAP или ETH, не обнаружены. SPC: Н/П (NA) (неприменимо). Сигнал SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации MTB с этим контролем. Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
MTB ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED) INH Resistance ОБНАРУЖЕН (INH Resistance DETECTED) FLQ Resistance ОБНАРУЖЕН (FLQ Resistance DETECTED) AMK Resistance ОБНАРУЖЕН (AMK Resistance DETECTED) KAN Resistance ОБНАРУЖЕН (KAN Resistance DETECTED) CAP Resistance ОБНАРУЖЕН (CAP Resistance DETECTED) ETH Resistance ОБНАРУЖЕН (ETH Resistance DETECTED)	В образце присутствует целевая последовательность MTB: <ul style="list-style-type: none"> Мутации, несущие устойчивость к INH, обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: <i>katG</i>, <i>fabG1</i>, интергенный регион <i>oxyR-ahpC</i> и промотор <i>inhA</i> Мутации, несущие устойчивость к FLQ, обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: Регионы, определяющие устойчивость к хинолонам (QRDR) <i>gyrA</i> и <i>gyrB</i> Мутации, несущие устойчивость к AMK, обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: ген <i>rrs</i> и промотор <i>eis</i> Мутации, несущие устойчивость к KAN, обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: ген <i>rrs</i> и промотор <i>eis</i> Мутации, несущие устойчивость к CAP, обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: ген <i>rrs</i> Мутации, несущие устойчивость к ETH, обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: промотор <i>inhA</i> SPC: Н/П (N/A) (неприменимо). Сигнал SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации MTB с этим контролем. Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.

Таблица 4. Примеры результатов теста Xpert MTB/XDR и их интерпретации (Продолжение)

Результат	Интерпретация
MTB ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED) INH Resistance ОБНАРУЖЕН (INH Resistance DETECTED) FLQ Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (FLQ Resistance NOT DETECTED) AMK Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (AMK Resistance NOT DETECTED) KAN Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (KAN Resistance NOT DETECTED) CAP Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (CAP Resistance NOT DETECTED) ETH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (ETH Resistance NOT DETECTED)	<p>В образце присутствует целевая последовательность MTB:</p> <ul style="list-style-type: none"> Мутации, несущие устойчивость к FLQ, AMK, KAN, CAP и ETH, не обнаружены. Мутации, несущие устойчивость к INH, обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: промотор <i>inhA</i>, <i>katG</i>, <i>fabG1</i> и интергенный регион <i>oxyR-ahpC</i> SPC: Н/П (N/A) (неприменимо). Сигнал SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации MTB с этим контролем. Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
MTB ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED) INH Resistance ОБНАРУЖЕН (INH Resistance DETECTED) FLQ Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (FLQ Resistance INDETERMINATE) AMK Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (AMK Resistance NOT DETECTED) KAN Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (KAN Resistance NOT DETECTED) CAP Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (CAP Resistance NOT DETECTED) ETH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (ETH Resistance NOT DETECTED)	<p>В образце присутствует целевая последовательность MTB:</p> <ul style="list-style-type: none"> Мутации, несущие устойчивость к AMK, KAN, CAP и ETH, не обнаружены. Мутации, несущие устойчивость к INH, обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: промотор <i>inhA</i>, <i>katG</i>, <i>fabG1</i> и интергенный регион <i>oxyR-ahpC</i> Мутации, несущие устойчивость к FLQ, не могли быть определены из-за обнаружения только WT Tm от одного или нескольких зондов и отсутствия Tm от одного или нескольких зондов, нацеленных на один или несколько из следующих генов: <i>gyrA</i> или <i>gyrB</i>. <<ИЛИ>> отсутствия Tm от одного или нескольких зондов, нацеленных на гены <i>gyrA</i> и <i>gyrB</i>. SPC: Н/П (N/A) (неприменимо). Сигнал SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации MTB с этим контролем. Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
MTB ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED) Low INH Resistance ОБНАРУЖЕН (Low INH Resistance DETECTED) FLQ Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (FLQ Resistance NOT DETECTED) AMK Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (AMK Resistance NOT DETECTED) KAN Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (KAN Resistance NOT DETECTED) CAP Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (CAP Resistance NOT DETECTED) ETH Resistance ОБНАРУЖЕН (ETH Resistance DETECTED)	<p>В образце присутствует целевая последовательность MTB:</p> <ul style="list-style-type: none"> Мутации, несущие устойчивость к FLQ, AMK, KAN и CAP, не обнаружены. Мутации, ведущие к низкой устойчивости к INH, обнаружены в промоторном регионе <i>inhA</i> Мутации, несущие устойчивость к ETH, обнаружены в промоторном регионе <i>inhA</i> SPC: Н/П (N/A) (неприменимо). Сигнал SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации MTB с данным контролем. Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.

Таблица 4. Примеры результатов теста Xpert MTB/XDR и их интерпретации (Продолжение)

Результат	Интерпретация
MTB ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED) INH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (INH Resistance NOT DETECTED) Low FLQ Resistance ОБНАРУЖЕН (Low FLQ Resistance DETECTED) AMK Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (AMK Resistance NOT DETECTED) KAN Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (KAN Resistance NOT DETECTED) CAP Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (CAP Resistance NOT DETECTED) ETH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (ETH Resistance NOT DETECTED)	<p>Целевая последовательность MTB присутствует в образце; обнаружена низкая устойчивость к FLQ:</p> <ul style="list-style-type: none"> Мутации, несущие устойчивость к INH, AMK, KAN, CAP и ETH, не обнаружены. Мутации, несущие низкую устойчивость к FLQ, обнаружены в следующих генах: <i>gyrA</i> SPC: Н/П (N/A) (неприменимо). Сигнал SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации MTB с этим контролем. Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
MTB ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED) INH Resistance ОБНАРУЖЕН (INH Resistance DETECTED) FLQ Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (FLQ Resistance NOT DETECTED) AMK Resistance ОБНАРУЖЕН (AMK Resistance DETECTED) KAN Resistance ОБНАРУЖЕН (KAN Resistance DETECTED) CAP Resistance ОБНАРУЖЕН (CAP Resistance DETECTED) ETH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (ETH Resistance NOT DETECTED)	<p>В образце присутствует целевая последовательность MTB:</p> <ul style="list-style-type: none"> Мутации, несущие устойчивость к FLQ и ETH, не обнаружены. Мутации, несущие устойчивость к INH, обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: <i>katG</i>, <i>fabG1</i>, <i>oxyR-aphC</i> Мутации, несущие устойчивость к AMK, обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: ген <i>rrs</i>; промотор <i>eis</i> Мутации, несущие устойчивость к KAN, обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: ген <i>rrs</i>; промотор <i>eis</i> Мутации, несущие устойчивость к CAP, обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: ген <i>rrs</i> SPC: Н/П (N/A) (неприменимо). Сигнал SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации MTB с этим контролем. Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
MTB ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED) INH Resistance ОБНАРУЖЕН (INH Resistance DETECTED) Low FLQ Resistance ОБНАРУЖЕН (Low FLQ Resistance DETECTED) AMK Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (AMK Resistance NOT DETECTED) KAN Resistance ОБНАРУЖЕН (KAN Resistance DETECTED) CAP Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (CAP Resistance NOT DETECTED) ETH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (ETH Resistance NOT DETECTED)	<p>В образце присутствует целевая последовательность MTB:</p> <ul style="list-style-type: none"> Мутации, несущие устойчивость к AMK, CAP и ETH, не обнаружены. Мутации, несущие устойчивость к INH, обнаружены в одном или нескольких из следующих генов: <i>katG</i>, <i>fabG1</i>, интергенный регион <i>oxyR-ahpC</i> и промотор <i>inhA</i> Мутации, несущие низкую устойчивость к FLQ, обнаружены в следующих генах: <i>gyrA</i> Мутации, несущие устойчивость к KAN, обнаружены в промоторном регионе <i>eis</i> SPC: Н/П (N/A) (неприменимо). Сигнал SPC не требуется, поскольку возможна конкуренция амплификации MTB с этим контролем. Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
MTB НЕ ОБНАРУЖЕН (MTB NOT DETECTED)	<p>В образце не обнаружена целевая последовательность MTB:</p> <ul style="list-style-type: none"> SPC: ПРОЙДЕН (PASS). Результат для SPC соответствует критериям приемлемости. Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.

Таблица 4. Примеры результатов теста Xpert MTB/XDR и их интерпретации (Продолжение)

Результат	Интерпретация
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)	<p>Присутствие или отсутствие MTB в образце установить невозможно. Результат для SPC не соответствует критериям приемлемости, процесс обработки образца прошел ненадлежащим образом или ПЦР была ингибирована. Повторите анализ. См. раздел «Процедура повторного теста» этого документа.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MTB: НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID). Невозможно установить, присутствует или отсутствует в образце ДНК MTB. • SPC: НЕ ПРОЙДЕН (FAIL). Результат анализа на целевую последовательность MTB отрицательный, при этом порога цикла (Ct) SPC не находится в пределах диапазона валидности. • Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
ОШИБКА (ERROR)	<p>Присутствие или отсутствие MTB в образце установить невозможно. Повторите анализ. См. раздел «Процедура повторного теста» этого документа.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MTB: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) • SPC: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) • Контроль зондов: НЕ ПРОЙДЕН (FAIL). Все или одна из проверок в рамках контроля качества зондов не пройдены(-а). <p>Примечание: Если контроль зондов пройден, ошибка может быть связана со сбоем компонента системы, ошибкой оператора или проблемой целостности картриджа.</p>
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	<p>Присутствие или отсутствие MTB в образце установить невозможно. Повторите анализ. См. раздел «Процедура повторного теста» этого документа. Сообщение НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если лаборант прервал текущий процесс анализа.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MTB: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) • SPC: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) • Контроль зондов: Н/П (NA) (неприменимо)

Примечание

На следующих рисунках приведены репрезентативные результаты, включая вкладку пика плавления (melt peak), которые могут возникнуть при выполнении теста Xpert MTB/XDR на экране подробного просмотра GeneXpert Dx. Показаны не все возможные комбинации результатов.

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название теста	MTB-XDR	Версия 3				
Результат	MTB ОБНАРУЖЕН; INH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; FLQ Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; AMK Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; KAN Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; CAP Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; ETH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН					
Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название аналита	Температура Пика Плавления		Высота Пика Плавления			
inhA-melt	76,3		292,5			
katG-melt	73,8		107,0			
fabG1-melt	71,5		242,0			
ahpC-melt	68,7		41,3			
gyrA1-melt	76,2		73,9			
gyrA2-melt	70,4		75,8			
gyrA3-melt	71,0		129,8			
gyrB2-melt	69,5		77,8			
rrs-melt	75,0		188,7			
eis-melt	68,5		145,3			
inhA-mut melt						
katG-mut melt						
fabG1-mut melt						
ahpC-mut melt						
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt						
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt						
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt						
gyrA3-mutC melt						
gyrB2-mut melt						
rrs-mut melt						
eis-mutA melt						
eis-mutB melt						

Рисунок 7. MTB ОБНАРУЖЕН; INH, FLQ, AMK, KAN, CAP, и ETH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН

Результат	Результат по анализу	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название теста	MTB-XDR	Версия 3				
Результат	MTB ОБНАРУЖЕН; INH Resistance ОБНАРУЖЕН; FLQ Resistance ОБНАРУЖЕН; AMK Resistance ОБНАРУЖЕН; KAN Resistance ОБНАРУЖЕН; CAP Resistance ОБНАРУЖЕН; ETH Resistance ОБНАРУЖЕН					
Название аналита	Температура Пика Плавления	Высота Пика Плавления				
inhA-melt						
katG-melt						
fabG1-melt						
ahpC-melt						
gyrA1-melt	76,1	90,0				
gyrA2-melt	69,6	39,7				
gyrA3-melt						
gyrB2-melt						
rrs-melt						
eis-melt						
inhA-mut melt	70,9	259,6				
katG-mut melt	68,4	214,0				
fabG1-mut melt	75,9	181,1				
ahpC-mut melt	66,2	68,2				
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt						
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt						
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt	76,0	125,0				
gyrA3-mutC melt						
gyrB2-mut melt	66,0	103,2				
rrs-mut melt	71,0	125,7				
eis-mutA melt	71,4	163,9				
eis-mutB melt						

Рисунок 8. MTB ОБНАРУЖЕН; INH, FLQ, AMK, KAN, CAP, и ETH Resistance ОБНАРУЖЕН

Результат	Результат по анализу	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название теста	MTB-XDR	Версия 3				
Результат	MTB ОБНАРУЖЕН; INH Resistance ОБНАРУЖЕН; FLQ Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; AMK Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; KAN Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; CAP Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН; ETH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН					
Результат	Результат по анализу	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название аналита	Температура Пика Плавления	Высота Пика Плавления				
inhA-melt	76,6	284,9				
katG-melt	74,0	105,2				
fabG1-melt						
ahpC-melt	69,0	35,4				
gyrA1-melt	76,6	65,2				
gyrA2-melt	70,4	64,9				
gyrA3-melt	71,4	92,2				
gyrB2-melt	69,7	84,7				
rrs-melt	75,3	146,8				
eis-melt	68,7	124,2				
inhA-mut melt						
katG-mut melt						
fabG1-mut melt	75,9	178,0				
ahpC-mut melt						
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt						
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt						
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt						
gyrA3-mutC melt						
gyrB2-mut melt						
rrs-mut melt						
eis-mutA melt						
eis-mutB melt						

Рисунок 9. MTB ОБНАРУЖЕН; INH Resistance ОБНАРУЖЕН

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название теста	MTB-XDR	Версия 4				
Результат	<div> <div>MTB ОБНАРУЖЕН;</div> <div>INH Resistance ОБНАРУЖЕН;</div> <div>FLQ Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН;</div> <div>AMK Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ;</div> <div>KAN Resistance ОБНАРУЖЕН;</div> <div>CAP Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ;</div> <div>ETH Resistance ОБНАРУЖЕН</div> </div>					
Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название аналита	Температура Пика Плавления	Высота Пика Плавления				
inhA-melt						
katG-melt						
fabG1-melt	71,5	254,6				
ahpC-melt	68,7	49,4				
gyrA1-melt	76,3	62,9				
gyrA2-melt	70,2	59,8				
gyrA3-melt	71,5	56,5				
gyrB2-melt	69,4	74,8				
rrs-melt						
eis-melt						
inhA-mut melt	70,9	277,7				
katG-mut melt	68,2	157,7				
fabG1-mut melt						
ahpC-mut melt						
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt						
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt						
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt						
gyrA3-mutC melt						
gyrB2-mut melt						
rrs-mut melt						
eis-mutA melt						
eis-mutB melt	62,6	46,5				

Рисунок 10. МТВ ОБНАРУЖЕН; INH и KAN Resistance ОБНАРУЖЕН; AMK и CAP НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название теста	MTB-XDR	Версия 3				
Результат	<div> <div>MTB ОБНАРУЖЕН;</div> <div>INH Resistance ОБНАРУЖЕН;</div> <div>Low FLQ Resistance ОБНАРУЖЕН;</div> <div>AMK Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН;</div> <div>KAN Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН;</div> <div>CAP Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН;</div> <div>ETH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН</div> </div>					
Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название аналита	Температура Пика Плавления		Высота Пика Плавления			
inhA-melt	76,5		313,1			
katG-melt						
fabG1-melt	71,7		211,5			
ahpC-melt	69,0		47,2			
gyrA1-melt						
gyrA2-melt						
gyrA3-melt						
gyrB2-melt	69,6		81,1			
rrs-melt	75,2		248,1			
eis-melt	68,8		158,2			
inhA-mut melt						
katG-mut melt	68,4		184,6			
fabG1-mut melt						
ahpC-mut melt						
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt	72,3		125,0			
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt	76,0		207,9			
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt	76,5		128,0			
gyrA3-mutC melt						
gyrB2-mut melt						
rrs-mut melt						
eis-mutA melt						
eis-mutB melt						

Рисунок 11. MTB ОБНАРУЖЕН; INH и Low FLQ Resistance ОБНАРУЖЕН

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название теста	MTB-XDR	Версия 3				
Результат	<div> <div>MTB ОБНАРУЖЕН;</div> <div>INH Resistance ОБНАРУЖЕН;</div> <div>FLQ Resistance ОБНАРУЖЕН;</div> <div>AMK Resistance ОБНАРУЖЕН;</div> <div>KAN Resistance ОБНАРУЖЕН;</div> <div>CAP Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН;</div> <div>ETH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН</div> </div>					
Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название аналита	Температура Пика Плавнения		Высота Пика Плавнения			
inhA-melt	76,6		278,9			
katG-melt						
fabG1-melt	71,7		226,6			
ahpC-melt	69,0		42,9			
gyrA1-melt						
gyrA2-melt						
gyrA3-melt						
gyrB2-melt	69,8		68,7			
rrs-melt	75,3		198,7			
eis-melt						
inhA-mut melt						
katG-mut melt	68,5		204,1			
fabG1-mut melt						
ahpC-mut melt						
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt	72,9		88,0			
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt						
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt						
gyrA3-mutC melt	69,1		113,4			
gyrB2-mut melt						
rrs-mut melt						
eis-mutA melt	71,6		183,4			
eis-mutB melt						

Рисунок 12. MTB ОБНАРУЖЕН; INH, FLQ, AMK и KAN Resistance ОБНАРУЖЕН

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название теста	MTB-XDR	Версия 3				
Результат	MTB НЕ ОБНАРУЖЕН					

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
	Название аналита		Температура Пика Плавления		Высота Пика Плавления	
	inhA-melt					
	katG-melt					
	fabG1-melt					
	ahpC-melt					
	gyrA1-melt					
	gyrA2-melt					
	gyrA3-melt					
	gyrB2-melt					
	rrs-melt					
	eis-melt					
	inhA-mut melt					
	katG-mut melt					
	fabG1-mut melt					
	ahpC-mut melt					
	gyrA1-mutA melt					
	gyrA1-mutB melt					
	gyrA1-mutC melt					
	gyrA2-mutA melt					
	gyrA2-mutB melt					
	gyrA3-mutA melt					
	gyrA3-mutB melt					
	gyrA3-mutC melt					
	gyrB2-mut melt					
	rrs-mut melt					
	eis-mutA melt					
	eis-mutB melt					

Рисунок 13. MTB НЕ ОБНАРУЖЕН

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название теста	MTB-XDR					
	Версия 3					
Результат	НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ					

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название аналита		Температура Пика Плавления		Высота Пика Плавления		
inhA-melt		76,8		102,1		
katG-melt						
fabG1-melt		71,7		53,1		
ahpC-melt		69,1		34,9		
gyrA1-melt		76,6		71,4		
gyrA2-melt						
gyrA3-melt		71,5		40,7		
gyrB2-melt		70,2		38,9		
rrs-melt						
eis-melt		68,6		109,4		
inhA-mut melt						
katG-mut melt		68,5		49,4		
fabG1-mut melt						
ahpC-mut melt						
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt						
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt						
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt						
gyrA3-mutC melt						
gyrB2-mut melt						
rrs-mut melt						
eis-mutA melt						
eis-mutB melt						

Рисунок 14. НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название теста		MTB-XDR				
Версия		3				
Результат	ОШИБКА					

Результат	Результат по аналиту	Опытный	Пики плавления	Ошибки	История	Поддержка
Название аналита	Температура Пика Плавления	Высота Пика Плавления				
inhA-melt						
katG-melt						
fabG1-melt						
ahpC-melt						
gyrA1-melt						
gyrA2-melt						
gyrA3-melt						
gyrB2-melt						
rrs-melt						
eis-melt						
inhA-mut melt						
katG-mut melt						
fabG1-mut melt						
ahpC-mut melt						
gyrA1-mutA melt						
gyrA1-mutB melt						
gyrA1-mutC melt						
gyrA2-mutA melt						
gyrA2-mutB melt						
gyrA3-mutA melt						
gyrA3-mutB melt						
gyrA3-mutC melt						
gyrB2-mut melt						
rrs-mut melt						
eis-mutA melt						
eis-mutB melt						

Рисунок 15. ОШИБКА

16 Повторное выполнение теста

16.1 Причины повторного выполнения теста

При получении любого из показанных ниже результатов анализа повторите тест в соответствии с указаниями, изложенными в Раздел 16.2, Процедура повторного теста.

- Результат **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** указывает, что не пройдены проверки SPC. Процесс обработки образца прошел ненадлежащим образом, ПЦР была ингибирована или не соблюдались правила взятия образца.
- Результат **ОШИБКА (ERROR)** мог быть обусловлен, помимо прочего, непрохождением РСС или превышением пределов максимального давления.
- Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Например, если оператор прервал выполняющийся процесс анализа или произошел перебой в подаче электроэнергии.
- Результат **НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (INDETERMINATE)** указывает, что устойчивость к данному препарату не могла быть определена на основании алгоритма теста (дополнительные разъяснения даны в разделе «Ограничения»). Повторный тест с другим образцом может дать или не дать другой результат.

16.2 Процедура повторного теста

Повторите тест с новым картриджем (не используйте картридж повторно). При наличии остатка мокроты (требуется не менее 1,0 мл) или восстановленного осадка (требуется не менее 0,5 мл) всегда следует использовать новый реактив для образцов с целью деконтаминации и разжижения мокроты перед выполнением теста. Выполняйте инструкции по подготовке образцов в соответствии с Раздел 12.1, Процедура с необработанной мокротой или Раздел 12.2, Процедура с использованием деконтаминированного концентрированного осадка мокроты.

Если имеется достаточное количество обработанного SR образца, который хранился не более 2,5 ч при 35 °C или не более 4 ч при 2–8 °C после первого добавления SR к образцу, остаток обработанного SR образца можно исследовать в новом картридже. В случае повторения теста всегда используйте новый картридж и начинайте тест в течение 30 мин после внесения обработанного образца в картридж. См. Раздел 12.3, Подготовка картриджа.

17 Ограничения

- Функциональные характеристики теста Xpert MTB/XDR прошли валидацию только с использованием процедур, описанных в данном листке-вкладыше. Изменения процедуры теста на ШЛУ следует интерпретировать с учетом других лабораторных и клинических данных, имеющихся у врача.
- Рабочие характеристики теста Xpert MTB/XDR зависят от профессиональных навыков оператора и соблюдения процедур выполнения теста. Ошибки при выполнении теста могут приводить к получению ложноположительных или ложноотрицательных результатов. Все операторы, работающие с устройством, должны пройти надлежащее обучение работе с устройством и выполнению теста.
- Так как обнаружение ДНК комплекса МТВ зависит от количества присутствующих в образце микроорганизмов, достоверность результатов зависит от правильности сбора образца, обращения с ним и его хранения. Ошибочные результаты анализа могут быть связаны с неправильным сбором образца, несоблюдением рекомендованной процедуры сбора образцов, инструкций по обращению и хранению, технической ошибкой, перемешиванием образцов или недостаточной концентрацией исходного материала. Чтобы избежать получения ошибочных результатов необходимо тщательно соблюдать инструкции, представленные в данном листке-вкладыше.
- Предшествующая или сопутствующая антибиотикотерапия может повлиять на результаты анализа. При помощи этого теста нельзя оценивать успех или неэффективность лечения, так как ДНК может сохраниться после завершения противотуберкулезной терапии.
- Положительный результат теста не свидетельствует однозначно о присутствии жизнеспособных микроорганизмов. Однако он указывает на наличие ДНК комплекса МТВ с мутациями, ведущими к устойчивости к INH, FLQ, AMK, KAN, CAP и ETH.
- Мутации или полиморфизм в участках связывания праймера или зонда могут повлиять на возможность обнаружения новых или неизвестных штаммов ШЛУ-МТВ и привести к получению результата, указывающего на чувствительность к препарату.
- Тест Xpert MTB/XDR не может подтвердить наличие чувствительности к INH, FLQ, AMK, KAN, CAP и ETH, так как могут существовать другие механизмы устойчивости, отличающиеся от обнаруживаемых данным тестом и сопровождающиеся недостаточным клиническим ответом на лечение.
- Использование для теста Xpert MTB/XDR крови, спинномозговой жидкости (СМЖ), желудочного аспирата, кала, тканей и мочи не оценивалось.
- Несмотря на то, что образцы индуцированной мокроты не были включены в оценку клинической эффективности теста Xpert MTB/XDR, изотонические или гипертонические растворы, бронходилататоры и ингаляционные бронходилататоры, обычно применяемые для сбора индуцированной мокроты, были исследованы и не влияли на результаты теста. Индукция физиологическим раствором может привести к недостаточному числу выделенных микроорганизмов и может повлиять на обнаружение *M. tuberculosis*.
- Концентрированные осадки мочи, использованные при оценке рабочих характеристик теста Xpert MTB/XDR, были приготовлены методом NALC-NaOH, описанным Kent and Kubica¹¹. Применение других методов приготовления осадка может изменить рабочие характеристики этого теста.
- Отрицательный результат теста не исключает возможности изоляции ДНК комплекса МТВ из образца мокроты. Тесты Xpert MTB/XDR можно использовать в сочетании с микобактериальной культурой во избежание риска получения ложноотрицательных результатов и для выделения микроорганизмов в случае присутствия комплекса МТВ для их дальнейшего определения и исследования чувствительности к лекарственным препаратам.
- Образцы с результатом «МТВ следы ОБНАРУЖЕН (MTB Trace DETECTED)» в тесте Xpert MTB/RIF Ultra будут, вероятно, ниже порога обнаружения теста МТВ/XDR, и не рекомендуется их применять в тесте Xpert MTB/XDR.

- Принцип теста Xpert MTB/XDR не различает виды комплекса MTB (например, *MTB*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. caprae*, *M. pinnipedi*, *M. mungi* и *M. orygis*). Кроме того, следует вырастить культуру для выяснения, присутствует ли штамм NTM в дополнение к комплексу MTB.
- В литературе описана более низкая чувствительность у детей из-за распространенности инфекции MTB по легким пациентов этой группы и трудностей получения достаточных образцов^{16,17}.
- Обученные медицинские работники должны интерпретировать результаты теста в сочетании с анамнезом пациента, клиническими признаками и симптомами, а также результатами других диагностических тестов.
- Сочетанная инфекция MTB и *M. marinum* может привести к результатам «НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (INDETERMINATE)» в отношении FLQ при $>10^4$ КОЕ/мл или *M. marinum* в присутствии MTB в количестве не более 408 КОЕ/мл.
- В редких случаях праймеры *rrs* и зонды могут давать перекрестные реакции с присутствующими в окружающей среде микроорганизмами или микрофлорой мокроты, что может привести к результатам «НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (INDETERMINATE)» в отношении AMK, KAN и CAP.
- Тест Xpert MTB/XDR определяет устойчивость к ETH, связанную только с мутациями в промоторном регионе гена *inhA*. Отсутствие мутаций в промоторной области гена *inhA* не исключает устойчивости к этионамиду (ETH). Было установлено, что мутации, обеспечивающие устойчивость к ETH, присутствуют в геномных областях, не охваченных тестом Xpert MTB/XDR¹⁵.
- Связь мутаций генов *oxyR-ahpC* и *gyrB* с устойчивостью к INH и FLQ соответственно не была достоверно установлена; однако опубликованные исследования сообщили, что эти мутации обнаружены в штаммах, устойчивых к INH и FLQ^{18,19}.
- Наличие делеций или редких мутаций в любом из целевых генов может привести к результату «НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (INDETERMINATE)» в отношении конкретного препарата.
- Если в образце присутствует смешанная популяция чувствительных и устойчивых штаммов, существует вероятность того, что тест Xpert MTB/XDR не обнаружит мутацию при наличии устойчивой популяции в количестве, недостаточном для обнаружения в этом тесте.
- В образцах с очень низкой бактериальной нагрузкой или смесью чувствительных и устойчивых штаммов тест Xpert MTB/XDR может не дать надежных результатов для различения высокой и низкой устойчивости к FLQ.

18 Клинические функциональные характеристики

Было проведено слепое клиническое исследование для оценки эффективности Xpert MTB/XDR теста относительно микробиологических и молекулярных эталонных методов, то есть тестирование и секвенирование фенотипической лекарственной чувствительности (фТЛЧ) для выявления лекарственной устойчивости к INH (изониазид), ETH (этионамид), FLQ (фторхинолон) и SLID (инъекционные препараты второй линии: AMK (амикацин), KAN (канамицин) и CAP (капреомицин)). Кроме того, клиническую эффективность Xpert MTB/XDR теста для обнаружения МБТ сравнивали с тестом Xpert MTB/RIF или тестом Xpert MTB/RIF Ultra. В двух исследовательских центрах с известной высокой распространенностью МЛУ-ТБ и ШЛУ-ТБ были получены замороженные архивные необработанные образцы мокроты или концентрированного осадка мокроты, о которых известно, что они являются положительными или отрицательными по посеву МБТ.

Таблица 5 представлены данные по чувствительности и специфичности Xpert MTB/XDR теста для лекарственной устойчивости относительно фТЛЧ. Чувствительность составляла $>90\%$ для INH, FLQ и AMK, $>85\%$ для KAN и CAP и $>64\%$ для ETH; показатель специфичности составлял $>98\%$ для всех лекарственных препаратов.

Таблица 5. Xpert MTB/XDR Тестирование по сравнению с фТЛЧ для определения лекарственной устойчивости

Лекарственные препараты	Отриц.	ИП	ЛО	ИО	ЛП	Чувствительность (%)	95 % ДИ	Специфичность (%)	95 % ДИ
INH	478	244	23	209	2	91,4	87,4–94,2	99,1	96,6–99,7
FLQ	417	148	11	254	4	93,1	88,0–96,1	98,5	96,1–99,4
AMK	405	79	7	317	2	91,9	84,1–96,0	99,4	97,7–99,8
KAN	343	58	8	276	1	87,9	77,9–93,7	99,6	98,0–99,9
CAP	167	21	4	142	0	84,0	65,3–93,6	100,0	97,4–100,0
ETH	230	75	41	112	2	64,7	55,6–72,8	98,3	93,8–99,5

Таблица 6 представлены данные по чувствительности и специфичности Xpert MTB/XDR теста для лекарственной устойчивости относительно секвенирования. Чувствительность составляла >93 % для FLQ (фторхинолон) и более 96 % для INH (изониазид), АМК (амикацин), KAN (канамицин), CAP (капреомицин) и ETH (этионамид); специфичность составляла 100,0 % для всех лекарств, перечисленных в таблице, кроме INH, для этого параметр был равен 98,7 %.

Таблица 6. Xpert MTB/XDR Тестирование по сравнению с секвенированием для определения лекарственной устойчивости

Препарат	Отриц.	ИП	ЛО	ИО	ЛП	Чувствительность (%)	95 % ДИ	Специфичность (%)	95 % ДИ
INH	471	241	3	224	3	98,8	96,5–99,6	98,7	96,2–99,5
FLQ	469	152	11	306	0	93,3	88,3–96,2	100,0	98,8–100,0
АМК	463	81	3	379	0	96,4	90,0–98,8	100,0	99,0–100,0
KAN	463	88	3	372	0	96,7	90,8–98,9	100,0	99,0–100,0
CAP	463	78	3	382	0	96,3	89,7–98,7	100,0	99,0–100,0
ETH	473	104	3	366	0	97,2	92,1–99,0	100,0	99,0–100,0

Таблица 7 представлены положительная согласованность параметров (PPA) и отрицательная согласованность параметров (NPA) теста Xpert MTB/XDR относительно теста Xpert MTB/RIF для обнаружения МБТ, которые составляют 98,9 % и 93,8 % соответственно.

Таблица 7. Xpert MTB/XDR Тестирование по сравнению с тестом Xpert MTB/RIF для обнаружения МБТ

		Xpert MTB/RIF Тест		
		МБТ обнаружена (MTB detected)	МБТ не обнаружена (MTB not detected)	Всего
Xpert MTB/XDR Тест	МБТ обнаружена (MTB detected)	273	2a	275
	МБТ не обнаружена (MTB not detected)	3b	30	33
	Всего	276	32	308
PPA		98,9 % (95 % ДИ: 96,9–99,6)		
NPA		93,8 % (95 % ДИ: 79,9–98,3)		

Таблица 8 представлены значения PPA и NPA для Xpert MTB/XDR тестирования относительно теста Xpert MTB/RIF Ultra для обнаружения МБТ, которые составляют 99,5 % и 100,0 % соответственно.

Таблица 8. Xpert MTB/XDR Тестирование по сравнению с тестом Xpert MTB/RIF Ultra для обнаружения МБТ

		Xpert MTB/RIF Ultra Тест		
		МБТ обнаружена (MTB detected)	МБТ не обнаружена (MTB not detected)	Всего
Xpert MTB/XDR Тест	МБТ обнаружена (MTB detected)	207	0	207
	МБТ не обнаружена (MTB not detected)	1 ^a	14	15
	Всего	208	14	222
PPA		99,5 % (95 % ДИ: 97,3–99,9)		
NPA		100,0 % (95 % ДИ: 78,5–100,0)		

а. Результат для Xpert MTB/RIF Ultra: Обнаружены следы МБТ (MTB Detected Trace).

В 15 из выполненных 531 цикла тестов Xpert MTB/XDR в рамках этого исследования с первой попытки были получены неопределенные результаты («Ошибка (Error)», «Недействительный (Invalid)» или «Нет результата (No Result)»). При повторном тестировании этих 14 образцов один результат остался неопределенным. Первоначальный показатель неопределенных результатов составил 2,8 % (15 из 531), а общий показатель неопределенных результатов составил 0,2 % (1 из 531).

19 Аналитические функциональные характеристики

19.1 Аналитическая чувствительность (порог обнаружения)

Были проведены исследования для определения аналитического порога обнаружения (limit of detection, LoD) теста Xpert MTB/XDR с двумя партиями реактивов на протяжении трех дней исследований. Результат, положительный в отношении МТВ, основан на обнаружении одной единственной копии целевой последовательности *inhA*. Для верификации выбирали более высокий LoD, определенный для штамма и партии пробит-анализом. Верификацию утверждения об оценённом LoD выполняли с одной партией реактивов на протяжении не менее трех дней исследований. LoD был определен с применением репрезентативного образца комплекса МБТ — *Mycobacterium bovis* BCG (коровья туберкулезная палочка, бацилла Кальмета-Герена), добавленного в МБТ-отрицательную необработанную мокроту и в МБТ-отрицательный деконтаминированный/концентрированный осадок мокроты.

LoD определяли как наименьшую концентрацию (КОЕ/мл), которая может воспроизводимо отличаться от отрицательных образцов с вероятностью ≥ 95 %. Были исследованы 20 повторов при пяти — восьми концентрациях с двумя разными партиями реактивов на протяжении 3 дней, и LoD определяли методом пробит-анализа.

Для верификации выбирали более высокий LoD, определенный пробит-анализом для каждого типа образца и партии. Проверку утверждения об оценённом LoD выполняли с одной партией реактивов на протяжении не менее трех дней, и основанием для выводов было не менее 19 положительных повторов из 20. Точечные оценки LoD в КОЕ/мл даны в Таблица 9.

Таблица 9. Аналитическая чувствительность (порог обнаружения)

Тип образца	Точечная оценка LoD, КОЕ/мл
Необработанная мокрота	136
Осадок	86

19.2 Аналитическая специфичность (эксклюзивность)

Аналитическая специфичность теста Xpert MTB/XDR была оценена путем исследования панели из 57 микроорганизмов, в том числе 21 бактерии, 1 гриба, 7 вирусов и 28 нетуберкулезных микобактерий (NTM), являющихся распространенными возбудителями респираторных заболеваний, или возможно встречающихся в дыхательных путях и (или) флоре ротоглотки. Были исследованы три повторности каждого штамма бактерий и грибов в концентрациях $\geq 1 \times 10^6$ КОЕ/мл. Все вирусы были исследованы при $\geq 1 \times 10^5$ (дозы, инфицирующей 50 % культур ткани) TCID₅₀/мл. ДНК или РНК была исследована в 2 штаммах бактерий и 1 штамме грибов при концентрациях $\geq 10^6$ копий/мл, поскольку целые микроорганизмы были недоступны или их невозможно было исследовать в связи с ограничениями биологической безопасности. Три повтора каждого вируса были исследованы при концентрациях $\geq 1 \times 10^5$ TCID₅₀/мл. Аналитическая специфичность составила 100 %. Исследованные микроорганизмы перечислены в Таблица 10, Таблица 11 и Таблица 12. Ни один из исследованных микроорганизмов не имел перекрестных реакций с зондом обнаружения МТВ и получением результата «МТВ НЕ ОБНАРУЖЕН (MTB NOT DETECTED)» для всех микроорганизмов и всех исследованных повторах. В приведенной ниже таблице дан перечень микроорганизмов, исследованных для определения аналитической специфичности теста. Было выполнено аналитическое исследование *Aspergillus fumigatus*, и не было выявлено помехи или перекрестной реактивности. Не выявлена перекрестная реактивность с какими-либо другими видами грибов в анализе *in silico*.

Таблица 10. Аналитическая специфичность теста Xpert MTB/XDR (бактерии/грибы)

Микроорганизм
<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Chlamydomydia pneumoniae</i> ^a
<i>Citrobacter freundii</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Escherichia coli</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Moraxella catarrhalis</i>
<i>Neisseria meningitidis</i> ^a
<i>Neisseria mucosa</i>
<i>Nocardia asteroides</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>

Таблица 10. Аналитическая специфичность теста Хpert МТВ/XDR (бактерии/грибы)

Микроорганизм
Staphylococcus epidermidis
Stenotrophomonas maltophilia
Streptococcus agalactiae
Streptococcus mitis
Streptococcus mutans
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus pyogenes
Aspergillus fumigatus ^a

а. Геномная ДНК

Таблица 11. Аналитическая специфичность теста Хpert МТВ/XDR (вирусы)

Микроорганизм
Коронавирус 229Е
Метанеовирус человека (hMPV) 16 тип А1
Вирус парагриппа тип 1
Вирус парагриппа тип 2
Вирус парагриппа тип 3
Респираторно-синцитиальный вирус
Риновирус 1А

Таблица 12. Аналитическая специфичность теста Хpert МТВ/XDR (NTM)

Микроорганизм
Mycobacterium asiaticum
Mycobacterium avium NJH
Mycobacterium celatum
Mycobacterium chelonae
Mycobacterium flavescens
Mycobacterium fortuitum subsp. Fortuitum
Mycobacterium gastri
Mycobacterium gordonae
Mycobacterium gordonae
Mycobacterium gordonae
Mycobacterium genavense
Mycobacterium haemophilum
Mycobacterium malmoense
Mycobacterium marinum
Mycobacterium phlei
Mycobacterium scrofulaceum
Mycobacterium simiae
Mycobacterium szulgai
Mycobacterium terrae
Mycobacterium thermoresistibile
Mycobacterium triviale
Mycobacterium vaccae
Mycobacterium xenopi
Mycobacterium avium
Mycobacterium intracellulare
Mycobacterium abscessus

Таблица 12. Аналитическая специфичность теста Xpert MTB/XDR (NTM) (Продолжение)

Микроорганизм
Mycobacterium marinum
Mycobacterium kansasii

19.3 Аналитическая реактивность (инклюзивность)

Аналитическую реактивность (инклюзивность) теста Xpert MTB/XDR оценивали с применением филогенетически разнообразной панели, состоящей из лекарственно чувствительных и устойчивых штаммов MTB с целью оценки точности результатов определения чувствительности к препаратам в этом тесте. Панель из двадцати двух (22) штаммов комплекса MTB (MTBC)-включала восемь (8) лекарственно чувствительных штаммов с немутантными целевыми генами (Таблица 13) и четырнадцать (14) хорошо охарактеризованных лекарственно устойчивых штаммов (Таблица 14). Все штаммы были исследованы в трех повторах в концентрациях, равных или приближенных к 3 X LoD целевого промотора *inhA*. Число копий, исследованных в лизатах геномной ДНК, было основано на тесте связывания флуоресцентного красителя, специфичном для двухцепочечной ДНК (дцДНК).

Были исследованы штаммы с лекарственной чувствительностью, включая пять штаммов MTB (AR2, GD139, AH1, HR36, H37Rv) и три вида микобактерий комплекса MTB (*M. bovis*, *M. canetti* и *M. microti*). Выбор штаммов MTB был основан на необходимости широкого представления генетического разнообразия и включал по одному представителю каждого из основных филогенетических линий на основе определения групп SNP-кластеров (SCG)²⁰.

Четырнадцать лекарственно устойчивых штаммов MTB были исследованы с применением лизатов геномной ДНК из хорошо охарактеризованных образцов, которые содержат 16 клинически существенных канонических мутаций с не менее чем одним из каждого из восьми регионов, обнаруживаемых этим тестом. Эти мутации обычно присутствуют в штаммах MTB с множественной или широкой лекарственной устойчивостью во всем мире, за исключением мутации в гене *gyrB*.

В Таблица 13 сведены результаты исследования лекарственно чувствительных штаммов и показано количество правильных результатов определения каждого из исследуемых веществ в тесте. Все элементы панели дали результат «MTB ОБНАРУЖЕНА (MTB DETECTED); RESISTANCE НЕ ОБНАРУЖЕНА (RESISTANCE NOT DETECTED)». Тест Xpert MTB/XDR правильно идентифицировал все повторы штаммов, исследованных при уровнях, близких к порогу обнаружения, с результатами немутантного типа по всем зондам, кроме *oxyR-ahpC*. Поскольку целевая последовательность *oxyR-ahpC* имеет более высокий LoD, чем другие целевые последовательности в этом тесте, некоторые исследованные повторы не дали результатов Tm.

Приведенные в Таблица 14 результаты показывают, что этот тест также правильно идентифицировал ожидаемые мутации устойчивости у всех 14 штаммов, устойчивых к изониазиду, с мутациями в промоторе *inhA* promoter, *katG* и интергенном регионе *oxyR-ahpC*; устойчивых к инъекционным препаратам второй линии с мутациями *rrs* и промоторном регионе *eis*; а также устойчивых к FLQ с мутациями в *gyrA*.

Таблица 13. Аналитическая реактивность (инклюзивность) в отношении лекарственно устойчивых штаммов

Образец	Линия штамма	<i>inhA</i>	<i>katG</i>	<i>fabG1</i>	<i>ahpC^a</i>	<i>gyrA1</i>	<i>gyrA2</i>	<i>gyrA3</i>	<i>gyrB2</i>	<i>rrs</i>	<i>eis</i>
(<i>M. bovis</i> BCG)	1	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
<i>M. bovis</i>	1	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
MTB (AR2)	2	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
MTB (GD139)	3	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
MTB (AH1)	4	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
MTB (HR36)	5	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
MTB (H37Rv)	4	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
<i>M. canetti</i>	Не присвоена	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
<i>M. microti</i>	Не присвоена	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)

- а. LoD для *oxyR-ahpC* выше, чем для *inhA*, использованного для определения MTB-положительности. «ПРОЙДЕН (PASS)» означает, что исследованные повторы создавали Tm немутантного типа; «НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)» означает, что по крайней мере один или несколько повторов не давали значений Tm.

Таблица 14. Аналитическая реактивность (инклюзивность) в отношении лекарственно устойчивых штаммов (число положительных результатов/общее число исследованных)

Идентификатор штамма	Ген	Ожидаемая мутация	MTB обнаружен (MTB detected)	Обнаружена Tm мутантного зонда (число положительных результатов/общее число исследованных)	Правильные результаты «RESISTANCE ОБНАРУЖЕН (RESISTANCE DETECTED)» (число положительных результатов/общее число исследованных)
Клинический	gyrA	GAC 94 TAC	3 / 3	gyrA1-MutB (3/3), gyrA3-MutC (3/3)	FLQ [3/3]
	katG	AGC 315 ACC		katG Mut (3/3)	INH [3/3]
	fabG1	G609A		fabG1 Mut (3/3)	INH [3/3]
Клинический	gyrA	GGC 88 GCC, GCG 90 GTG, TCG 91 CCG	3 / 3	gyrA1-MutB (2/3), ^a gyrA1-MutC (2/3), gyrA2-MutA (3/3), gyrA3-MutB (1/3)	FLQ [3/3]
	katG	AGC 315 ACC		katG Mut (3/3)	INH [3/3]
	rrs	A1410G		rrs-Mut (3/3)	AMK, CAP, KAN [3/3]
Клинический	gyrA	GAC 94 GGC	3 / 3	gyrA3-MutB (3/3)	FLQ [3/3]
	katG	AGC 315 ACC		katG Mut (3/3)	INH [3/3]
	rrs	A1410G		rrs-Mut (3/3)	AMK, CAP, KAN [3/3]
14-14194	gyrA	GAC 94 GCC	3 / 3	gyrA1-MutA, gyrA2-MutA	FLQ [3/3]
	katG	AGC 315 ACC		katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	inhA	C -15 T		inhA-Mut (3/3)	INH, ETH [3/3]
15-14175	katG	AGC 315 ACC	3 / 3	katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	eis	-10G/A		eis-Mut (3/3)	AMK, KAN [3/3]
15-14191	katG	AGC 315 ACC	3 / 3	katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	eis	-10G/A		eis-Mut (3/3)	AMK, KAN [3/3]
16-05612	katG	AGC 315 ACC	3 / 3	katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	inhA	C -15 T		inhA-Mut (3/3)	INH, ETH [3/3]
	eis	-12C/T		eis-Mut (3/3)	AMK, KAN [3/3]
16-05613	katG	AGC 315 ACC	3 / 3	katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	inhA	C -15 T		inhA-Mut (3/3)	INH, ETH [3/3]
	eis	-12C/T		eis-Mut (3/3)	AMK, KAN [3/3]
14-13764	katG	AGC 315 ACC	3 / 3	katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	ahpC	-48G/A		ahpC-Mut (3/3)	INH [3/3]
14-13806	katG	AGC 315 ACC	3 / 3	katG-Mut (3/3)	INH [3/3]
	ahpC	-48G/A		ahpC-Mut (3/3)	INH [3/3]
Клинический	gyrA	GCG 90 GTG, GAC 94 GGC	3 / 3	gyrA3-MutB (3/3)	FLQ [3/3]
	inhA	C -15 T		inhA-Mut (3/3)	INH [3/3]
	ahpC	G-6A		ahpC (2/3) ^b	INH [3/3]
Клинический	katG	AGC 315 ACC	3 / 3	katG Mut (3/3)	INH [3/3]
Клинический	gyrB2	ACC 539 AAC	3 / 3	gyrB2 WT ^c	*Устойчивость не обнаружена [0/3]
	rrs	A1410G		rrs-Mut (3/3)	AMK, CAP, KAN [3/3]
	gyrA	GCG 90 GTG		gyrA1 MutB (3/3), gyrA2 MutA (3/3), gyrA3 MutB (3/3)	FLQ [3/3]
	ahpC	g -6 a		ahpC Mut (3/3)	INH [3/3]
	inhA	C -15 T		inhA Mut (3/3)	INH, ETH [3/3]

Таблица 14. Аналитическая реактивность (инклюзивность) в отношении лекарственно устойчивых штаммов (число положительных результатов/общее число исследованных) (Продолжение)

Идентификатор штамма	Ген	Ожидаемая мутация	MTB обнаружен (MTB detected)	Обнаружена Tm мутантного зонда (число положительных результатов/общее число исследованных)	Правильные результаты «RESISTANCE ОБНАРУЖЕН (RESISTANCE DETECTED)» (число положительных результатов/общее число исследованных)
Клинический	gyrA	TCG 91 CCG	3 / 3	gyrA1-MutB (3/3), gyrA2-MutA (3/3), gyrA3-MutC (3/3)	FLQ [3/3]
	inhA	C -15 T		inhA Mut (3/3)	INH, ETH [3/3]

- В этом образце, содержащем три разные мутации гена *gyrA*, все три зонда *gyrA* не выявляют температуру плавления (Tm), характерную для мутаций, на постоянной основе. Однако, чтобы определение устойчивости считалось успешным, по крайней мере один зонд должен обнаружить температуру плавления, характерную для мутации. Успешным обнаружением для всех повторов считается ситуация, когда при тестировании по крайней мере один зонд *gyrA* постоянно выявляет по крайней мере одну мутантную температуру плавления.
- Этот образец является двойным мутантом *katG/ahpC*. Повтор с пропущенной мутантной Tm *ahpC* был назван INH-R («устойчивый к изониазиду») из-за наличия мутации *katG*, которая была обнаружена данным тестом.
- Эта конкретная мутация не обнаруживается тестом. Однако имеются ограниченные клинические данные о том, что эта мутация может на самом деле способствовать устойчивости к FLQ (низкодостоверная мутация, несущая устойчивость к FLQ).

19.4 Изучение субстанций, препятствующих проведению анализа

Функциональные характеристики теста Xpert MTB/XDR изучали в присутствии 36 субстанций, которые могут присутствовать в мокроте и способны препятствовать проведению анализа. К числу субстанций, препятствующих проведению анализа, относятся эндогенные субстанции, которые могут присутствовать в мокроте, и экзогенные субстанции, которые могут быть внесены в образец. Изотонические или гипертонические растворы, бронходилататоры и ингаляционные бронходилататоры, обычно используемые для сбора индуцированной мокроты, были исследованы и не препятствовали проведению анализа. Индукция физиологическим раствором может привести к недостаточному числу выделенных микроорганизмов и может повлиять на обнаружение *M. tuberculosis*.

Исследованные вещества с указанием их активных компонентов и концентраций перечислены в Таблица 15. Отрицательные образцы (n = 8) анализировали для каждой субстанции с целью определения влияния на функциональные характеристики контроля обработки образца (Sample Processing Control, SPC). С каждой субстанцией были исследованы положительные образцы (n = 8) *Mycobacterium bovis*, *бацилла Кальмета—Герена (БЦЖ)* разбавленные до 3 х аналитического порога обнаружения положительных в отношении ТБ результатов. Все субстанции были исследованы в MTB-отрицательной объединенной порции мокроты, включенной в это исследование. Все положительные и отрицательные повторы были правильно идентифицированы тестом Xpert MTB/XDR, за исключением геля Zicam (50 % масса/объем; в 11,1 % исследованных повторов получен результат «MTB НЕ ОБНАРУЖЕН (MTB NOT DETECTED)»).

Таблица 15. Субстанции, потенциально препятствующие проведению теста Xpert MTB/XDR

Субстанция/класс	Описание/активный компонент	Концентрация, применявшаяся в анализе
Кровь (человеческая)	Кровь 5 % (по объему)	5 % по объему
Человеческая ДНК/клетки	Линия клеток HELA 229	10 ⁶ клеток в 1 мл
Лейкоциты (человека)	Лейкоциты/материал гноя (30 % лейкоцитарная пленка; 30 % плазма; 40 % фосфатный буферный раствор) [^]	100 % (по объему)
Противогрибковое средство, антибиотик	Нистатин 500 тысяч единиц (100 %)	20 % по объему
Бактерицидное средство для полоскания рта	Хлоргексидина глюконат (0,12 %) для полоскания рта, фармакопей США	20 % по объему
Реактивы для обработки образца	Цетилпиридина хлорид, 1 % в 2 % NaCl	0,5 % по объему в 1 % NaCl
Реактивы для обработки образца	Цетилпиридина хлорид, 1 % в 2 % NALC	0,5 % по объему в 1 % NALC
Реактивы для обработки образца	Цетилпиридина хлорид, 1 % в 2 % NALC и 25 мМ цитрата	0,5 % (по объему) в 1 % NALC с 12,5 мМ цитрата

Таблица 15. Субстанции, потенциально препятствующие проведению теста Xpert MTB/XDR (Продолжение)

Субстанция/класс	Описание/активный компонент	Концентрация, применявшаяся в анализе
Кислота желудочного сока	pH от 3 до 4, раствор в воде, нейтрализованный бикарбонатом натрия	100 % (по объему)
Анестетики (эндотрахеальная интубация)	Лидокаин HCl 4 %	4 % (по объему)
Растворы для распыления	NaCl 5 % вес/объем	5 % масса/объем
Муцин	Муцин 5 % вес/объем	5 % масса/объем
Антибактериальные средства, системные	Левифлоксацин 25 мг/мл	5 мг/мл
Интраназальные кортикостероиды	Флутиказон 500 мкг/спрей	5 мкг/мл
Ингаляционные бронхорасширяющие средства	Альбутерола сульфат (2 мг/5 мл)	100 мкг/мл
Анестетики для полости рта	Орагель (20 % бензокаина)	5 % масса/объем
Противовирусные препараты	Ацикловир	50 мкг/мл
Антибиотиковая интраназальная мазь	Неоспорин (400 ед. бацитрацина, 3,5 мг неомицина, 5000 ед. полимиксина В)	5 % масса/объем
Табак	Никогель (40 % экстракт табака)	0,5 %
Противотуберкулезные препараты	Стрептомицин 1 мг/мл	25 мкг/мл
Противотуберкулезные препараты	Этамбутол 1 мг/мл	50 мкг/мл
Противотуберкулезные препараты	Изониазид 50 мг/5 мл	50 мкг/мл
Отхаркивающие средства для перорального применения	Гуайфенезин (400 мг/таблетка)	5 мг/мл
Противотуберкулезные препараты	Пиразинамид (таблетки по 500 мг)	100 мкг/мл
Интраназальный гель (гомеопатический)	Гель Цикам	50 % вес/объем
		20 % (масса/объем)
Интраназальный спрей	Фенилэфрин 1 %	0,5 % (по объему)
Противотуберкулезные препараты	Рифампицин (таблетки по 300 мг)	25 мкг/мл
Средство для облегчения аллергии (гомеопатическое)	100 % чистое масло чайного дерева (<5 % цинеол, >35 % терпинен-4-01)	0,5 % (по объему)
Растворы для распыления	Пентамидина изотионат	300 нг/мл
Противотуберкулезные препараты	Амоксициллин	25 мкг/мл
Бронхорасширяющее средство	Адреналин	1 мг/мл
Противотуберкулезные препараты	Амикацин	70 мкг/мл
Противотуберкулезные препараты	Капреомицин	50 мкг/мл
Противотуберкулезные препараты	Канамидин	50 мкг/мл
Противотуберкулезные препараты	Этионамид	50 мкг/мл
FluMist Qual Nasal	Живая противогриппозная вакцина для назального применения	5 %

19.5 Исследование контаминации продуктами предыдущей реакции

Было проведено исследование для демонстрации отсутствия переноса и перекрестного загрязнения при использовании одноразовых автономных картриджей Xpert MTB/XDR. Это исследование состояло в обработке отрицательного образца немедленно после обработки в том же модуле GeneXpert высокой концентрации *Mycobacterium bovis* - *бациллы Кальмета—Герена* (БЦЖ) при $1 \times 10^{+6}$ КОЕ/мл в мокроте человека. Эту схему исследования повторяли не менее 20 раз в двух модулях GeneXpert, всего выполнен 41 анализ (20 положительных и 21 отрицательный результат).

Все 20 положительных образцов были правильно идентифицированы как **MTB ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED)**; **INH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (INH Resistance NOT DETECTED)**; **FLQ Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (FLQ Resistance NOT DETECTED)**; **AMK Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (AMK Resistance NOT DETECTED)**; **KAN Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (KAN Resistance NOT DETECTED)**; **CAP Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (CAP Resistance NOT DETECTED)**; **ETH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (ETH Resistance NOT DETECTED)**. Во всех отрицательных пробах (21) получен правильный результат **MTB НЕ ОБНАРУЖЕН (MTB NOT DETECTED)**. В условиях этого исследования не обнаружено никаких признаков перекрестной контаминации при исследовании крайне высокоположительного образца БЦЖ при концентрации $1,0 \times 10^{+6}$ КОЕ/мл.

19.6 Исследование конкурентной интерференции

Конкурентную интерференцию в этом тесте, обусловленную влиянием высоких концентраций нетуберкулезных микобактерий (NTM) на обнаружение низких уровней MTB в тесте Xpert MTB/XDR оценивали путем исследования репрезентативного представителя комплекса MTB. БЦЖ при концентрации $\sim 3 \times \text{LoD}$ (411 КОЕ/мл) в присутствии различных штаммов NTM в концентрации $1 \times 10^{+6}$ КОЕ/мл в отрицательном контрольном буферном растворе. Положительный в отношении MTB результат регистрировали на основании действительной высоты пика плавления промотера *inhA* и температуры пика плавления. Устойчивость регистрировали на основании действительной высоты пика плавления и температуры пика плавления для отдельных анализируемых последовательностей (*inhA*, *katG*, *gyrA1*, *gyrA2*, *gyrA3*, *gyrB2* и *eis*). Анализируемые последовательности *oxyR-ahpC* и *fabG1* были исключены из-за более низкой чувствительности и *rrs* была исключена из-за известной интерференции с микрофлорой. Все образцы, содержащие БЦЖ, должны иметь результаты **MTB ОБНАРУЖЕН (MTB DETECTED)**; **INH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (INH Resistance NOT DETECTED)**; **FLQ Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (FLQ Resistance NOT DETECTED)**; **AMK Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (AMK Resistance NOT DETECTED)**; **KAN Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (KAN Resistance NOT DETECTED)**; **CAP Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (CAP Resistance NOT DETECTED)**; **ETH Resistance НЕ ОБНАРУЖЕН (ETH Resistance NOT DETECTED)**.

Были исследованы по четыре повтора каждого условия теста со смесью NTM/ БЦЖ, а также положительный контроль, содержащий только БЦЖ при $\sim 3 \times \text{LoD}$. Ни один из исследованных штаммов NTM не препятствовал обнаружению 411 КОЕ/мл БЦЖ, и были получены указанные выше правильные результаты. Однако в условиях этого исследования конкурентное подавление было обнаружено в присутствии только одного из двух исследованных штаммов *M. marinum* (ATCC 0927). Интерференция с зондами *gyrA2* была обнаружена только при испытательных концентрациях $>10^4$ КОЕ/мл, что приводило к результату «FLQ Resistance НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (FLQ Resistance INDETERMINATE)» при этих высоких испытательных концентрациях. Дополнительная информация содержится в разделе Раздел 17, Ограничения.

Таблица 16. Конкурентное влияние NTM на обнаружение MTB и определение чувствительности к препаратам

Условия теста / идентификатор штамма NTM	NTM КОЕ/мл	MTB обнаружен (MTB detected)	INH	FLQ	AMK	KAN	CAP	ETH
MTB + <i>M. avium</i> / (NJH)	10E+06	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
MTB + <i>M. gastri</i> / (ATCC 15754)	10E+06	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
MTB + <i>M. goodii</i> / (NJH)	10E+06	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
MTB + <i>M. goodii</i> / (ATCC 14470)	10E+06	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
MTB + <i>M. goodii</i> / (ATCC 35760)	10E+06	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
MTB + <i>M. marinum</i> / (NJH)	10E+06	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)

Таблица 16. Конкурентное влияние NTM на обнаружение MTB и определение чувствительности к препаратам (Продолжение)

Условия теста / идентификатор штамма NTM	NTM КОЕ/мл	MTB обнаружен (MTB detected)	INH	FLQ	AMK	KAN	CAP	ETH
<i>MTB + M. marinum</i> / (ATCC 0927)	10E+06	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
	10E+05	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
	10E+04	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
	10E+03	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
<i>MTB + M. xenopi</i> / (ATCC 700084)	10E+06	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
<i>MTB + M. avian</i> / (ATCC 15769)	10E+06	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
<i>MTB + M. intracellulare</i> / (ATCC 35771)	10E+06	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
<i>MTB + M. abscessus</i> / (ATCC 19977)	10E+06	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
<i>MTB + M. kansasii</i> / (ATCC 12478)	10E+06	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)	ПРОЙДЕН (PASS)
«ПРОЙДЕН (PASS)» означает, что все исследованные повторы дали ожидаемый результат «RESISTANCE НЕ ОБНАРУЖЕН (RESISTANCE NOT DETECTED)» в отношении соответствующих препаратов; «НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)» означает что один или несколько повторов дали результат «RESISTANCE НЕОПРЕДЕЛЕННЫЙ (RESISTANCE INDETERMINATE)» в отношении конкретного препарата.								

19.7 Инактивация микобактерий в образцах мокроты

Дезинфицирующую способность реактива для образцов Xpert MTB/XDR определяли с использованием стандартизированного метода выращивания туберкулезной культуры²¹. В образцы мокроты были добавлены высокие концентрации жизнеспособных *M. bovis*, смешанных с реактивом для образцов в соотношении 2:1 и инкубированных в течение 15 мин. После инкубации смесь реактива для образцов и мокроты была нейтрализована путем разведения и фильтрации, и затем исследована выращиванием культуры. Жизнеспособность *M. bovis* из подготовленной таким образом мокроты была ниже не менее чем на 6 log по сравнению с неподготовленным контрольным образцом.

Каждая лаборатория должна самостоятельно определять дезинфекционную эффективность реактива для образцов с применением собственных стандартизованных методов и следовать всем нормативным требованиям по биологической безопасности.

20 Прецизионность и воспроизводимость

Прецизионность и воспроизводимость Xpert MTB/XDR теста были установлены в многоцентровом (три исследовательских центра) слепом исследовании с использованием многофакторной гнездовой выборки. Исследование проводилось на панели с пятью образцами, где каждый образец был подготовлен путем добавления немутантного штамма МБТ (WT) и мутантного штамма МБТ (MUT) в искусственную среду мокроты. Немутантные (WT) и мутантные (MUT) штаммы были получены из плазмид (инкапсулированных в инактивированных, химически зафиксированных *E. coli*), содержащих либо немутантную последовательность МБТ с ШЛЮ, либо мутантную последовательность для целевых генов.

Образцы панели были подготовлены с порогом обнаружения ~1 и ~3 при температуре плавления (Tm) целевого промотора *inhA* в Xpert MTB/XDR тесте, который генерирует результат **МБТ ОБНАРУЖЕНА/МБТ НЕ ОБНАРУЖЕНА (MTB DETECTED/NOT DETECTED)** в зависимости от наличия или отсутствия температуры плавления, специфичной для немутантного или мутантного промотора *inhA*. Тестирование проводилось в течение шести дней с использованием трех партий Xpert MTB/XDR картриджей. В каждом из исследовательских центров два оператора (Оп.1 и Оп.2) каждый день выполняли по два теста, каждый с двумя повторами/циклами. Повтор выполнялся с одним картриджем. Данные о проценте совпадения для каждого образца панели представлены в Таблица 17.

Таблица 17. Процент совпадения Хpert MTB/XDR теста для обнаружения МБТ и *inhA*

Образец	Центр 1			Центр 2			Центр 3			Общий % совпадения на образец
	Оп. 1	Оп. 2	Промежуточный итог	Оп. 1	Оп. 2	Промежуточный итог	Оп. 1	Оп. 2	Промежуточный итог	
MTB MUT 1xLoD	100 % (24 из 24)	100 % (24 из 24)	100 % (48 из 48)	100 % (24 из 24)	95,8 % (23 из 24)	97,9 % (47 из 48)	91,7 % (22 из 24)	91,7 % (22 из 24)	91,7 % (44 из 48)	96,5 % (139 из 144)
MTB MUT 3xLoD	95,8 % (23 из 24)	100 % (24 из 24)	97,92 % (47 из 48)	100 % (24 из 24)	100 % (24 из 24)	100 % (48 из 48)	100 % (24 из 24)	100 % (24 из 24)	100 % (48 из 48)	99,3 % (143 из 144)
MTB WT 1xLoD	100 % (24 из 24)	91,67 % (22 из 24)	95,8 % (46 из 48)	91,7 % (22 из 24)	91,7 % (22 из 24)	91,7 % (44 из 48)	91,7 % (22 из 24)	100 % (24 из 24)	95,8 % (46 из 48)	94,4 % (136 из 144)
MTB WT 3xLoD	100 % (24 из 24)	100 % (24 из 24)	100 % (48 из 48)	100 % (24 из 24)	100 % (24 из 24)	100 % (48 из 48)	100 % (24 из 24)	100 % (24 из 24)	100 % (48 из 48)	100 % (144 из 144)
ОТРИЦ.	100 % (24 из 24)	100 % (24 из 24)	100 % (48 из 48)	100 % (24 из 24)	100 % (24 из 24)	100 % (48 из 48)	100 % (24 из 24)	95,8 % (23 из 24)	97,9 % (47 из 48)	99,3 % (143 из 144)

Результаты Хpert MTB/XDR теста на образцах немутантных и мутантных штаммов МБТ при низком (~1х) и среднем (~3х) пороге обнаружения для каждого целевого гена с обнаруженной МБТ представлены в Таблица 18.

Таблица 18. Процент совпадения для Хpert MTB/XDR теста на образцах мутантных (MUT) и немутантных (WT) МБТ

Препарат	Процент соответствия			
	MTB MUT 1x LoD (95 % ДИ) [n совпавших/ всего n]	MTB MUT 3x LoD (95 % ДИ) [n совпавших/ всего n]	MTB WT 1x LoD (95 % ДИ) [n совпавших/ всего n]	MTB WT 3x LoD (95 % ДИ) [n совпавших/ всего n]
INH	100,00 % (97,3–100) [139 из 139]	100,00 % (97,4–100,0) [143 из 143]	89,1 % (82,6–93,4) [115 из 129]	99,3 % (96,2–99,9) [143 из 144]
FLQ	87,80 % (81,3–92,2) [122 из 139]	100,00 % (97,4–100,0) [143 из 143]	81,4 % (73,8–87,2) [105 из 129]	95,8 % (91,2–98,1) [138 из 144]
ETH	100,00 % (97,3–100) [139 из 139]	100,00 % (97,4–100,0) [143 из 143]	99,2 % (95,7–99,9) [128 из 129]	100,0 % (97,4–100,0) [144 из 144]
AMK	100,00 % (97,3–100) [139 из 139]	100,00 % (97,4–100,0) [143 из 143]	91,5 % (85,4–95,2) [118 из 129]	98,6 % (95,1–99,6) [142 из 144]
CAP	99,30 % (96,3–99,0) [138 из 139]	100,00 % (97,4–100,0) [143 из 143]	98,4 % (94,5–99,6) [127 из 129]	99,3 % (96,2–99,9) [143 из 144]
KAN	100,00 % (97,3–100) [139 из 139]	100,00 % (97,4–100,0) [143 из 143]	91,5 % (85,4–95,2) [118 из 129]	98,6 % (95,1–99,6) [142 из 144]

21 Литература

1. WHO. Global Tuberculosis Report 2019. www.who.int/tb/publications/global_report
2. WHO. 2018, Rapid Communication: Key changes to treatment of multidrug- and rifampicin-resistant tuberculosis.
3. WHO, 2019, Rapid Communication: Key changes to the treatment of drug-resistant tuberculosis
4. Sulis G, Pai M (2020) Isoniazid-resistant tuberculosis: A problem we can no longer ignore. *PLoS Med* 17(1): e1003023
5. Soumitesh Chakravorty, Sandy S. Roh, et al Department of Medicine, New Jersey Medical School, Newark, New Jersey, USA Detection of Isoniazid-, Fluoroquinolone-, Amikacin-, and Kanamycin-Resistant Tuberculosis in an Automated, Multiplexed 10-Color Assay Suitable for Point-of-Care Use *J Clin Microbiol* Jan 2017 Volume 55 Issue 1.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Chosewood, LC and Wilson, DE (eds) (2009). HHS Publication number (CDC) 21-1112.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Laboratory Detection and Identification of Mycobacteria; Document M48A(refer to latest edition).
9. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z.
11. Kent PT, Kubica GP 1985. Public Health Mycobacteriology—A Guide for Level III Laboratory, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546
12. Camus JC, et al. 2002. Re-annotation of the genome sequence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Microbiology* 148:2967–73.)
13. Zhang et al. 1996. Molecular basis for the exquisite sensitivity of *Mycobacterium tuberculosis* to isoniazid. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(23):13212–13216
14. Maruri et al. 2012. A systematic review of gyrase mutations associated with fluoroquinolone-resistant *Mycobacterium tuberculosis* and a proposed gyrase numbering system. *J Antimicrob Chemother*.
15. Vadwai V, Ajbani K, Jose M, Vineeth VP, Nikam C, Deshmukh M, Shetty A, Soman R, Rodrigues C. Can inhA mutation predict ethionamide resistance? *Int J Tuberc Lung Dis*. 2013 Jan;17(1):129-30. doi: 10.5588/ijtld.12.0511. Epub 2012 Nov 8. PubMed PMID: 23146620
16. Dunn JJ, Starke JR, Revell PA. 2016. Laboratory diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection and disease in children. *J Clin Microbiol* 54:1434–1441. doi:10.1128/JCM.03043
17. Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children, *Am J Respir Crit Care Med* Vol 161. pp 1376–1395, 2000.
18. Seifert M, Catanzaro D, Catanzaro A, Rodwell TC (2015) Genetic Mutations Associated with Isoniazid Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: A Systematic Review. *PLoS ONE* 10(3): e0119628. doi:10.1371/journal.pone.0119628
19. Farhat MR, Jacobson KR, Franke MF, Kaur D, Sloutsky A, Mitnick CD, Murray M. 2016. Gyrase mutations are associated with variable levels of fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 54:727–733. doi:10.1128/JCM.02775-15.
20. Gagneux S, Small PM. Global phylogeography of *Mycobacterium tuberculosis* and implications for tuberculosis product development. *Lancet Infect Dis*. 2007 May;7(5):328-37.
21. Banada, P. et.al. Containment of Bioaerosol Infection Risk by the Xpert MTB/RIF Assay and Its Applicability to Point of Care Settings. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010.48:10. 3551-3557.

22 Расположение штаб-квартиры корпорации Cepheid

Головной офис

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA (США)
Телефон: +1 408.541.4191
Факс: +1 408.541.4192
www.cepheid.com

Европейский офис

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France (Франция)
Телефон: +33 563 825 300
Факс: +33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

23 Техническая поддержка

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

Контактная информация

США

Телефон: + 1 888 838 3222
Адрес электронной почты:
techsupport@cepheid.com

Франция

Телефон: + 33 563 825 319
Адрес электронной почты:
support@cepheideurope.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Cepheid доступна на нашем веб-сайте:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

24 Условные обозначения

Символ	Значение
	Номер по каталогу
	Медицинское устройство для диагностики <i>in vitro</i>
	Марка CE – Европейское соответствие
	Не использовать повторно
	Код партии
	Обратитесь к инструкции по применению
	Производитель
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов
	Контроль
	Срок годности
	Температурные ограничения
	Биологическая опасность
	Осторожно!
	Горючие жидкости
	Разъедающее воздействие на кожу
	Серьезная опасность для здоровья
	Место производства



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Швеция



Xpert[®] Norovirus

REF GXNOV-CE-10

Инструкция по эксплуатации

IVD CE



Медицинское устройство для диагностики
in vitro

301-2440-RU, Ред. G Май 2021 г.

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

Trademark Patents and Copyright Statements

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, and Xpert® are trademarks of Cepheid.

All other trademarks are the property of their respective owners.

Licensed under U.S. Patent Nos. 7,202,032 and 7,351,819 and counterpart patents worldwide.

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

© 2014-2021 Cepheid.

Cepheid®, логотип Cepheid, GeneXpert® и Xpert® являются товарными знаками компании Cepheid, зарегистрированными в США и других странах.

Все другие товарные знаки являются собственностью их соответствующих владельцев.

Защищено патентами США № 7,202,032 и № 7,351,819, а также соответствующими им патентами во всем мире.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩЕЙ ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

© 2014-2021 Cepheid.

Xpert® Norovirus

Только для диагностических тестов in vitro.

1 Патентованное название

Xpert® Norovirus

2 Общепринятое или распространенное наименование

Xpert Norovirus

3 Целевое использование

Тест Cepheid Xpert® Norovirus, выполняемый на системах приборов GeneXpert®, является качественным диагностическим тестом in vitro для выявления и дифференциации РНК геногруппы I и геногруппы II норовируса в необработанных или несодержащих консерванты образцах жидкого стула, взятых у лиц с симптомами острого гастроэнтерита. В тесте для обнаружения РНК норовируса используется автоматизированная полимеразная цепная реакция обратной транскриптазы (ОТ-ПЦР) в реальном времени. Тест Xpert Norovirus предназначен для облегчения диагностики норовирусных инфекций при использовании в сочетании с клинической оценкой, лабораторными данными и эпидемиологической информацией. Данный тест также помогает в обнаружении и идентификации норовирусных инфекций во время вспышек заболевания.

4 Краткие сведения и разъяснения

Норовирусы представляют собой одноцепочечные РНК, вирусы без оболочки из рода *Norovirus*, семейства *Caliciviridae*, которые вызывают острый гастроэнтерит у людей и других млекопитающих. Прототип норовируса был впервые идентифицирован как причина вспышки гастроэнтерита в Норуолке, штат Огайо, в 1968 году.¹ По оценкам, норовирус может быть возбудителем более 23 миллионов случаев гастроэнтерита каждый год в Соединенных Штатах, что составляет примерно 60 % всех случаев острого гастроэнтерита.² Норовирусы можно разделить на пять различных геногрупп, из которых геногруппа I (GI) и геногруппа II (GII) вызывают большинство инфекций у людей.

Норовирусы – основная причина гастроэнтерита во всем мире. Они поражают людей всех возрастов и часто вызывают вспышки заболевания в общественных учреждениях, таких как дома престарелых, больницы, детские сады, тюрьмы и круизные лайнеры.^{3–6} Симптомами норовирусной инфекции обычно являются диарея, рвота, спазмы желудка, тошнота и лихорадка. Заболевание обычно проходит само по себе, а признаки и симптомы могут сохраняться в течение нескольких дней. У детей, пожилых людей и людей с ослабленным иммунитетом заболевание может быть опасным для жизни из-за обезвоживания. Наиболее распространенные названия норовирусного гастроэнтерита: зимняя рвотная болезнь, желудочный грипп, острый небактериальный гастроэнтерит и вирусный гастроэнтерит. Норовирус можно культивировать только в очень специализированных системах культивирования клеток.⁷ Электронная микроскопия может использоваться для прямой визуализации норовируса в образцах фекалий, но имеет низкую чувствительность.⁸

Коммерчески доступные иммуноферментные анализы (ИФА) доказали свою полезность во время вспышек норовируса. Однако из-за низкой чувствительности этого анализа коммерчески доступные ИФА эффективны только при высокой распространенности норовирусной инфекции. Кроме того, действующие руководящие принципы CDC рекомендуют подтверждать все отрицательные результаты ИФА молекулярными методами.⁸ Известно, что по сравнению с методами ОТ-ПЦР доступные в настоящее время ИФА имеют низкую чувствительность (36–80 %) и специфичность от низкой до хорошей (47–100 %) в зависимости от среды тестирования.^{9–15} В Европе и Японии, где существуют коммерчески доступные молекулярные анализы, для проведения анализов требуются

высококвалифицированные молекулярные технологи; предусмотрено, что тесты должны выполняться в партиями, что приводит к задержкам получения результатов. В соответствии с действующими руководящими принципами CDC медицинским работникам рекомендуется рассмотреть вопрос о разработке и принятии политики учреждения, позволяющей клиническое и вирусологическое подтверждение подозреваемых случаев симптоматической норовирусной инфекции, при одновременном принятии оперативных мер контроля для уменьшения масштабов потенциальной вспышки норовируса.¹⁶ Тест Xpert Norovirus обеспечивает быстрое и точное молекулярное тестирование по запросу, что, в свою очередь, помогает инициировать немедленные меры контроля норовируса, независимо от уровня распространенности.

5 Принципы проведения процедуры

Тест автоматизирован и использует полимеразную цепную реакцию обратной транскриптазы (ОТ-ПЦР) в реальном времени для обнаружения специфических последовательностей вирусных генов, связанных с геногруппой I и геногруппой II норовируса. Образцы стула берут у пациентов с симптомами острого гастроэнтерита и доставляют в лабораторию в чистом контейнере. В образец стула вставляют тампон, а затем помещают в пробирку, содержащую реагент для образца. После кратковременного перемешивания на вихревой мешалке элюированный образец переносят в камеру для образца одноразового жидкостного картриджа (картридж GeneXpert). Картридж GeneXpert загружают на платформу системы приборов GeneXpert, которая без участия оператора выполняет автоматизированную обработку образцов и ОТ-ПЦР в реальном времени для обнаружения и дифференциации геногруппы I и геногруппы II норовируса.

В системах приборов GeneXpert объединены и автоматически выполняются следующие процессы: подготовка образцов, экстракция и амплификация нуклеиновых кислот и выявление целевых последовательностей в простых и сложных образцах с использованием ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) и ПЦР в реальном времени. Система состоит из прибора, персонального компьютера и предустановленного программного обеспечения для выполнения тестов и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи GeneXpert, которые содержат реагенты для ОТ-ПЦР и ПЦР и в которых происходят процессы ОТ-ПЦР и ПЦР. Поскольку картриджи представляют собой замкнутые системы, вероятность перекрестной контаминации между образцами сводится к минимуму. Полное описание систем представлено в соответствующем *руководстве оператора GeneXpert Dx* или *руководстве оператора GeneXpert Infinity*.

Тест Xpert Norovirus содержит реагенты для обнаружения последовательностей нуклеиновых кислот для геногруппы I и геногруппы II норовируса в необработанных или несодержащих консерванты образцах жидкого стула, взятых у людей с симптомами острого гастроэнтерита. Кроме того, в картридже содержится средство контроля обработки образца (Sample Processing Control, SPC) и средство контроля зондов (Probe Check Control, PCC). SPC предназначен для контроля правильности обработки целевых вирусов и выявления ингибиторов в среде, где происходит ПЦР. PCC проверяет регидратацию сухого реагента, заполнение пробирки ПЦР в картридже, целостность зонда и стабильность красителя.

6 Реагенты и приборы

6.1 Комплект поставки

Набор теста Xpert Norovirus (каталожный номер GXNOV-CE-10) содержит реагенты в количестве, достаточном для обработки 10 образцов или проб контроля качества. В набор входят:

Картриджи Xpert Norovirus со встроенными реакционными пробирками	10
<ul style="list-style-type: none"> Гранулы 1, 2 и 3 (лиофилизированные) Элюирующий реагент Ополаскивающий реагент Реагент связывания (гуанидина тиоцианат) 	<p>по 1 каждого типа на картридж</p> <p>1,5 мл на картридж</p> <p>1,0 мл на картридж</p> <p>2,7 мл на картридж</p>
Реагент для образцов (гуанидина тиоцианат)	10 x 2,0 мл в одном флаконе
Компакт-диск	1 в каждом наборе

Картриджи Xpert Norovirus со встроенными реакционными пробирками

10

- Файл описания теста (ADF)
- Инструкции по импорту файла ADF в программное обеспечение
- Инструкция по применению (вкладыш-инструкция)

Прим.

Паспорта безопасности вещества (Safety Data Sheet, SDS) можно найти по адресам www.cephheid.com или www.cephheidinternational.com на вкладке **ПОДДЕРЖКА (SUPPORT)**

Прим.

Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма бычьей крови животных, выращенных в США. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время производства не происходило смешивания сырья с другими материалами животного происхождения.

7 Хранение и обращение

- Храните картриджи и реагенты теста Xpert Norovirus при температуре 2–8 °C.
- Не используйте реактивы или картриджи с истекшим сроком годности.
- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение анализа.
- Используйте картридж в течение 30 минут, после того как была открыта крышка.

8 Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Система GeneXpert Dx или GeneXpert Infinity (каталожный номер зависит от конфигурации): прибор GeneXpert, компьютер с патентованным программным обеспечением GeneXpert версии 4.3 или выше, ручной сканер штрихкодов и руководство оператора.
- Принтер: Обратитесь к торговому представителю компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.
- Вихревая мешалка
- Одноразовые пипетки для переноса
- Одноразовый сухой тампон с вязким наконечником (SDPS-120) или аналогичный вязкий тампон для переноса образца стула из контейнера с образцом во флакон с реагентом для образца
- Чистый контейнер для образцов без консервантов

9 Доступные материалы, не входящие в комплект поставки

- Исходная культура ротавируса ZeptoMetrix NATtrol™ (каталожный номер NATROTA-6MC) в качестве внешнего отрицательного контроля.
- Исходная культура норовируса GI ZeptoMetrix NATtrol™ и исходная культура норовируса GII NATtrol™ (каталожный номер NATNOVI-6MC и NATNOVII-6MC) в качестве внешнего положительного контроля.

10 Предупреждения и меры предосторожности

10.1 Общие положения

- Только для диагностических тестов *in vitro*.
- При работе со всеми биологическими образцами, в том числе с использованными картриджами и реактивами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами

требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются Центрами по контролю и профилактике заболеваний США (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)¹⁹ и Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute).²⁰

- Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, при обращении с ними необходимо соблюдать стандартные меры предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реагентов следуйте принятым в вашем учреждении правилам защиты окружающей среды при обращении с отходами. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых национальных или региональных процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе правила не дают ясных указаний по правильному удалению в отходы, биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их удаления. По вопросам надлежащего удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реактивов обратитесь к сотруднику по защите окружающей среды и удалению отходов вашего учреждения.

10.2 Образец

- Соблюдайте надлежащие условия хранения при транспортировке образцов, чтобы обеспечить их целостность (см. раздела 12. Взятие, транспортировка и хранение образцов). Не изучалась стабильность образца при транспортировке в условиях, отличных от рекомендованных.
- Надлежащие взятие, хранение и транспортировка образцов крайне важны для получения правильных результатов.

10.3 Тест/реагент

- Не заменяйте реагенты теста Xpert Norovirus другими реагентами.
- Не открывайте крышку картриджа Xpert Norovirus до тех пор, пока не будете готовы внести образец.
- Не используйте картридж, который падал после извлечения из набора или подвергался сотрясениям после открытия крышки картриджа. Встряхивание или падение картриджа после вскрытия его крышки может привести к получению сомнительных результатов.
- Не размещайте этикетку с идентификационным номером образца на крышке картриджа или на этикетке со штрихкодом.
- Не используйте картридж с влажной поверхностью или с предположительно нарушенной герметичностью крышки.
- Реагент для образцов представляет собой прозрачную бесцветную жидкость. Не используйте помутневший или изменивший свой цвет реагент для образцов.
- Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- Каждый одноразовый картридж теста Xpert Norovirus применяется для проведения только одного теста. Не используйте уже применявшиеся картриджи повторно.
- Чтобы избежать загрязнения образцов и реактивов следует соблюдать принципы надлежащей лабораторной практики и менять перчатки перед работой с каждым следующим образцом. Регулярно очищайте рабочую поверхность/рабочие зоны 10 % раствором гипохлорита натрия, затем повторно протирайте поверхность 70 % этиловым или изопропиловым спиртом до и после работы с образцами Xpert Norovirus.
- Образцы могут содержать большое количество микроорганизмов. Убедитесь, что контейнеры с образцами не соприкасаются друг с другом. Меняйте перчатки, если вы ими касаетесь непосредственно образца, а также после обработки каждого образца, чтобы избежать загрязнения других образцов.

11 Опасные химические факторы^{19,20}

- Символ опасности СГС ООН 
- Сигнальное слово: ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ
- Заявления об опасности СГС ООН:

- Вредно при проглатывании.
- Вызывает слабое раздражение кожи.
- Вызывает раздражение глаз.
- Предостерегающие заявления СГС ООН:
 - **Профилактика**
 - После использования тщательно вымыть.
 - **Реагирование**
 - При плохом самочувствии обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту/терапевту.
 - При раздражении кожи: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
 - ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь, и если это легко сделать. Продолжить промывание.
 - Если раздражение глаз не проходит: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
 - **Хранение/удаление в отходы**
 - Удаление в отходы содержимого и/или тары должно осуществляться в соответствии с местными, региональными, государственными и/или международными нормами.

12 Взятие, транспортировка и хранение образцов

1. Соберите необработанный или несодержащий консерванты образец жидкого стула в чистый контейнер без консервантов. Следуйте правилам вашего учреждения по сбору образцов для тестирования на норовирус.
2. Наклейте на контейнер для образца стула этикетку с именем пациента и идентификатором образца и отправьте его в лабораторию.
3. Храните образец при 2–8 °С. Образец стабилен до двух дней в условиях хранения при 2–8 °С.

13 Процедура

13.1 Подготовка картриджа

Прим. Тест следует начать не позднее чем через 30 минут после введения реагента для образцов в картридж.

Порядок внесения пробы в картридж:

1. Извлеките картридж и флакон с реагентом для образцов из набора.
2. Окуните тампон в необработанный или несодержащий консерванты жидкий образец стула. См. нужное количество образца, которое будет использоваться для теста Xpert Norovirus, в Рис. 1.

Прим. Оберните стерильной марлевой салфеткой стержень тампона и горлышко флакона, чтобы свести к минимуму риск контаминации. Не покрывайте образцом стула весь наконечник тампона. См. Рис. 1. Слишком много материала может привести к ошибкам или неверным результатам.

Слишком мало материала образца	Правильное количество образца	Слишком много образца
		

Рис. 1. Сбор образца на тампон

- После снятия крышки с флакона с реагентом для образца вставьте тампон с образцом стула во флакон, содержащий реагент для образца.
- Держите тампон за стержень возле края флакона. Поднимите тампон на несколько миллиметров от дна флакона и согните стержень над краем флакона, чтобы он сломался, оставив тампон достаточно коротким для того, чтобы он поместился во флакон и крышка плотно закрылась.
- Закройте флакон реагента для образца крышкой и перемешайте содержимое флакона на вихревой мешалке в течение десяти секунд на высокой скорости.
- Откройте крышку картриджа. Пользуясь чистой пипеткой для переноса (не входит в комплект поставки), перенесите все содержимое флакона с реагентом для образца в камеру для образца картриджа Xpert Norovirus. См. Рис. 2.
- Закройте крышку картриджа и начните анализ в течение 30 минут.



Рис. 2. Картридж Xpert Norovirus (вид сверху)

13.2 Запуск теста

Прим. Прежде чем начинать анализ, убедитесь, что файл с описанием теста (assay definition file, ADF) Xpert Norovirus импортирован в программное обеспечение. В данном разделе перечислены основные действия при выполнении теста. Подробные инструкции приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемой модели.

Прим. Выполняемые вами действия могут быть другими, если системный администратор изменил установленную по умолчанию рабочую последовательность.

- Включите прибор GeneXpert:
 - При использовании прибора GeneXpert Dx следует сначала включать сам прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически либо после двойного щелчка на ярлыке программного обеспечения GeneXpert Dx, находящегося на рабочем столе Windows®.

или

- б) При использовании прибора GeneXpert Infinity следует включить прибор. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически либо после двойного щелчка на ярлыке программного обеспечения Xpertise, находящегося на рабочем столе Windows®.
2. Войдите в Система GeneXpert программное обеспечение со своим именем пользователя и паролем.
3. В окне системы GeneXpert выберите пункт **Создать анализ (Create Test)** (для GeneXpert Dx) или выберите пункт **Команды (Orders)**, а затем **Задать команду на проведение анализа (Order Test)** (для GeneXpert Infinity). Откроется окно Создать анализ (Create Test).
4. Отсканируйте или введите вручную идентификационный номер пациента (необязательно). Если вводится «ID пациента» (Patient ID), то проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID пациента» (Patient ID) указывается в левой части окна «Просмотреть результаты» (View Results) и связывается с результатами теста.
5. Отсканируйте или введите вручную ID образца (Sample ID). Если вводится «ID образца» (Sample ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID образца» (Sample ID) указывается в левой части окна «Просмотреть результаты» (View Results) и связывается с результатами анализа.
6. Отсканируйте штрихкод на картридже теста Xpert Norovirus. На основе информации, считанной со штрихкода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «Выбрать тест» (Select Assay), «ID партии реагента» (Reagent Lot ID), «С/Н картриджа» (Cartridge SN) и «Срок годности» (Expiration Date).

Прим. Если штрихкод картриджа Xpert Norovirus не сканируется, повторите анализ с новым картриджем, следуя процедуре, описанной в разделе «Процедура повторного анализа».

7. Щелкните **Начать анализ (Start Test)** (для GeneXpert Dx) или **Отправить (Submit)** (для GeneXpert Infinity). В появившемся диалоговом окне введите свой пароль.
8. При использовании системы GeneXpert Infinity поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, будет выполнен тест, а использованный картридж будет удален в контейнер для отходов.

или

Для прибора GeneXpert Dx:

- а) Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
- б) Закройте дверцу. После этого начинается тест, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса теста индикаторная лампа выключается.
- в) Перед открытием дверцы модуля и извлечением картриджа дождитесь разблокирования системой замка дверцы.
- г) Использованные картриджи следует удалять в подходящие контейнеры для сбора отходов образцов согласно стандартным правилам, принятым в вашем учреждении.

14 Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечислены основные действия по просмотру и печати результатов. Подробные инструкции по просмотру и печати результатов приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx System* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity System*.

1. Для просмотра результатов выберите ярлык **Просмотреть результаты (View Results)**.
2. По завершении анализа выберите кнопку **Отчет** в окне «Просмотреть результаты» для просмотра отчета и (или) получения отчета в формате PDF.

15 Контроль качества

15.1 Встроенные контроли качества

В каждый тест входит контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC) и контроль зондов (Probe Check Control, PCC).

- **Контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC):** Обеспечивает правильность обработки образца. Контроль обработки образцов (SPC) представляет собой контроль по технологии Armored RNA®, включенный в каждый картридж для подтверждения правильности обработки образца. SPC подтверждает выход

РНК из вирусов, если данный микроорганизм присутствует, а также подтверждает правильность обработки образца. Кроме того, этот контроль выявляет связанное с образцом ингибирование реакций ОТ-ПЦР и ПЦР. Результат для SPC должен быть положительным для отрицательной пробы и может быть как положительным, так и отрицательным для положительной пробы. Контроль SPC считается пройденным, если его результат соответствует валидированным критериям приемлемости.

- **Контроль зондов (PCC):** Перед запуском ПЦР системой GeneXpert Dx или системой GeneXpert Infinity измеряется флуоресцентный сигнал от зондов (SPC, QC1 и QC2 — по одному на каждую из двух гранул реагента) для проверки регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль зондов считается пройденным, если его результат соответствует установленным критериям приемлемости.

15.2 Внешние контроли

- Внешние контроли: исходная культура ротавируса ZeptoMetrix NATtrol (каталожный номер NATROTA-6MC) в качестве внешнего отрицательного контроля и исходная культура норовируса GI ZeptoMetrix NATtrol и исходная культура норовируса GII NATtrol (каталожный номер NATNOVI-6MC и NATNOVII-6MC) в качестве внешнего положительного контроля могут использоваться в соответствии с требованиями местных, государственных и федеральных аккредитационных организаций соответственно.

16 Интерпретация результатов

Результаты интерпретируются Система GeneXpert системой на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета; они отображаются в окне «Просмотреть результаты» (View Results). Возможные результаты показаны в Табл. 1.

Табл. 1. Результаты теста Xpert Norovirus и их интерпретация

Результат	Интерпретация
NORO GI ОБНАРУЖЕН (NORO GI DETECTED), NORO GI НЕ ОБНАРУЖЕН (NORO GI NOT DETECTED) См. Рис. 3.	<p>Обнаружена последовательность РНК геногруппы I (GI) норовируса.</p> <ul style="list-style-type: none"> Значение Ct целевой последовательности РНК геногруппы I (GI) норовируса находится в действительном диапазоне, и конечная точка находится выше порогового значения. SPC – Н/П (неприменимо) (NA (not applicable)); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей норовируса может конкурировать с этим контролем. PCC – ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.
NORO GI НЕ ОБНАРУЖЕН (NORO GI NOT DETECTED), NORO GII ОБНАРУЖЕН (NORO GII DETECTED) См. Рис. 4.	<p>Обнаружена последовательность РНК геногруппы II (GII) норовируса.</p> <ul style="list-style-type: none"> Значение Ct целевой последовательности РНК геногруппы II (GII) норовируса находится в действительном диапазоне, и конечная точка находится выше порогового значения. SPC – Н/П (неприменимо) (NA (not applicable)); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей норовируса может конкурировать с этим контролем. PCC – ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.
NORO GI ОБНАРУЖЕН (NORO GI DETECTED), NORO GII ОБНАРУЖЕН (NORO GII DETECTED) См. Рис. 5.	<p>Обнаружена последовательность РНК геногруппы I (GI) норовируса и последовательность РНК геногруппы II (GII) норовируса.</p> <ul style="list-style-type: none"> Значение Ct целевой последовательности РНК геногруппы I (GI) норовируса находится в действительном диапазоне, и конечная точка находится выше порогового значения. Значение Ct целевой последовательности РНК геногруппы II (GII) норовируса находится в действительном диапазоне, и конечная точка находится выше порогового значения. SPC – Н/П (неприменимо) (NA (not applicable)); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей норовируса может конкурировать с этим контролем. PCC – ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.
NORO GI НЕ ОБНАРУЖЕН (NORO GI NOT DETECTED), NORO GII НЕ ОБНАРУЖЕН (NORO GII NOT DETECTED) См. Рис. 6.	<p>Последовательности РНК норовируса не обнаружены.</p> <ul style="list-style-type: none"> Последовательности РНК норовируса не обнаружены. SPC – ПРОЙДЕН (PASS); SPC имеет Ct в пределах действительного диапазона и конечную точку выше порогового значения. PCC – ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) См. Рис. 7.	<p>Наличие или отсутствие целевой РНК норовируса установить невозможно. Повторите тест согласно инструкциям, содержащимся в раздела 17.2.</p> <ul style="list-style-type: none"> Норовирус GI – НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) Норовирус GII – НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) SPC — НЕ ПРОЙДЕН (FAIL); значение Ct SPC не находится в действительном диапазоне, и конечная точка ниже минимального порогового значения. PCC – ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.

Результат	Интерпретация
ОШИБКА (ERROR)	<p>Наличие или отсутствие целевой РНК норовируса установить невозможно. Повторите тест согласно инструкциям, содержащимся в раздела 17.2.</p> <ul style="list-style-type: none"> Норовирус GI – ОШИБКА (ERROR) Норовирус GII – ОШИБКА (ERROR) РСС — НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)*; одна проверка или более в рамках контроля качества зондов не пройдены. <p>* Если контроль зондов пройден, ошибка вызвана выходом за границы приемлемого диапазона предельного максимального давления.</p>
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	<p>Наличие или отсутствие целевой РНК норовируса установить невозможно. Повторите тест согласно инструкциям, содержащимся в раздела 17.2. Сообщение НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Например, если оператор прервал выполняющийся процесс анализа или произошел перебой в подаче электроэнергии.</p> <ul style="list-style-type: none"> Норовирус GI – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) Норовирус GII – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) РСС – Неприменимо (NA).

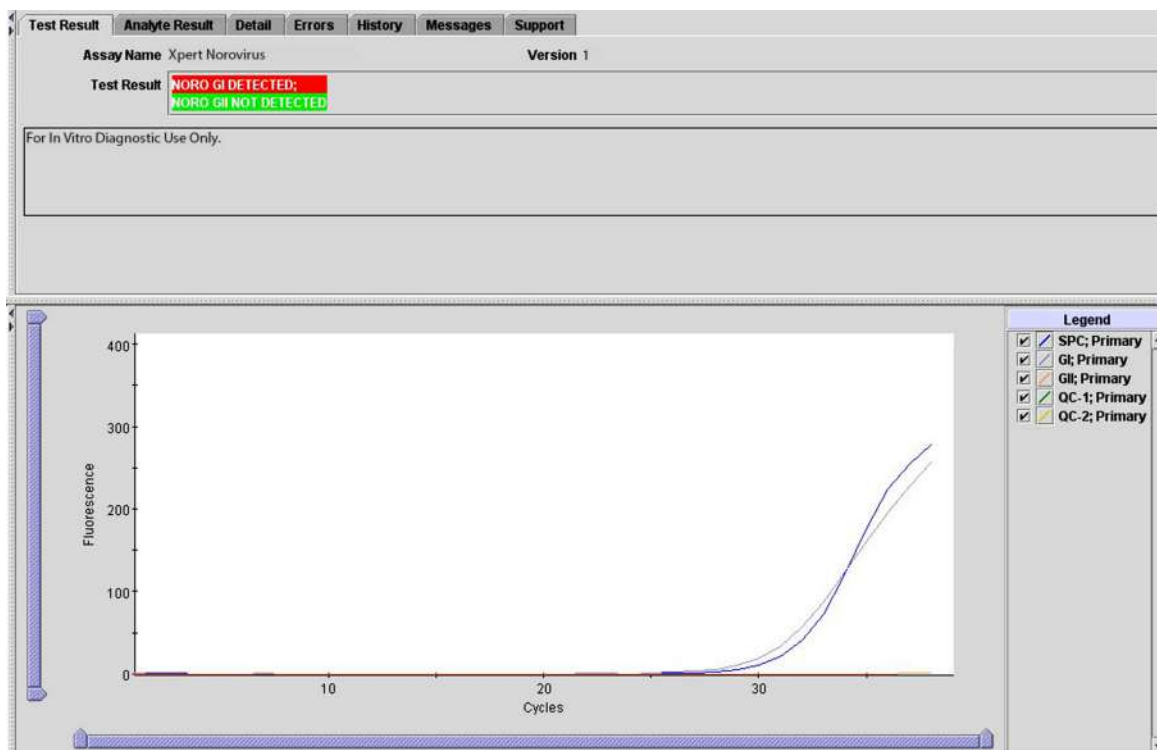


Рис. 3. Норовирус GI обнаружен; норовирус GII не обнаружен

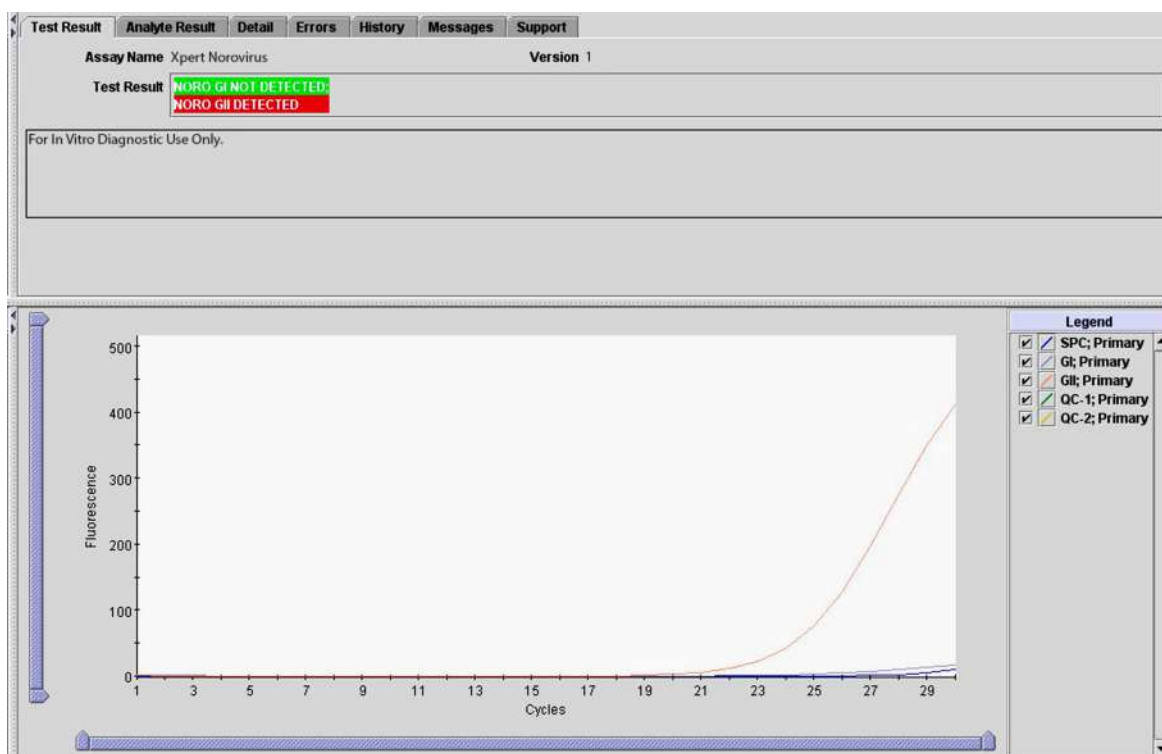


Рис. 4. Норовирус GI не обнаружен; норовирус GII обнаружен

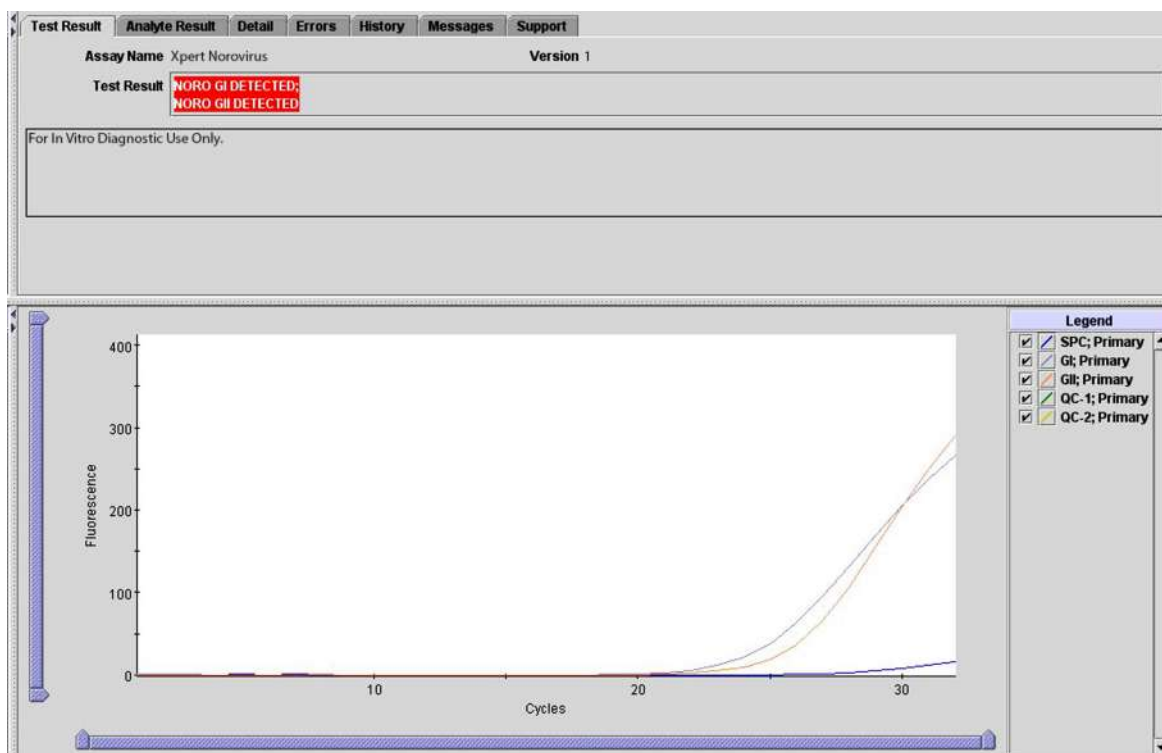


Рис. 5. Норовирус GI обнаружен; норовирус GII обнаружен

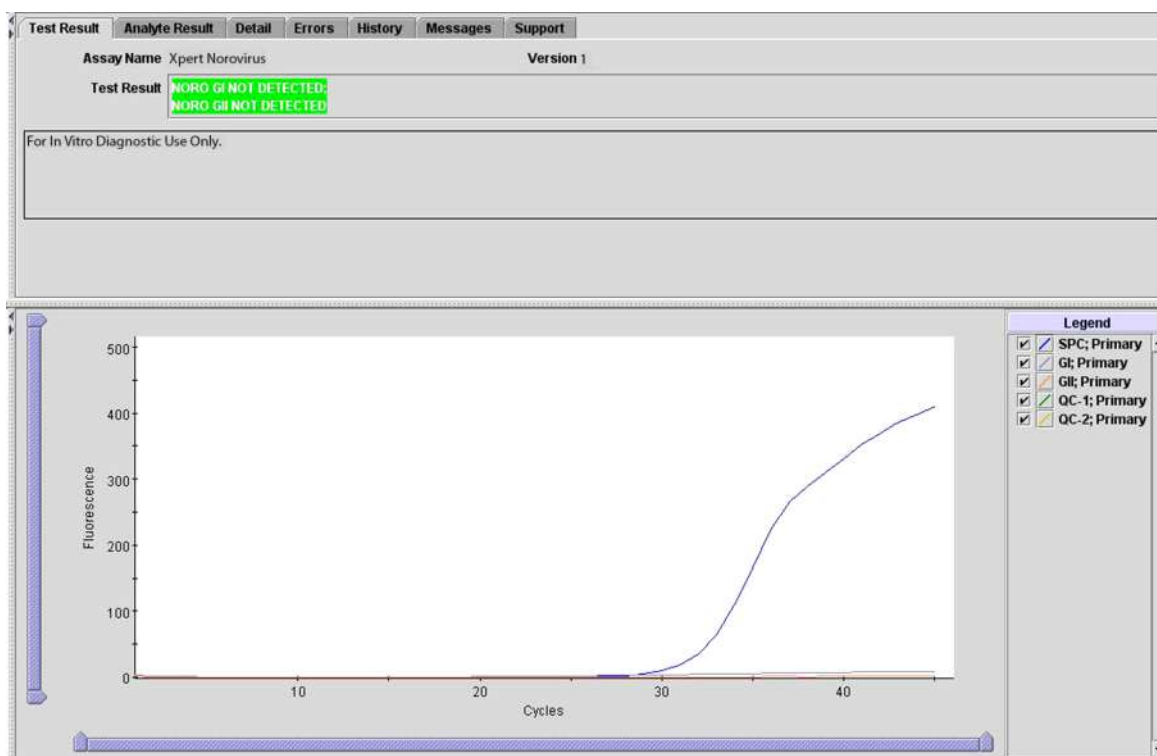


Рис. 6. Норовирус GI не обнаружен; норовирус GII не обнаружен

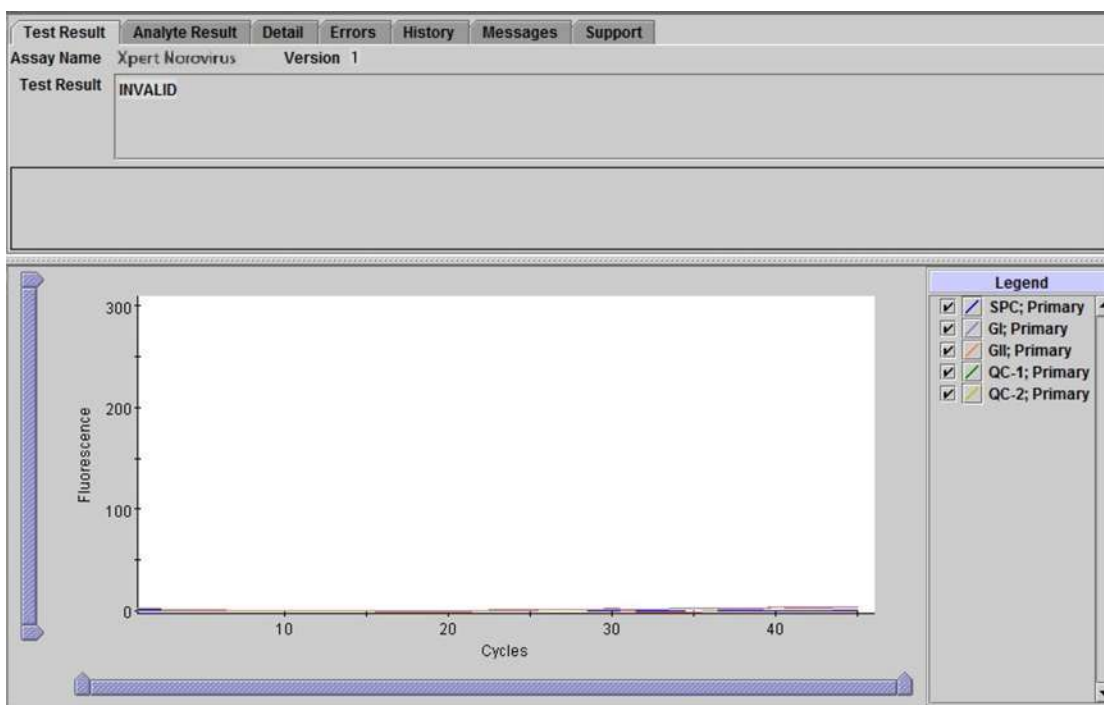


Рис. 7. НЕДЕЙСТВТЕЛЬНЫЙ (INVALID)

17 Повторный

17.1 Причины повторного выполнения теста

При получении любого из следующих результатов анализа повторите тест в соответствии с указаниями, изложенными в разделе 17.2. Процедура повторного теста.

- **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** результат указывает на то, что не пройдены проверки SPC. Процесс обработки образца прошел ненадлежащим образом, ПЦР была ингибирована или не соблюдались правила взятия образца.
- Результат **ОШИБКА (ERROR)** мог быть обусловлен, помимо прочего, непрохождением контроля зондов или превышением пределов максимального давления.
- Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Например, оператор прервал выполняющийся процесс анализа или произошел перебой в подаче электроэнергии.

17.2 Процедура повторного теста

Для повторного анализа образцов в случаях получения результата **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)**, **ОШИБКА (ERROR)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)**, используйте новый картридж (не допускайте повторного использования картриджа) и новый флакон с реагентом для образца.

1. Извлеките картридж и флакон с реагентом для образцов из набора теста Xpert Norovirus.
2. После снятия крышки с флакона с реагентом для образца ненадолго окуните тампон в жидкий образец стула. См. нужное количество образца, которое будет использоваться для теста Xpert Norovirus, в Рис. 8.

Прим. Оберните стерильной марлевой салфеткой стержень тампона и горлышко флакона, чтобы свести к минимуму риск контаминации. Не покрывайте образцом стула весь наконечник тампона. См. Рис. 8. Слишком много материала может привести к ошибкам или неверным результатам.

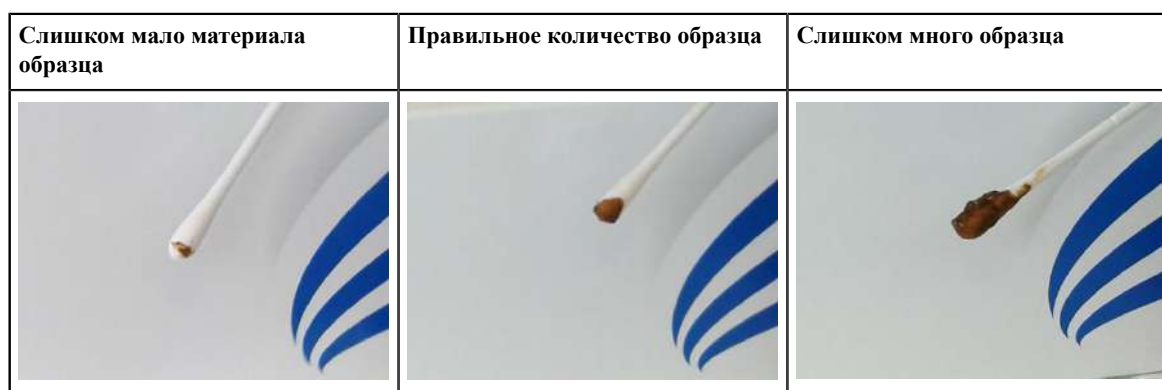


Рис. 8. Сбор образца на тампон

3. После снятия крышки с флакона с реагентом для образца вставьте тампон с образцом стула во флакон, содержащий реагент для образца.
4. Держите тампон за стержень возле края флакона. Поднимите тампон на несколько миллиметров от дна флакона и согните стержень над краем флакона, чтобы он сломался. Проследите за тем, чтобы тампон был достаточно коротким, чтобы можно было плотно закрыть флакон.
5. Закройте флакон реагента для образца крышкой и перемешайте содержимое флакона на вихревой мешалке в течение 10 секунд на высокой скорости.
6. Откройте крышку картриджа. Пользуясь чистой пипеткой для переноса (не входит в комплект поставки), перенесите все содержимое флакона с реагентом для образца в камеру для образца картриджа Xpert Norovirus. См. Рис. 2.
7. Закройте крышку картриджа и начните анализ в течение 30 минут.

18 Ограничения

- Только для диагностического применения *in vitro*.
- Функциональные характеристики теста Xpert Norovirus валидированы только с использованием процедур, описанных в данном вкладыше-инструкции.
- Внесение изменений в эти процедуры может нарушить функциональные характеристики теста. Результаты, полученные с использованием теста Xpert Norovirus, следует интерпретировать с учетом других лабораторных и клинических данных, имеющихся у врача.
- Неправильные результаты анализа могут быть связаны с неправильным сбором, обращением или хранением образца, неверной идентификацией образцов или количеством микроорганизмов в образце ниже порога обнаружения данного теста. Чтобы избежать получения ошибочных результатов, необходимо тщательно следовать указаниям, представленным во вкладыше-инструкции.
- В случае использования необработанных или несодержащих консервантов образцов жидкого стула влияние теста может наблюдаться в присутствии сульфата бария (≥ 1 % весового соотношения) и хлорида бензалкония при всех испытанных концентрациях (1 % вес/объем, 0,2 % вес/объем и 0,04 % вес/объем).
- Мутации или полиморфизм в участках связывания праймера или зонда могут отрицательно повлиять на возможность обнаружения новых или неизвестных вариантов норовируса и привести к получению ложно-отрицательных результатов.
- В случае смешанной инфекции норовирусом GI и GII, когда титр одной геногруппы имеет более высокий показатель, чем титр другой геногруппы, геногруппа с более высоким титром будет считаться обнаруженной; геногруппа с более низким титром может быть указана как не обнаруженная.

19 Ожидаемые значения

В клиническое исследование теста Xpert Norovirus было включено 914 проспективно собранных свежих, необработанных или несодержащих консервантов образцов жидкого стула из семи исследовательских центров. Количество и процент положительных случаев на норовирус GI и норовирус GII, рассчитанные по возрастным группам, представлены в Табл. 2.

Табл. 2. Наблюдаемая распространенность заболевания GI и GII по возрастным группам

Возраст (лет)	Кол-во положительных результатов GI	Наблюдаемая частота GI, %	Кол-во положительных результатов GII	Наблюдаемая частота GII, %
0-1	0/8	0	0/8	0
>1-5	1/6	16,7	0/6	0
>5-12	0/10	0	1/10	10,0
>12-21	0/29	0	3/29	10,3
>21-65	9/520	1.7	35/520	6,7
>65	6/341	1.8	35/341	10,3
Всего	16/914	1.8	74/914	8,1

20 Функциональные характеристики

20.1 Клинические функциональные характеристики

Функциональные характеристики теста Xpert Norovirus оценивались в семи учреждениях в США и ЕС. Образцы для исследования состояли из необработанных образцов или образцов жидкого стула без консервантов, полученных от субъектов с симптомами острого гастроэнтерита. Эффективность теста Xpert Norovirus сравнивалась с комбинированным эталонным методом тестирования, выполняемым в Центрах по контролю и профилактике заболеваний (CDC; Атланта, Джорджия, США).

В общей сложности с помощью теста Xpert Norovirus и комбинированного эталонного теста 1403 образца были протестированы на норовирус GI. Из 1403 образцов 914 свежих образцов были собраны проспективно, и 489 получены из замороженных, архивных образцов. В общей сложности с помощью теста Xpert Norovirus и комбинированного эталонного теста 1401 образец был протестирован на норовирус GII. Из 1401 образца 914 свежих образцов были собраны проспективно, и 487 получены из замороженных, архивных образцов.

На свежих, проспективно собранных образцах тест Xpert Norovirus для обнаружения норовируса GI продемонстрировал 100 % совпадений положительных результатов (positive percent agreement, PPA) и 99,6 % совпадений отрицательных результатов (negative percent agreement, NPA) по сравнению с комбинированным эталонным тестом (Табл. 3). Результаты теста Xpert Norovirus для обнаружения норовируса GII составили 98,5 % PPA и 98,8 % NPA (Табл. 4).

На замороженных, архивных образцах тест Xpert Norovirus для обнаружения норовируса GI продемонстрировал 98,1 % PPA и 94,6 % NPA по сравнению с комбинированным эталонным тестом (Табл. 5). Результаты теста Xpert Norovirus для обнаружения норовируса GII составили 100 % PPA и 96,8 % NPA (Табл. 6).

Табл. 3. Эффективность Xpert Norovirus для обнаружения GI по сравнению с комбинированным эталонным тестом — свежие образцы

		Комбинированный эталонный тест		
		ПОЛОЖ	ОТРИЦ	Всего
Xpert Norovirus	ПОЛОЖ	12	4	16
	ОТРИЦ	0	898	898
	Всего	12	902	914
PPA% (процент совпадения положительных) (95 % ДИ)		100 % (95 % ДИ: 73,5–100)		
NPA% (процент совпадения отрицательных) (95 % ДИ)		99,6 % (95 % ДИ: 98,9–99,9)		

Табл. 4. Эффективность Xpert Norovirus для обнаружения GII по сравнению с комбинированным эталонным тестом — свежие образцы

		Комбинированный эталонный тест		
		ПОЛОЖ	ОТРИЦ	Всего
Xpert Norovirus	ПОЛОЖ	64	10	74
	ОТРИЦ	1	839	840
	Всего	65	849	914
PPA% (процент совпадения положительных) (95 % ДИ)		98,5 % (95 % ДИ: 91,7–100)		
NPA% (процент совпадения отрицательных) (95 % ДИ)		98,8 % (95 % ДИ: 97,8–99,4)		

Табл. 5. Эффективность Xpert Norovirus для обнаружения GI по сравнению с комбинированным эталонным тестом — замороженные образцы

		Комбинированный эталонный тест		
		ПОЛОЖ	ОТРИЦ	Всего
Xpert Norovirus	ПОЛОЖ	101	21	122
	ОТРИЦ	2	365	367
	Всего	103	386	489
PPA% (процент совпадения положительных) (95 % ДИ)		98,1 % (95 % ДИ: 93,2–99,8)		
NPA% (процент совпадения отрицательных) (95 % ДИ)		94,6 % (95 % ДИ: 91,8–96,6)		

Табл. 6. Эффективность Xpert Norovirus для обнаружения GII по сравнению с комбинированным эталонным тестом — замороженные образцы

		Комбинированный эталонный тест		
		ПОЛОЖ	ОТРИЦ	Всего
Xpert Norovirus	ПОЛОЖ	109	12	121
	ОТРИЦ	0	366	366
	Всего	109	378	487
PPA% (процент совпадения положительных) (95 % ДИ)		100 % (95 % ДИ: 96,7–100)		
NPA% (процент совпадения отрицательных) (95 % ДИ)		96,8 % (95 % ДИ: 94,5–98,3)		

21 Аналитические функциональные характеристики

21.1 Аналитическая чувствительность (порог обнаружения)

Исследование порога обнаружения (LoD) было проведено для оценки аналитической чувствительности теста Xpert Norovirus с положительными клиническими образцами стула, содержащими норовирус GI.3 или норовирус GII.4, разведенными в объединенный отрицательный материал стула. Порог обнаружения определен как самая низкая концентрация (копий/мл) на образец, которую можно воспроизводимо отличить от отрицательных образцов с достоверностью 95 %. Повторы по крайней мере 23 образцов были оценены при семи концентрациях для норовируса GI.3 и норовируса GII.4, а пороги обнаружения были оценены с помощью пробит-анализа. Оценочные значения порога обнаружения были подтверждены путем анализа не менее 20 повторов образцов с вирусом, разбавленным до расчетных концентраций порога обнаружения.

Оценочные значения LoD и подтвержденные LoD для каждой протестированной геногруппы представлены в Табл. 7.

Табл. 7. Порог обнаружения теста Xpert Norovirus

Геногруппа/штамм норовируса	Порог обнаружения (95 % ДИ)
GI.3	$5,7 \times 10^5$ (копий/мл) ($4,64 \times 10^5$ – $6,67 \times 10^5$)
GI.4	$3,0 \times 10^5$ (копий/мл) ($1,25 \times 10^5$ – $1,78 \times 10^5$)

21.2 Аналитическая специфичность (перекрестная реактивность)

Аналитическая специфичность теста Xpert Norovirus была оценена путем тестирования панели 68 микроорганизмов, состоящих из 54 бактерий, 1 грибка, 9 вирусов и 4 паразитов, представляющих общие возбудители гастроэнтерита или те, которые потенциально встречаются в стуле. Минимум три повтора каждого штамма бактерий и грибов были протестированы при концентрациях $\geq 10^6$ КОЕ/мл. Минимум три повтора всех образцов вирусов были проанализированы при концентрациях $\geq 10^5$ ЦПД₅₀/мл, за исключением двух вирусов, полученных из клинических образцов с неизвестными концентрациями. Минимум три повтора образцов всех паразитов были проанализированы при концентрациях $\geq 10^6$ копий/мл. Для всех протестированных микроорганизмов с тестом Xpert Norovirus был получен правильный результат **NORO GI НЕ ОБНАРУЖЕН (NORO GI NOT DETECTED); NORO GII НЕ ОБНАРУЖЕН (NORO GII NOT DETECTED)**. Аналитическая специфичность составила 100 %. Результаты показаны в Табл. 8.

Табл. 8. Аналитическая специфичность теста Xpert Norovirus

Микроорганизм	Идентификатор штамма	Концентрация
<i>Acinetobacter baumannii</i>	CCUG 3477	>3,0 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Anaerococcus prevotii</i> ^a	ATCC 9321	6,7 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Bacterioides fragilis</i> ^a	ATCC 25285	1,4 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Campylobacter coli</i>	ATCC 43478	1,8 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33560	1,3 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Campylobacter lari</i>	ATCC 35221	3,4 x 10 ⁷ КОЕ/мл
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 33128	1,5 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Clostridium difficile</i> ^a	ATCC 9689	2,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Clostridium sordelli</i> ^a	DSMZ 2141	2,0 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Eggerthella lenta</i>	ATCC 43055	>3,0 x 10 ⁷ КОЕ/мл
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 70021	1,0 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	ATCC 25788	1,0 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	5,4 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 9756	8,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Enterococcus gallinarum</i>	ATCC 49573	4,5 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Escherichiacoli</i> O157:H7	ATCC 43888	8,4 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Escherichia coli</i> O26:H11	CDC 033014	7,4 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Escherichia coli</i> O45:H2	CDC 003039	3,3 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Escherichia coli</i> O103:H11	CDC 063008	5,4 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Escherichia coli</i> O11	CDC 201114	6,9 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Escherichia coli</i> O121	CDC 023211	1,4 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Escherichia coli</i> O145	CDC 993311	7,1 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Escherichia hermannii</i>	ATCC 33650	1,5 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Fusobacterium necrophorum</i> ^a	ATCC 31647	9,6 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Helicobacter pylori</i>	CCUG 1784	1,5 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 70063	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Lactobacillus jensenii</i>	ATCC 25258	4,0 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Listeria monocytogenes</i>	CCUG 3358	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 4698	1,8 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Morganella morganii</i>	ATCC 49948	1,3 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ^a	CCUG 7835	1,5 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	ATCC 51903	3,1 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Prevotella oralis</i> ^a	ATCC 33269	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 43071	1,1 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 49132	1,8 x 10 ⁹ КОЕ/мл

Микроорганизм	Идентификатор штамма	Концентрация
<i>Providencia alcalifaciens</i>	CCUG 6325	1,8 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Providencia stuartii</i>	ATCC 49809	1,3 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	6,3 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525	>3,0 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Pseudomonas putida</i>	ATCC 49128	5,5 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Salmonella agona</i>	ATCC 51957	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Salmonella bongori</i>	ATCC 43975	1,7 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 13314	9,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 43862	3,8 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC 12022	8,1 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 25931	>3,0 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	8,8 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 14990	>3,0 x 10 ⁷ КОЕ/мл
<i>Streptococcus agalactiae</i> (GBS)	ATCC 12386	9,6 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	ATCC 43078	7,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615	5,5 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Vibrio cholerae</i> ^b	CCUG 9118	5,2 x 10 ⁹ копий/ м Н
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 17802	3,8 x 10 ⁸ КОЕ/мл
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 9610	7,1 x 10 ⁸ КОЕ/мл
Аденовирус	тип 31	3,6 x 10 ⁵ ЦПД /мл
Аденовирус	Тип 40	2,8 x 10 ⁷ ЦПД /мл
Аденовирус	Тип 41	4,6 x 10 ⁷ ЦПД /мл
<i>Astrovirus</i> ^c	--	Не применимо ^d
<i>Coxsackievirus</i>	Тип B5	1,4 x 10 ⁵ ЦПД /мл
Эховирус	11	3,3 x 10 ⁹ ЦПД /мл
<i>Parvovirus</i>	тип 6	1,9 x 10 ⁷ ЦПД /мл
<i>Rotavirus</i>	Штамм Wa	1,0 x 10 ⁶ ЦПД /мл
<i>Sapovirus</i> ^c	--	Не применимо ^e
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	>3,0 x 10 ⁷ КОЕ/мл
<i>Blastocystis hominis</i> ^b	BT1	1,0 x 10 ⁹ копий/мл
<i>Cryptosporidium parvum</i> ^b	Айова	6,1 x 10 ⁹ копий/мл
<i>Giardia lamblia</i> ^b	Портленд-1	3,05 x 10 ⁹ копий/мл
<i>Entamoeba histolytica</i> ^b	ATCC 30459D	4,9 x 10 ⁶ копий/мл

^a Облигатные анаэробные бактерии.

^b Анализ выполнен как для геномной ДНК.

- с Клинический образец.
- д Концентрация не известна для клинических образцов астровируса, полученных из KUL; значения Ct по результатам теста KUL находились в диапазоне 12–27.
- е Концентрация не известна для клинических образцов саповируса, полученных из KUL; значения Ct по результатам теста KUL находились в диапазоне 19–23.

21.3 Аналитическая реактивность (инклюзивность)

Аналитическая реактивность теста Xpert Norovirus оценивалась в отношении тридцати одного генотипа, представляющего обе геногруппы норовируса (GI и GII). Тридцать один штамм норовируса, оцениваемый в этом исследовании, был протестирован с концентрацией, близкой к порогу обнаружения (LoD) теста. (Табл. 9). Для каждого штамма были проанализированы три повтора.

Табл. 9. Результаты аналитической реактивности теста Xpert Norovirus

Штамм норовируса	Расчетная концентрация (копий/мл) ^а	Результат	
		GI	GIІ
GI.1	9,0 x 10 ⁶	ПОЛОЖ.	ОТРИЦ.
GI.2	3,7 x 10 ⁸	ПОЛОЖ.	ОТРИЦ.
GI.3	1,4 x 10 ⁶	ПОЛОЖ.	ОТРИЦ.
GI.4	1,0 x 10 ⁵	ПОЛОЖ.	ОТРИЦ.
GI.5 ^б	2,5 x 10 ⁵	ПОЛОЖ.	ОТРИЦ.
GI.6 ^б	2,5 x 10 ⁵	ПОЛОЖ.	ОТРИЦ.
GI.7 ^б	2,5 x 10 ⁵	ПОЛОЖ.	ОТРИЦ.
GI.8	3,7 x 10 ⁵	ПОЛОЖ.	ОТРИЦ.
GI.14	3,0 x 10 ⁶	ПОЛОЖ.	ОТРИЦ.
GII.1	3,6 x 10 ⁶	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.2	1,1 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.3 ^б	1,3 x 10 ³	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.4 (2006a)	1,2 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.4 (2006b)	2,4 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.4 (2008)	4,3 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.4 (штамм «Новый Орлеан-2009»)	1,7 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.4 (2010)	9,6 x 10 ⁴	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.4 (штамм «Сидней-2012»)	1,2 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.5 ^б	1,3 x 10 ³	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.6 ^б	1,3 x 10 ³	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.7	8,0 x 10 ⁴	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.8 ^б	1,3 x 10 ³	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.9 ^б	1,3 x 10 ³	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.

Штамм норовируса	Расчетная концентрация (копий/мл) ^a	Результат	
		GI	GII
GII.10 ^b	1,3 x 10 ³	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.11	2,6 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.12	5,7 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.13	6,9 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.14	1,5 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.15	1,7 x 10 ⁵	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.16 ^b	1,3 x 10 ³	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.
GII.17 ^b	1,3 x 10 ³	ОТРИЦ.	ПОЛОЖ.

^a Расчетная концентрация (или титр) была определена на основе значения Ct (из-за сложности культивирования частиц норовируса точная концентрация не может быть определена). Значение Ct для каждого клинического образца в исследовании инклюзивности было экстраполировано на титр, полученный из исследования порога обнаружения для хорошо охарактеризованных образцов GI и GII, с использованием стандартной кривой цикла клеточного деления.

^b Для этих штаммов использовались открытые РНК-транскрипты; клинические образцы на момент тестирования отсутствовали.

21.4 Изучение субстанций, препятствующих проведению анализа

Вещества, потенциально способные препятствовать проведению анализа, которые могут присутствовать в стуле, оценивались непосредственно относительно эффективности теста Xpert Norovirus. К потенциально препятствующим проведению анализа веществам относятся гемоглобин, муцин, холестерин, триглицериды и цельная кровь, а также дополнительные эндогенные и экзогенные вещества, перечисленные в Табл. 10.

Для каждого вещества тестировали 8 отрицательных образцов отрицательного материала стула с целью определения влияния на функциональные характеристики контроля обработки образца (Sample Processing Control, SPC). Положительные образцы тестировали на повторах по 8 на каждое вещество с одним клиническим изолятом норовируса GI и одним клиническим изолятом норовируса GII с концентрацией, близкой к порогу обнаружения.

Все результаты сравнивали с положительным и отрицательным контролями, приготовленными на отрицательном материале стула. Анализ всех действительных образцов положительных и отрицательных контролей с применением теста Xpert Norovirus дали правильные результаты.

Ингибирующее влияние на тест Xpert Norovirus наблюдалось в присутствии бензалкония хлорида (1 % вес/объем, 0,2 % вес/объем и 0,04 % вес/объем). Были получены ложноотрицательные результаты теста для целевой последовательности норовируса GII в присутствии бензалкония хлорида (1 % вес/объем). В присутствии сульфата бария (5 % вес/объем) наблюдался статистически значимый ингибирующий эффект на Ct норовируса GII в положительных образцах по сравнению с контрольным образцом (значение $p < 0,05$). В присутствии сульфата бария (1 % вес/объем) не наблюдалось статистически значимого влияния на Ct норовируса GII по сравнению с контрольным образцом.

Не было обнаружено, что другие потенциально влияющие вещества обладают ингибирующим действием, и не сообщалось о ложноотрицательных результатах для этих веществ.

Табл. 10. Вещества в Xpert Norovirus, вероятно препятствующие проведению анализа

Эндогенные вещества		
Субстанция	Описание/активный компонент	Концентрация, применявшаяся в анализе
Холестерин	Фекальный жир/холестерин	5 % вес/объем
Гемоглобин	Гемоглобин человека	12,5 % вес/объем
Муцин	Очищенный белок муцин	5 % вес/объем

Эндогенные вещества		
Стеариновая кислота/ пальмитиновая кислота (1:1)	Жирные кислоты/ стеариновая кислота, пальмитиновая кислота	5 % весового соотношения
Триглицерид	Смесь фекального жира/триглицеридов	5 % вес/объем
Цельная кровь	Цельная кровь человека	10 % объемного соотношения
Экзогенные вещества		
Субстанция	Описание/активный компонент	Концентрация, применявшаяся в анализе
Ацетаминофен	Ацетаминофен	5 % вес/объем
Амоксициллин	Антибиотик/амоксициллин	5 % вес/объем
Ампициллин	Натриевая соль ампициллина	152 мкмоль/л
Аспартам	Аспартам	5 % вес/объем
Бария сульфат	Контрастная среда/ сульфат бария	5 % весового соотношения, 1 % весового соотношения
Бензалкония хлорид Технический спирт	Антисептические салфетки/ бензалкония хлорид в этаноле	1 %, 0,2 %, 0,04 % вес/объем
Висмута субсалицилат	Субсалицилат висмута (III) (активный ингредиент пептобисмола)	1 % вес/объем
CaCO ₃	Карбонат кальция	5 % вес/объем
Гидрокортизон	Гидрокортизон	50 % вес/объем
Ибупрофен	Ибупрофен	5 % вес/объем
Имодиум	Лоперамида гидрохлорид	5 % объемного соотношения
Каопектат	Аттапульгит	5 мг/мл
Метронидазол	Метронидазол	5 % вес/объем
Микостатин	Нистатин	50 % весового соотношения
Напросин	Напроксен натрия	2,2 мкмоль/мл
Новалүзид	Mg(OH) ₂ , Al(OH) ₃ и MgCO ₃	5 % вес/объем
Бацитрацин цинк- полимиксин В сульфат	Полиспорин/сульфат полимиксина В и бацитрацин цинк	50 % вес/объем
Пурсеннид	Сеннагликозиды	5 % вес/объем
Рексал, минеральное масло слабительное	Минеральное масло	50 % объемного соотношения

21.5 Исследование контаминации продуктами предыдущей реакции

Исследование проводилось с целью показать, что применение одноразовых автономных картриджей GeneXpert позволяет предотвратить контаминацию отрицательных образцов продуктами предыдущей реакции при их обработке в том же модуле GeneXpert после анализа высокоположительных образцов. Суть данного исследования состояла в том, что после анализа высокоположительной пробы Norovirus GII в том же модуле GeneXpert обрабатывались отрицательные пробы. Эту схему анализа повторяли 21 раз на двух модулях GeneXpert, проводя, в общей сложности, 42 цикла (20 положительных и 22 отрицательных образца). Во всех 19 положительных

образцах получен правильный результат **NORO GI НЕ ОБНАРУЖЕН (NORO GI NOT DETECTED)**; **NORO GII ОБНАРУЖЕН (NORO GII DETECTED)**; для одного положительного образца получен результат **ОШИБКА (ERROR)**. Во всех 22 отрицательных образцах получен правильный результат **NORO GI НЕ ОБНАРУЖЕН (NORO GI NOT DETECTED)**; **NORO GII НЕ ОБНАРУЖЕН (NORO GII NOT DETECTED)**.

22 Воспроизводимость

Панель из 7 образцов с различными концентрациями норовируса GI и норовируса GII была протестирована два раза на протяжении пяти дней двумя разными операторами в каждом из трех исследовательских центров (7 образцов x 2 раза в день x 5 дней x 2 оператора x 3 центра). В каждом из 3 исследовательских центров использовалась одна партия картриджей Xpert Norovirus. Тест Xpert Norovirus проводился в соответствии с процедурой Xpert Norovirus. Результаты обобщены в Табл. 11.

Табл. 11. Обзор результатов по воспроизводимости

ID образца	Центр 1	Центр 2	Центр 3	Всего
Отриц.	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
GI - высокоотрицат.	30,0 % (6/20)	15,0 % (3/20)	30,0 % (6/20)	25,0 % (15/60)
GI - низкополож.	100 % (20/20)	85,0 % (17/20)	95,0 % (19/20)	93,3 % (56/60)
GI - умереннополож.	100 % (19/19)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (59/59) ^a
GI - высокоотрицат.	25,0 % (5/20)	30,0 % (6/20)	35,0 % (7/20)	30,0 % (18/60)
GI - низкополож.	100 % (20/20)	95,0 % (19/20)	90,0 % (18/20)	95,0 % (57/60)
GI - умереннополож.	95,0 % (19/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	98,3% (59/60)

^a Один образец дважды дал неопределенный результат

Воспроизводимость теста Xpert Norovirus также оценивали по флуоресцентному сигналу, выраженному в Ct, для каждой обнаруживаемой целевой последовательности. Средние значения, стандартное отклонение (CO) и коэффициент вариации (KB) между центрами, днями и операторами для каждого компонента панели представлены в Табл. 12.

Табл. 12. Сводные данные по воспроизводимости

Образец	Канал теста (анализируемое вещество)	N ^a	Среднее Ct	Между центрами		Между днями		Между операторами		В пределах теста		Всего	
				CO	KB (%)	CO	KB (%)	CO	KB (%)	CO	KB (%)	CO	KB (%)
Отриц.	SPC	60	31,9	0,17	0,5	0,06	0,2	0,06	0,2	0,26	0,8	0,32	1,0
GI - высокоотрицат.	GI	60	39,4	0	0	0,46	1,2	0	0	1,80	4,6	1,86	4,7
GI - низкополож.	GI	59	37,9	0,29	0,8	0	0	0,36	1,0	1,03	2,7	1,13	3,0
GI - умеренноположит. ^b	GI	57	34,7	0,09	0,2	0,07	0,2	0	0	0,41	1,2	1,01	1,2
GII - высокоотрицат.	GII	54	38,9	0	0	0	0	0,77	2,0	1,77	4,5	1,93	5,0
GII - низкополож.	GII	60	37,3	0	0	0	0	0,58	1,6	1,33	3,6	1,45	3,9
GII - умереннополож. ^b	GII	59	34,3	0,22	0,6	0	0	0	0	0,45	1,3	0,50	1,5

^a Результаты с ненулевым значением Ct из 60 результатов

^b n=3 образцы с отклоняющимся значением (2 образца умеренноположит. GI и 1 образец умеренноположит. GII), в которых отклонения от среднего значения превышали 5, считались выпадающими и исключались из анализа.

23 Прецизионность системы

Внутреннее исследование компании по оценке прецизионности проводилось для сравнения функциональных характеристик систем GeneXpert Dx и GeneXpert Infinity. Панель из 7 образцов с различными концентрациями норовируса GI и норовируса GII была протестирована двумя операторами на протяжении 12 дней. Каждый оператор выполнял по четыре серии каждой панели образцов в день на каждой из двух систем приборов (7 образцов x 4 раза в день x 12 дней x 2 оператора x 2 системы приборов). В исследовании использовали три партии картриджей Xpert Norovirus. Тест Xpert Norovirus проводился в соответствии с процедурой Xpert Norovirus. Результаты обобщены в Табл. 13.

Табл. 13. Сводка результатов прецизионности системы приборов (Dx по сравнению с Infinity)

Образец	GeneXpert Dx			Infinity			Общий % совпадений на пробу
	Операт. 1	Операт. 2	Прибор	Операт. 1	Операт. 2	Прибор	
Отриц.	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (192/192)
GI - высокоотрицат.	14,6 % (7/48)	10,4 % (5/48)	12,5 % (12/96)	14,6 % (7/48)	25,0 % (12/48)	19,8 % (19/96)	16,2 % (31/192)
GI - низкополож.	100 % (48/48)	97,9 % (47/48)	99,0 % (95/96)	97,9 % (47/48)	97,9 % (47/48)	97,9 % (94/96)	98,4 % (189/192)
GI - умереннополож.	100 % ^a (47/47)	100 % (48/48)	100 % (95/95)	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (191/191)
GII - высокоотрицат.	25,0 % (12/48)	29,2 % (14/48)	27,1 % (26/96)	29,2 % (14/48)	31,3 % (15/48)	30,2 % (29/96)	28,7 % (55/192)

Образец	GeneXpert Dx			Infinity			Общий % совпадений на пробу
	Операт. 1	Операт. 2	Прибор	Операт. 1	Операт. 2	Прибор	
GII - низкочислополож.	89,6 % (43/48)	89,6 % (43/48)	89,6 % (86/96)	83,3 % (40/48)	95,7 % (44/46)	87,5 % (84/96)	88,5 % (170/192)
GII - умереннополож.	100 % (48/48)	100 % (48/48)	100 % (96/96)	100 % (48/48)	100 % ^b (47/47)	100 % (95/95)	100 % (191/191)

^a Один умеренноположительный образец GI не подвергался анализу.

^b Один умеренноположительный образец GII был имел результат «неопределенный» и не подвергался повторному анализу.

Прецизионность теста Xpert Norovirus также оценивали по флуоресцентному сигналу, выраженному в Ct, для каждой обнаруживаемой целевой последовательности. Средние значения, а также стандартное отклонение (CO) и коэффициент вариации (KB) между приборами, партиями, днями и операторами, и в пределах тестов для каждого компонента панели представлены в Табл. 14.

Табл. 14. Сводные данные по прецизионности

Образец	Канал теста (анализируемое вещество)	N ^a	Среднее Ct	Между приборами		Между партиями		Между днями		Между операторами		В пределах теста		Всего	
				CO	KB (%)	CO	KB (%)	CO	KB (%)	CO	KB (%)	CO	KB (%)	CO	KB (%)
Отриц.	SPC	192	31,8	0	0	0,44	1,4	0	0	0,08	0,2	0,39	1,2	0,59	1,9
GI - высокоотрицат.	GI	188	38,6	0,19	0,5	0,25	0,7	0,18	0,5	0	0	1,40	3,6	1,45	3,8
GI - низкочислополож.	GI	192	37,1	0,39	1,1	0,26	0,7	0,19	0,5	0	0	0,95	2,6	1,08	2,9
GI - умереннополож.	GI	191	34,0	0	0	0,36	1,1	0,04	0,1	0,08	0,2	0,38	1,1	0,53	1,6
GII - высокоотрицат.	GII	178	38,7	0,16	0,4	0	0	0,29	0,7	0	0	2,03	5,3	2,06	5,3
GII - низкочислополож.	GII	187	37,6	0,10	0,2	0	0	0	0	0,45	1,2	1,65	4,4	1,71	4,6
GII - умереннополож.	GII	191	34,3	0	0	0,09	0,2	0	0	0,17	0,5	0,42	1,2	0,46	1,3

^a Результаты с ненулевым значением Ct из 192 результатов.

24 Литература

1. Kapikian AZ, et al. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol* 1972;10(5):1075-1081.
2. Mead PS, et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis.* 1999;5(5):607-625.
3. Kaplan JE, et al. An outbreak of acute nonbacterial gastroenteritis in a nursing home: demonstration of person-to-person transmission by temporal clustering of cases. *Am J Epidemiol* 1982; 116(6):940-948.
4. Johnston CP, et al. Outbreak management and implications of a nosocomial Norovirus outbreak. *Clin Infect Dis.* 2007; 45(5):534-540.
5. Corwin AL, et al. Shipboard impact of a probable Norwalk virus outbreak from coastal Japan. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61(6):898-903.
6. Leshem E, et al. Effects and Clinical Significance of GII.4 Sydney Norovirus, United States, 2012-2013. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(8):1231-1238.

7. Straub TM, et al. In vitro cell culture infectivity assay for human noroviruses. *Emerg Inf Dis*. 2007; 13(3): 396-403.
8. CDC. Updated Norovirus Outbreak Management and Disease Prevention Guidelines. *MMWR Recomm Rep*. 2011; 60(No. RR-3):1-15.
9. Okitsu-Negishi S, et al. Detection of norovirus antigens from recombinant virus-like particles and stool samples by a commercial norovirus enzyme-linked immunosorbent assay kit. *J Clin Microbiol* 2006;44(10):3784-3786.
10. Burton-MacLeod JA, et al. Evaluation and comparison of two commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits for detection of antigenically diverse human noroviruses in stool samples. *J Clin Microbiol* 2004;42(6):2587-2595.
11. Dimitriadis A, et al. Evaluation of a commercial enzyme immunoassay for detection of norovirus in outbreak specimens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005;24(9):615-618.
12. Richards AF, et al. Evaluation of a commercial ELISA for detecting Norwalk-like virus antigen in faeces. *J Clin Virol* 2003;26(1):109-115.
13. Morillo SG, et al. Norovirus 3rd generation kit: an improvement for rapid diagnosis of sporadic gastroenteritis cases and valuable for outbreak detection. *J Virol Methods* 2011;173(1):13-16.
14. Wilhelmi de Cal I, et al. Evaluation of two commercial enzyme immunoassays for the detection of norovirus in faecal samples from hospitalised children with sporadic acute gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect* 2007;13(3):341-343.
15. Costantini V, et al. Diagnostic accuracy and analytical sensitivity of IDEIA Norovirus assay for routine screening of human norovirus. *J Clin Microbiol* 2010;48(8):2770-2778.
16. MacCannell T, et al. Guideline for the prevention and control of Norovirus Gastroenteritis outbreaks in healthcare settings. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011; 32(10):939-969.
17. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories (см. последнюю редакцию по ссылке <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>).
18. Институт клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute) [ранее — Национальный комитет по клиническим и лабораторным стандартам (National Committee for Clinical Laboratory Standards)]. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Документ M29 (см. последнюю редакцию, доступную по ссылке <http://shopping.netsuite.com/clsi>). CLSI, Wayne, PA.
19. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2006).
20. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

25 Расположение штаб-квартиры корпорации Cepheid

Головной офис

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Европейский офис

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

26 Техническая поддержка

Прежде чем обращаться к нам

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии

- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

США

Телефон: + 1 888 838 3222

Электронный адрес: + 1 888 838 3222

Франция

Телефон: + 33 563 825 319

Электронный адрес: support@cepheid.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Cepheid доступна на нашем веб-сайте: www.cepheid.com/en/support/contact-us

27 Условные обозначения

Символ	Значение
	Номер по каталогу
	Медицинское устройство для диагностики <i>In vitro</i>
	Не использовать повторно
	Код партии
	Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно!
	Производитель
	Место производства
	Содержимого достаточно для проведения <i>n</i> тестов
	Контроль
	Срок годности
	Марка CE – Европейское соответствие
	Температурные ограничения
	Биологическая опасность

Символ	Значение
	Предостережение



Cepheid AB
 Röntgenvägen 5
 SE-171 54 Solna
 Швеция



28 История изменений

Описание изменений: начиная с версии 301-2440 ред. F. до ред. G.

Цель: Удалены случаи интерпретирования слова «тест» как торговой марки.

Редакция	Описание изменения
Во всем документе	Употребление слова «assay» в качестве названия торговой марки заменено на «тест (assay)».
Раздел 28	Добавлен раздел истории изменений.

Xpert® vanA/vanB

REF GXVANA/B-CE-10

Trademarks, Patents and Copyright Statements

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, and Xpert® are trademarks of Cepheid.

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

Copyright © Cepheid 2020. All rights reserved.

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

Cepheid®, логотип Cepheid, GeneXpert® и Xpert® являются товарными знаками компании Cepheid.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩИМ ВКЛАДЫШЕМ-ИНСТРУКЦИЕЙ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

Copyright © Cepheid, 2020 г. Все права защищены.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Изготовлено в Швеции

Xpert® vanA/vanB

Только для диагностического применения *in vitro*

1. Фирменное название

Xpert® vanA/vanB

2. Общепринятое название

Тест Xpert vanA/vanB

3. Назначение

Тест Cepheid Xpert vanA/vanB, выполняемый на системе приборов GeneXpert®, представляет собой диагностический тест *in vitro* для быстрого качественного определения генов резистентности к ванкомицину (*vanA/vanB*) в ректальных и перианальных образцах, полученных путем соскоба у пациентов, подверженных риску колонизации кишечника бактериями, резистентными к ванкомицину. В данном тесте используется автоматизированная технология полимеразной цепной реакции (ПЦР) для обнаружения генов *vanA* и *vanB*, которые могут быть связаны с присутствием ванкомицин-резистентных энтерококков (ВРЭ). Тест *vanA/vanB* предназначен для применения в качестве вспомогательного средства при распознавании, профилактике и контроля случаев колонизации ванкомицин-резистентными микроорганизмами в медицинских учреждениях. Тест Xpert vanA/vanB не предназначен ни для диагностики инфекций, вызванных ВРЭ, ни для ведения или контроля лечения инфекций, вызванных ВРЭ. Сопутствующее культуральное исследование необходимо только с целью выделения микроорганизмов для эпидемиологического типирования, определения чувствительности к антибактериальным препаратам и дальнейшей подтверждающей идентификации ВРЭ.

4. Краткие сведения и разъяснения

Ванкомицин-резистентные энтерококки (ВРЭ) стали основной причиной внутрибольничных инфекций в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). Энтерококки вызывают более чем третью часть инфекций у пациентов ОРИТ, согласно результатам проведенного в 2004 г. национального опроса по нозокомиальным инфекциям (National Nosocomial Infection Survey)¹. Инфекции, вызванные ВРЭ, связаны с более высокой заболеваемостью и смертностью, увеличением сроков пребывания в медицинском учреждении и затрат на медицинскую помощь в условиях стационара. Риск колонизации ВРЭ связывают с использованием антибиотиков различных классов, включая гликопептиды, цефалоспорины третьего поколения и антибиотики, обладающие высокой активностью против анаэробных микроорганизмов. ВРЭ распространяются путем контакта с колонизированными или инфицированными лицами в медицинском учреждении. Поэтому многие медицинские учреждения реализуют в настоящее время программы активного наблюдения для выявления носителей ВРЭ и надлежащей их изоляции, с целью ограничить распространение данного патогенного микроорганизма. В рамках программ активного наблюдения выполняется скрининг пациентов путем тестирования перианальных или ректальных соскобов — при поступлении, еженедельно в период пребывания в ОРИТ, после получения антибактериальной терапии и при выписке.

5. Принципы проведения процедуры

Приборная система GeneXpert автоматизирует и интегрирует процессы очистки образцов, амплификации нуклеиновых кислот и обнаружения целевой последовательности в простых или сложных образцах с использованием тестов ПЦР в режиме реального времени или ПЦР-РВ. Система состоит из прибора, персонального компьютера и предустановленного программного обеспечения для анализа собранных образцов и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи Xpert, которые содержат реактивы для ПЦР и в которых происходит ПЦР-амплификация. Поскольку картриджи представляют собой замкнутые системы для проведения реакции, исключена перекрестная контаминация между образцами. Полное описание системы представлено в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*.

Набор теста Xpert vanA/vanB содержит реактивы для обнаружения генов резистентности *vanA* и *vanB*, а также контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC), предназначенный для обеспечения правильной обработки целевых бактерий и выявления ингибитора (-ов) реакции ПЦР. Контроль зондов (Probe Check Control, PCC) предназначен для проверки правильности регидратации реактивов, заполнения пробирки для проведения ПЦР в картридже, целостности зондов и стабильности красителя.

Праймеры и зонды теста Xpert vanA/vanB позволяют обнаруживать нуклеотидные последовательности в генах резистентности к ванкомицину/тейкопланину (vanA, vanB).

6. Реактивы и приборы

6.1 Комплект поставки



Набор теста vanA/vanB содержит реактивы в количестве, достаточном для анализа 10 образцов или проб контроля качества.

В набор входят:

Картриджи теста Xpert vanA/vanB со встроенными реакционными пробирками

- Гранулы 1, 2 и 3 (лиофилизированные)
- Реактив 1
- Реактив 2 (гидроксид натрия)

10

1 каждого из типов в одном картридже

3,0 мл в одном картридже

3,0 мл в одном картридже

Реактив для образцов Компакт-диск

- Файл с описанием теста (assay definition file, ADF)
- Инструкцию по импортированию файла ADF в программное обеспечение GX
- Инструкция по применению (вкладыш-инструкция)

1 x 1,7 мл

1 в каждом наборе

Примечание

Паспорта безопасности вещества (Safety Data Sheet, SDS) можно найти по адресам www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com на вкладке **ПОДДЕРЖКА (SUPPORT)**.

Примечание

Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул этого теста, использовалась только плазма бычьей крови животных, выращенных в США. Производство БСА также осуществлялось в США. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время обработки не происходило смешивания материала с другими материалами животного происхождения

6.2 Хранение и обращение



- Храните картриджи и реактивы теста Xpert vanA/vanB при температуре 2–28 °C.
- Не используйте реактивы или картриджи с истекшим сроком годности.
- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение анализа.
- Используйте картридж и реактивы в течение 30 минут после открывания крышки.
- Не используйте помутневшие или изменившие цвет реактивы.

7. Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Система GeneXpert Dx или GeneXpert Infinity (каталожный номер зависит от конфигурации): прибор GeneXpert, компьютер (с патентованным программным обеспечением GeneXpert версии 1.6b или выше), устройство считывания штрих-кода и руководство оператора.
- Принтер: если необходим принтер, обратитесь в службу поддержки клиентов компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.
- Вихревая мешалка
- Одноразовые стерильные пипетки для переноса жидкостей
- Устройство для сбора образцов Cepheid (каталожный номер Cepheid 900-0370)

8. Предупреждения и меры предосторожности



- При работе со всеми биологическими образцами, в том числе и с использованными картриджами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются агентством «Центры по контролю и профилактике заболеваний США» (U.S. Centers for Disease Control and Prevention) и Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute).^{2, 3}
- Следуйте принятым в учреждении правилам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.
- Тест Xpert vanA/vanB не дает результатов, пригодных для определения чувствительности. Для проведения теста на чувствительность требуется дополнительное время для культивирования.
- Не заменяйте реактивы теста Xpert vanA/vanB другими реактивами.
- Крышку картриджа из набора теста Xpert vanA/vanB можно открывать только для внесения образца, а также для отбора образца при проведении повторного анализа.
- Не используйте картридж, который упал, или который встряхивали после введения в него образца.
- Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- Каждый одноразовый картридж Xpert vanA/vanB применяется для проведения только одного теста. Не используйте уже применявшиеся картриджи повторно.
- Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, при обращении с ними необходимо соблюдать стандартные меры предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реактивов следуйте принятым в вашем учреждении правилам защиты окружающей среды. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых национальных или региональных процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе правила не дают ясных указаний по правильному удалению в отходы, биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их удаления.
- Набор Xpert vanA/vanB следует хранить при температуре 2–28 °C.
- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение анализа.



9. Опасные химические факторы^{7,8}

- Символ опасности СГС ООН:
- Сигнальное слово: ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ
- Заявления об опасности СГС ООН**
 - Вредно при проглатывании
 - Вызывает раздражение кожи
 - Вызывает серьезное раздражение глаз
- Меры предосторожности СГС ООН**



- Профилактика**
 - После использования тщательно вымыть.
 - Не принимать пищу, не пить и не курить в процессе использования этого продукта.
 - Избегать попадания в окружающую среду.
 - Пользоваться защитными перчатками, защитной одеждой, средствами защиты глаз/лица.
- Реагирование**
 - ДЕЙСТВИЯ ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ.** Промыть большим количеством воды с мылом.
 - Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед повторным использованием.
 - Требуется специальная обработка. См. дополнительную информацию о первой помощи.
 - При раздражении кожи: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.

- **ДЕЙСТВИЯ ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА СЛЕДУЮЩИЕ.** Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь, и если это легко сделать. Продолжить промывание.
- Если раздражение глаз не проходит: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
- **ДЕЙСТВИЯ ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ.** При плохом самочувствии немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту/терапевту.
- Прополоскать рот.
- **Хранение и удаление в отходы**
- Удаление в отходы содержимого и/или тары должно осуществляться в соответствии с местными, региональными, государственными и/или международными нормами.

10. Сбор, транспортировка и хранение образцов

Для получения надлежащего образца тщательно следуйте инструкциям данного раздела.

Ректальные образцы:

1. Получите образец путем соскоба, используя устройство для сбора образцов Serpheid (каталожный номер Serpheid 900-0370).
2. Осторожно введите зонд-тампон примерно на 2,5 см глубже уровня анального сфинктера (так, чтобы не был виден ватный наконечник) и осторожно вращайте его 3 раза, чтобы обеспечить равномерное распределение образца на обоих зондах-тампонах.
3. Поместите зонды-тампоны обратно в контейнер для образца.
4. Промаркируйте контейнер идентификатором образца и передайте его в лабораторию.
5. Образцы, полученные путем соскоба, следует хранить при температуре 2–8 °C. Образцы на зондах-тампонах стабильны до 5 суток при температуре хранения 2–8 °C.



Перианальные образцы:

1. Получите образец путем соскоба, используя устройство для сбора образцов Serpheid (каталожный номер Serpheid 900-0370).
2. Разведите ягодичцы, чтобы получить доступ к перианальной области, и затем обоими зондами-тампонами получите соскоб с перианальной области, стараясь обработать как можно большую площадь поверхности.
3. Поместите зонды-тампоны обратно в контейнер для образца.
4. Промаркируйте контейнер идентификатором образца и передайте его в лабораторию.
5. Образцы, полученные путем соскоба, следует хранить при температуре 2–8 °C. Образцы на зондах-тампонах стабильны до 5 суток при температуре хранения 2–8 °C.



11. Процедура

11.1 Подготовка картриджа

Важно! Тест следует начать не позднее чем через 30 минут после введения реактива для образцов в картридж.

Ректальные/перианальные образцы на зондах-тампонах:

Примечание Для тестирования нужен только один зонд-тампон.

Порядок внесения образца в картридж (Xpert vanA/vanB):

1. Извлеките картридж и реактив для образцов из набора.
2. Извлеките один зонд-тампон из транспортировочного контейнера.
3. Вставьте зонд-тампон в пробирку, содержащую реактив для образцов.

Примечание Для минимизации риска контаминации используйте стерильную марлю.

4. Удерживая зонд-тампон за стержень возле ободка пробирки, приподнимите зонд-тампон на несколько миллиметров от дна пробирки и придавите стержень к краю пробирки, чтобы отломать его. Проследите за тем, чтобы зонд-тампон был достаточно коротким, чтобы можно было плотно закрыть пробирку.
5. Закройте крышку и перемешайте содержимое на вихревой мешалке в течение 10 секунд на высокой скорости.
6. Откройте крышку картриджа. Пользуясь стерильной одноразовой пипеткой для переноса, переместите все содержимое емкости с реактивом для образцов в камеру для образца картриджа теста Xpert vanA/vanB.
7. Закройте крышку картриджа.

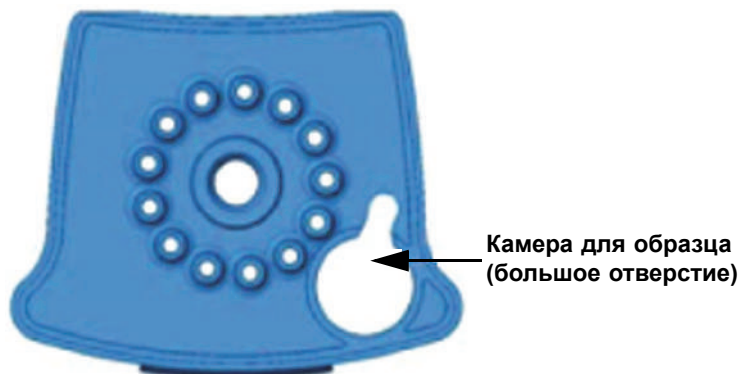


Рисунок 1. Картридж теста Xpert vanA/vanB (вид сверху)

11.2 Запуск теста

Важно!

Перед запуском теста проследите за тем, чтобы в программное обеспечение был импортирован файл с описанием теста Xpert vanA/vanB.

В данном разделе перечисляются основные действия при выполнении теста. Подробные инструкции приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемой модели.

1. Включите прибор GeneXpert:
 - При использовании прибора GeneXpert Dx вначале следует включить прибор GX Dx, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически, или же может потребоваться двойной щелчок по ярлыку программного обеспечения GeneXpert Dx на рабочем столе Windows®.
 - или
 - При использовании прибора GeneXpert Infinity следует включить прибор. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически либо после двойного щелчка на ярлыке программного обеспечения Xpertise, находящегося на рабочем столе Windows.
2. Войдите в программное обеспечение приборной системы GeneXpert, используя свое имя пользователя и пароль.
3. В окне системы GeneXpert щелкните **Создать анализ (Create Test)** (для GeneXpert Dx) или **Заказы (Orders)**, а затем **Заказать анализ (Order Test)** (для Infinity).
4. Отсканируйте или введите вручную «ID пациента» (Patient ID) (не обязательно). Если «ID пациента» (Patient ID) набирается вручную, проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID пациента» (Patient ID) связывается с результатом теста и указывается в окне «Просмотреть результаты» (View Results).
5. Отсканируйте или введите вручную «ID образца» (Sample ID). Если «ID образца» (Sample ID) набирается вручную, проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID образца» (Sample ID) связывается с результатами анализа и указывается в окне Просмотреть результаты (View Results) и во всех отчетах. Откроется диалоговое окно «Сканировать штрих-код картриджа» (Scan Cartridge Barcode).
6. Отсканируйте штрих-код на картридже теста Xpert vanA/vanB. На основе информации, считанной со штрих-кода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «Выбрать тест» (Select Assay), «ID партии реактива» (Reagent Lot ID), «С/Н картриджа» (Cartridge SN) и «Срок годности» (Expiration Date).
7. Щелкните **Начать анализ (Start Test)** (для GeneXpert Dx) или **Отправить (Submit)** (для Infinity). В открывшемся на экране диалоговом окне введите пароль.

8. При использовании системы GeneXpert Infinity поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, будет выполнен тест, а использованный картридж будет удален в контейнер для отходов.

или

Для прибора GeneXpert Dx:

- A. Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
- B. Закройте дверцу. После этого начинается анализ, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса анализа индикаторная лампа выключается.
- C. Перед открытием модуля и извлечением картриджа дождитесь разблокирования системой замка дверцы.
- D. Использованные картриджи следует удалять в подходящие контейнеры для сбора отходов образцов согласно стандартным правилам, принятым в вашем учреждении.

12. Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечисляются основные действия по просмотру и печати результатов. Более подробные инструкции по просмотру и печати результатов см. в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемого прибора.

1. Для просмотра результатов выберите значок **Просмотреть результаты (View Results)**.
2. По завершении теста нажмите кнопку **Отчет (Report)** в окне «Просмотреть результаты» (View Results) для просмотра отчета и (или) получения отчета в формате PDF.

13. Контроль качества

13.1 Встроенные контроли качества

CONTROL

В каждый тест входит контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC) и контроль зондов (Probe Check Control, PCC).

- **Контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC)** — позволяет удостовериться в правильности обработки образца. SPC содержит споры *Bacillus globigii* в форме сухой лепешки из спор; они имеются в каждом картридже для подтверждения правильности обработки бактерий в образце. SPC позволяет верифицировать лизис бактерий, резистентных к ванкомицину (если они присутствуют в образце), и подтвердить правильность обработки образца. Кроме того, этот контроль позволяет выявить специфическое для данного образца ингибирование реакции при использовании метода ПЦР в режиме реального времени. Результат для контроля SPC должен быть положительным при отрицательном результате анализа образца и может быть как положительным, так и отрицательным при положительном результате анализа образца. Контроль SPC считается пройденным, если его результат соответствует валидированным критериям приемлемости.
- **Контроль зондов (probe check control, PCC)** — перед запуском ПЦР система GeneXpert® Dx измеряет флуоресцентный сигнал от зондов для отслеживания регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль зондов считается пройденным, если его результат соответствует установленным критериям приемлемости.

14. Интерпретация результатов

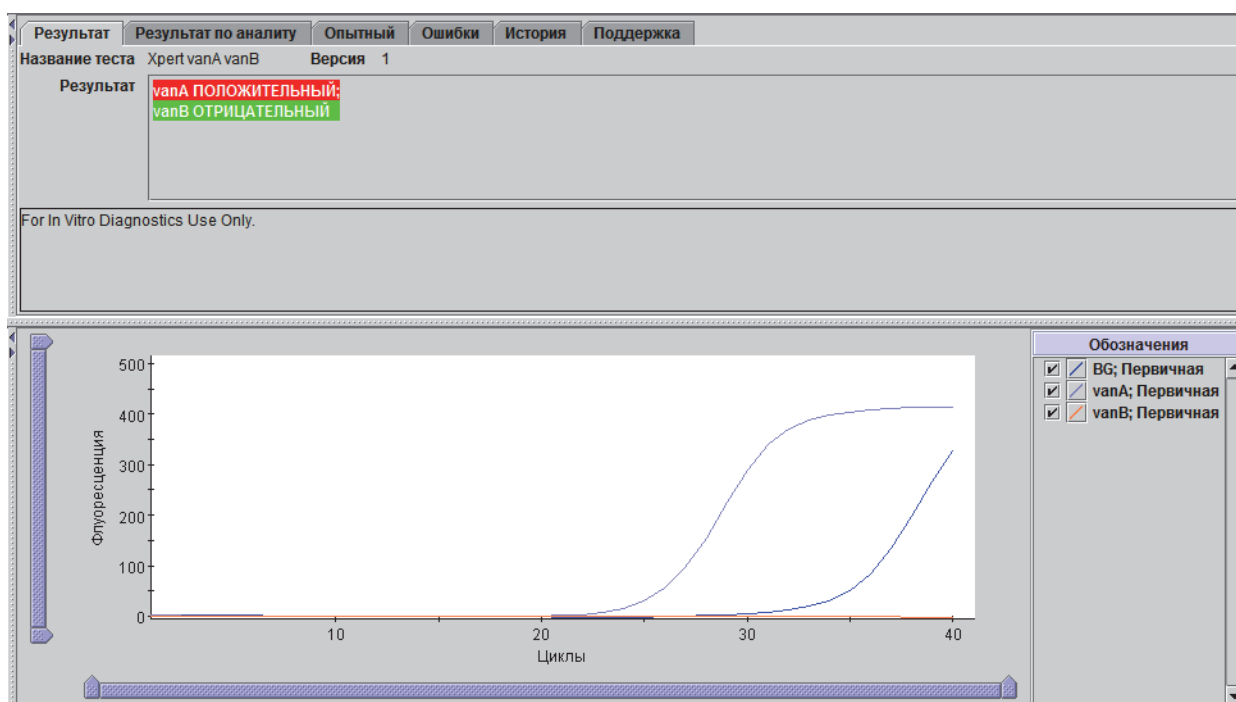
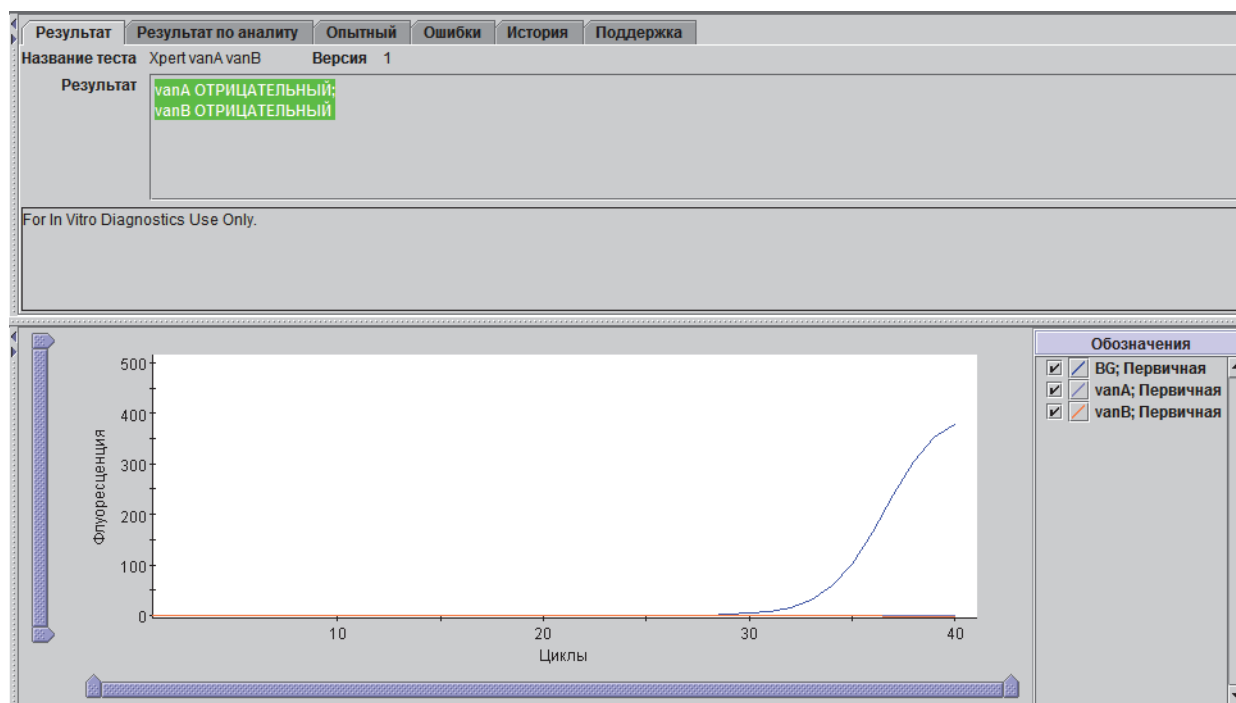
Результаты интерпретируются системой GeneXpert на основании измеренных флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета; они отображаются в окне «Просмотреть результаты» (View Results) (Рисунок 2, Рисунок 3, Рисунок 4 и Рисунок 5). Возможны следующие результаты:

Таблица 1. Результаты и их интерпретация

Результат	Интерпретация
vanA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (vanA POSITIVE) Рисунок 2	Целевая последовательность ДНК <i>vanA</i> обнаружена. <ul style="list-style-type: none"> <i>vanA</i> ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (<i>vanA</i> POSITIVE) — целевая последовательность <i>vanA</i> имеет Ct в действительном диапазоне, и конечная точка находится выше установленного минимума. SPC — Н/П (неприменимо); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевой последовательности <i>vanA</i> может конкурировать с этим контролем. Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
vanB ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (vanB POSITIVE) Рисунок 4	Целевая последовательность ДНК <i>vanB</i> обнаружена. <ul style="list-style-type: none"> <i>vanB</i> ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (<i>vanB</i> POSITIVE) — целевая последовательность <i>vanB</i> имеет Ct в действительном диапазоне, и конечная точка находится выше установленного минимума. SPC — Н/П (неприменимо); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевой последовательности <i>vanB</i> может конкурировать с этим контролем. Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
vanA ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ, vanB ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (vanA POSITIVE, vanB POSITIVE)	Целевые последовательности ДНК <i>vanA</i> и <i>vanB</i> обнаружены. <ul style="list-style-type: none"> <i>vanA</i> ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (<i>vanA</i> POSITIVE) — целевая последовательность <i>vanA</i> имеет Ct в действительном диапазоне, и конечная точка находится выше установленного минимума. <i>vanB</i> ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ (<i>vanB</i> POSITIVE) — целевая последовательность <i>vanB</i> имеет Ct в действительном диапазоне, и конечная точка находится выше установленного минимума. SPC — Н/П (неприменимо); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей <i>vanA</i> и (или) <i>vanB</i> может конкурировать с этим контролем. Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (NEGATIVE) Рисунок 3	Целевые последовательности ДНК <i>vanA</i> и <i>vanB</i> не обнаружены. SPC соответствует критериям приемлемости. <ul style="list-style-type: none"> ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (NEGATIVE) — не обнаружено целевых последовательностей ДНК <i>vanA</i> или <i>vanB</i>. SPC — ПРОЙДЕН (PASS); Ct для SPC находится в действительном диапазоне, и конечная точка находится выше установленного минимума. Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.

Таблица 1. Результаты и их интерпретация

Результат	Интерпретация
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)	<p>Присутствие или отсутствие целевой последовательности <i>vanA/vanB</i> не может быть определено, повторите тест согласно инструкциям, приведенным ниже в разделе «Процедура повторного анализа». Результат SPC не соответствует критериям приемлемости, процесс обработки образца прошел ненадлежащим образом или ПЦР была ингибирована.</p> <ul style="list-style-type: none"> НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) — невозможно установить наличие или отсутствие ДНК <i>vanA</i> или <i>vanB</i>. SPC — НЕ ПРОЙДЕН (FAIL); результат определения целевой последовательности <i>vanA</i> и <i>vanB</i> отрицательный, Ct SPC находится за пределами действительного диапазона, и конечная точка находится ниже заданного минимального значения. Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
ОШИБКА (ERROR) Рисунок 5	<p>Присутствие или отсутствие целевой последовательности <i>vanA/vanB</i> не может быть определено, повторите тест согласно инструкциям, приведенным ниже в разделе «Процедура повторного анализа». Проверка зондов не пройдена, вероятно, вследствие ненадлежащего заполнения реакционной пробирки, выявления проблемы нарушения целостности зондов или превышения пределов максимально допустимого давления.</p> <ul style="list-style-type: none"> <i>vanA</i> — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) <i>vanB</i> — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) SPC — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) Проверка зондов — НЕ ПРОЙДЕНА (FAIL)*; все или одна из проверок зондов не пройдены (-а). *Если проверка зондов пройдена, ошибка вызвана сбоем компонента системы.
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	<p>Присутствие или отсутствие целевой последовательности <i>vanA/vanB</i> не может быть определено, повторите тест согласно инструкциям, приведенным ниже в разделе «Процедура повторного анализа». Для предоставления результата собрано недостаточно данных (например, оператор прервал выполняющийся процесс теста).</p> <ul style="list-style-type: none"> <i>vanA</i> — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) <i>vanB</i> — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) SPC — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) Проверка зондов — Н/П (неприменимо)

Рисунок 2. Пример положительного результата на *vanA* и отрицательного результата на *vanB*Рисунок 3. Пример отрицательного результата на *vanA* и *vanB*

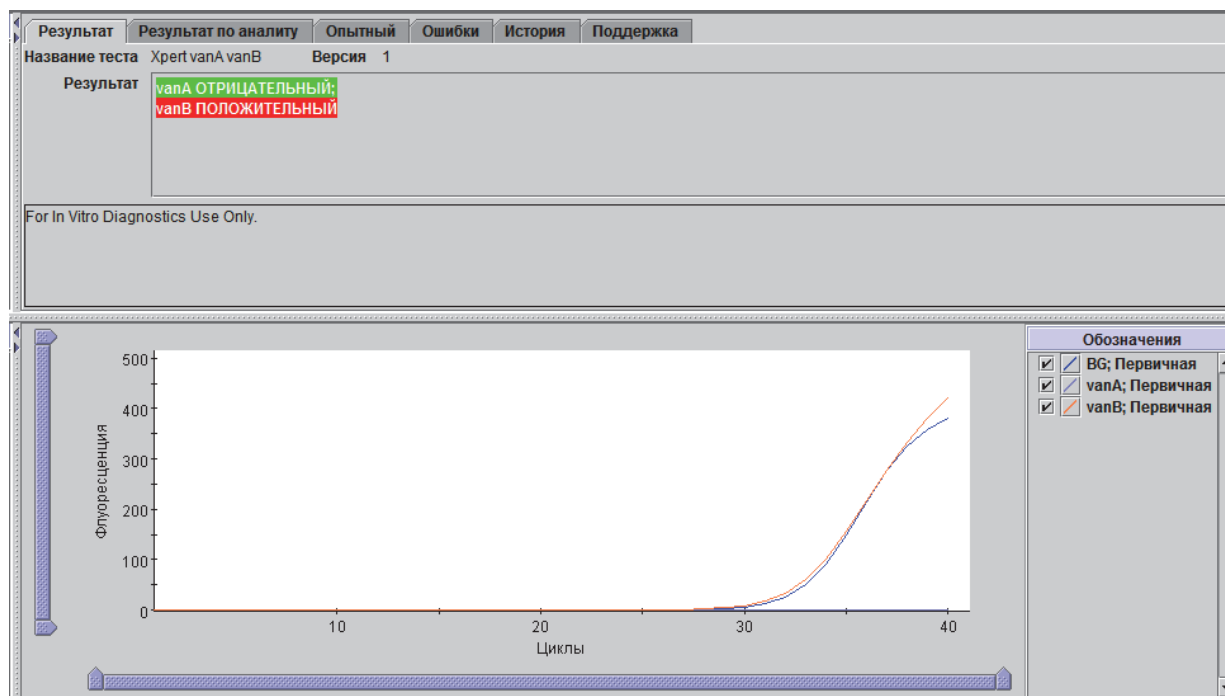
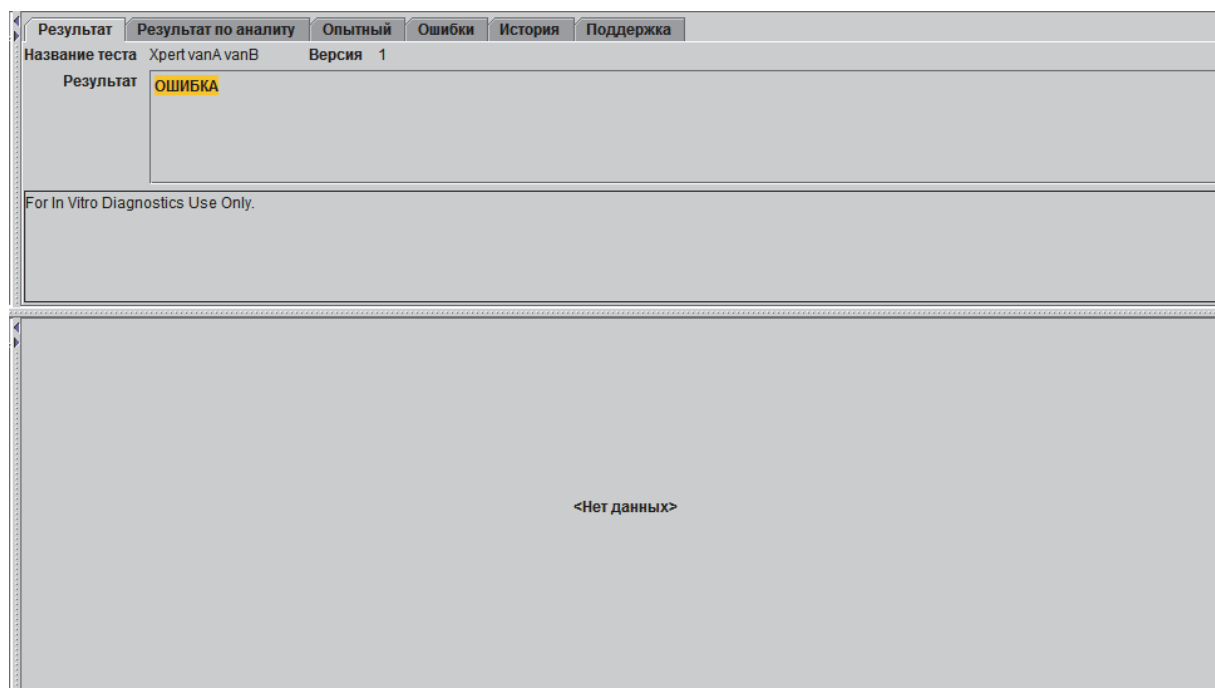
Рисунок 4. Пример отрицательного результата на *vanA* и положительного результата на *vanB*

Рисунок 5. Пример результата «Ошибка»

15. Повторное выполнение теста

15.1 Причины повторного выполнения теста

При получении любого из следующих результатов повторите тест в соответствии с указаниями, изложенными в Раздел 15.2, Процедура повторного анализа.

НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) результат указывает на то, что контроли SPC не пройдены. Образец не был обработан в тесте надлежащим образом, или произошло ингибирование ПЦР.

Результат **ОШИБКА (ERROR)** указывает на то, что не пройдена проверка зондов, и тест был прерван, причинами чего может быть ненадлежащее заполнение реакционной пробирки, нарушение целостности зондов или превышение максимально допустимого давления.

Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если лаборант прервал текущий процесс анализа.

15.2 Процедура повторного анализа

Для повторного выполнения теста не позднее чем через 3 часа после получения сомнительного результата возьмите новый картридж Xpert vanA/vanB (не используйте картридж повторно) и новый флакон с реактивом для образцов. Перенесите все остатки содержимого из камеры S в новый реактив для образцов. Перемешайте на вихревой мешалке и внесите все содержимое емкости с реактивом для образцов в камеру для образца нового картриджа Xpert vanA/vanB.

16. Ограничения

- Функциональные характеристики теста Xpert vanA/vanB прошли валидацию только с использованием процедур, описанных в данном вкладыше-инструкции. Внесение изменений в эти процедуры может нарушить функциональные характеристики теста. Результаты, полученные с использованием теста Xpert vanA/vanB, следует интерпретировать с учетом других лабораторных и клинических данных, имеющихся у врача.
- Ошибочные результаты анализа могут быть связаны с неправильным сбором образца, несоблюдением рекомендованной процедуры сбора образцов или инструкций по обращению и хранению, технической ошибкой, перемешиванием образцов или недостаточным для обнаружения при помощи данного теста количеством микроорганизмов в образце. Чтобы избежать получения ошибочных результатов, необходимо тщательно соблюдать указания, представленные в данном вкладыше-инструкции.
- Так как возможность обнаружения ВРЭ зависит от количества присутствующих в образце микроорганизмов, достоверность результатов зависит от правильности сбора образца, обращения с ним и его хранения.
- Необходимость повторного выполнения теста Xpert vanA/vanB, когда получены результаты **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)**, **ОШИБКА (ERROR)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)**, следует оценивать на основе принятой практики и правил медицинского учреждения. Необходимо предусмотреть альтернативные процедуры. Для культивирования оставшиеся образцы на зондах-тампонах должны помещаться в подходящие системы транспортировки, продолжительность культивирования должна находиться в пределах 4 суток.
- Положительный результат теста не обязательно свидетельствует о присутствии жизнеспособных микроорганизмов. Однако он указывает на возможность присутствия ВРЭ.
- Положительные результаты теста Xpert vanA/vanB в отношении vanB при отсутствии vanA могут быть связаны не с ВРЭ, а с другими микроорганизмами. Рекомендуется подтвердить наличие этих микроорганизмов культуральным методом.
- Как описывается в литературе, могут обнаруживаться некоторые аэробные и анаэробные бактерии, содержащие ген vanB^{4,5,6}, и данный тест потенциально способен их выявлять, однако клиническая значимость подобных результатов неизвестна. Предполагается, что анаэробные бактерии, содержащие ген vanB, могут служить резервуаром детерминант резистентности к ванкомицину¹, однако эту гипотезу еще предстоит доказать.
- Тест Xpert vanA/vanB следует использовать в качестве дополнения к другим имеющимся методам. Мутации или полиморфизм в участках связывания праймера или зонда могут отрицательно повлиять на возможность обнаружения новых или неизвестных вариантов ВРЭ и привести к получению ложно-отрицательных результатов.
- Не рекомендуется использовать другие системы сбора и транспортировки образцов, помимо устройства для сбора образцов Cerheid. Не проводилась оценка применения других устройств с данным тестом.
- Тест Xpert vanA/vanB позволяет определять ген vanA, а не микроорганизм; следовательно, положительные результаты могут быть получены и в отношении генов vanA, переносимых не энтерококками, а другими бактериями, такими как резистентные к ванкомицину штаммы Staphylococcus aureus.
- Поскольку при повторном тестировании происходит разведение образца, возможно получение ложно-отрицательных результатов повторного тестирования образцов, положительных на vanA и vanB и содержащих микроорганизмы в концентрации, равной или близкой к порогу обнаружения (LoD) теста Xpert vanA/vanB.
- На результаты может также повлиять сопутствующая антибиотикотерапия или ситуация, когда в образце присутствуют микроорганизмы в количестве ниже порога обнаружения теста.

17. Функциональные характеристики

17.1 Клинические функциональные характеристики

Функциональные характеристики теста Xpert *vanA/vanB* определяли в многоцентровом проспективном исследовании, которое проводилось в четырех медицинских учреждениях в США и одном исследовательском центре в Европе. Для этого выполняли сравнение теста Xpert *vanA/vanB* на системе GeneXpert (тест Xpert *vanA/vanB*) с культуральным методом. Для участия в исследовании брались образцы у лиц, для которых было показано и/или назначено исследование с культивированием согласно практике учреждения.

Один зонд-тампон использовали для исследования при помощи теста Xpert *vanA/vanB*. Другой зонд-тампон посылали в центральную микробиологическую лабораторию (за исключением центра в Европе). В центральной лаборатории зонд-тампон после получения инокулировали в желчно-эскулиновый агар с азидом натрия и с ванкомицином (в чашке Петри), и затем помещали в желчно-эскулиновый бульон с ванкомицином. Через 24 часа инкубации при температуре + 35 °C бульон пересеивали на желчно-эскулиновый агар с азидом натрия и с ванкомицином, культуры оценивали через 24 и 48 часов. После окрашивания по Граму и теста на пироглутамил аминопептидазную активность (PYR-теста), предполагаемые ВРЭ идентифицировали при помощи стрипов API20S (BioMérieux, Франция). Наличие *vanA* и (или) *vanB* устанавливали при помощи E-тестов (AB Biodisk, Швеция) для ванкомицина и тейкопланина.

17.2 Общие результаты

Всего 878 образцов, полученных путем ректального соскоба, были исследованы на ВРЭ при помощи теста Xpert *vanA/vanB*, и было выполнено сравнение с результатами, полученными методом прямого культивирования. Всего 878 образцов, полученных путем ректального соскоба, были исследованы на ВРЭ при помощи теста Xpert *vanA/vanB*, и было выполнено сравнение с результатами, полученными методом накопительного культивирования.

Всего 429 образцов, полученных путем перианального соскоба, были исследованы на ВРЭ при помощи теста Xpert *vanA/vanB*, и было выполнено сравнение с результатами, полученными методом прямого культивирования. Всего 430 образцов, полученных путем перианального соскоба, были исследованы на ВРЭ при помощи теста Xpert *vanA/vanB*, и было выполнено сравнение с результатами, полученными методом накопительного культивирования.

Сведения о чувствительности, специфичности, прогностической ценности положительного результата (PPV) и прогностической ценности отрицательного результата (NPV) теста Xpert *vanA/vanB* представлены в Таблица 2 и Таблица 3.

Таблица 2. Функциональные характеристики теста Xpert vanA/vanB в зависимости от типа образца, сравнение с результатами, полученными методом прямого культивирования

Тест Xpert vanA/vanB в сравнении с прямым культивированием; vanA при 95 % ДИ				
	Чувствительность	Специфичность	PPV	NPV
Перианальные	98,1 % (51/52) (89,7 % - 100,0 %)	93,4 % (352/377) (90,4 % - 95,7 %)	67,1 % (51/76) (55,4 % - 77,5 %)	99,7 % (352/353) (98,4 % - 100,0 %)
Ректальные	96,5 % (83/86) (90,1 % - 99,3 %)	91,5 % (725/792) (89,4 % - 93,4 %)	55,3 % (83/150) (47,0 % - 63,4 %)	99,6 % (725/728) (98,8 % - 99,9 %)
Всего	97,1 % (134/138) (92,7 % - 99,2 %)	91,2 % (1077/1169) (90,4 % - 93,6 %)	59,3 % (134/226) (52,6 % - 65,8 %)	99,6 % (1077/1081) (99,1 % - 99,9 %)
Тест Xpert vanA/vanB в сравнении с прямым культивированием; vanB при 95 % ДИ				
	Чувствительность	Специфичность	PPV	NPV
Перианальные	25 % (1/4) (0,6 % - 80,6 %) ^a	94,1 % (400/425) (91,4 % - 96,2 %)	3,8 % (1/26) (0,1 % - 19,6 %)	99,3 % (400/403) (97,8 % - 99,8 %)
Ректальные	100 % (13/13) (79,4 % - 100,0 %)	83,9 % (726/865) (81,3 % - 86,3 %)	8,6 % (13/152) (4,6 % - 14,2 %)	100 % (726/726) (99,6 % - 100,0 %)
Всего	82,4 % (14/17) (56,6 % - 96,2 %)	87,3 % (1126/1290) (85,3 % - 89,1 %)	7,9 % (14/178) (4,4 % - 12,8 %)	99,7 % (1126/1129) (99,2 % - 99,9 %)
Тест Xpert vanA/vanB в сравнении с прямым культивированием; vanA/vanB при 95 % ДИ				
	Чувствительность	Специфичность	PPV	NPV
Перианальные	92,9 % (52/56) (82,7 % - 98,0 %)	88,7 % (331/373) (85,1 % - 91,8 %)	55,3 % (52/94) (44,7 % - 65,6 %)	98,8 % (331/335) (97,0 % - 99,7 %)
Ректальные	99,0 % (96/97) (94,4 % - 100,0 %)	79,3 % (619/781) (76,2 % - 82,1 %)	37,2 % (96/258) (31,3 % - 43,4 %)	99,8 % (619/620) (99,1 % - 100,0 %)
Всего	96,7 % (148/153) (92,5 % - 98,9 %)	82,3 % (950/1154) (80,0 % - 84,5 %)	42,0 % (148/352) (36,8 % - 47,4 %)	99,5 % (950/955) (98,8 % - 99,8 %)

^a Основным фактором, способствовавшим низкой чувствительности (25 %) при определении vanB в перианальных образцах, было небольшое количество образцов, положительных на vanB по результатам исследования культуральным методом. В целом, распространенность vanB в исследуемой выборке пациентов была низкой.

Таблица 3. Функциональные характеристики теста Xpert vanA/vanB в зависимости от типа образца, сравнение с результатами, полученными методом накопительного культивирования

Тест Xpert vanA/vanB в сравнении с накопительным культивированием; vanA при 95 % ДИ				
	Чувствительность	Специфичность	PPV	NPV
Перианальные	90,6 % (58/64) (80,7 % - 96,5 %)	95,1 % (348/366) (92,3 % - 97,1 %)	76,3 % (58/76) (65,2 % - 85,3 %)	98,3 % (348/354) (96,3 % - 99,4 %)
Ректальные	92,0 % (103/112) (85,3 % - 96,3 %)	94,0 % (720/766) (92,1 % - 95,6 %)	69,1 % (103/149) (61,0 % - 76,4 %)	98,8 % (720/729) (97,7 % - 99,4 %)
Всего	91,5 % (161/176) (86,3 % - 95,2 %)	94,3 % (1068/1132) (92,8 % - 95,6 %)	71,6 % (161/225) (65,2 % - 77,4 %)	98,6 % (1068/1083) (97,7 % - 99,2 %)
Тест Xpert vanA/vanB в сравнении с накопительным культивированием; vanB при 95 % ДИ				
	Чувствительность	Специфичность	PPV	NPV
Перианальные	25 % (1/4) (0,6 % - 80,6 %) ^a	94,1 % (401/426) (91,5 % - 96,2 %)	3,8 % (1/26) (0,1 % - 18,6 %)	99,3 % (401/404) (97,8 % - 99,8 %)
Ректальные	100 % (13/13) (79,4 % - 100,0 %)	83,9 % (726/865) (81,3 % - 86,3 %)	8,6 % (13/152) (4,6 % - 14,2 %)	100 % (726/726) (99,6 % - 100,0 %)
Всего	82,4 % (14/17) (56,6 % - 96,2 %)	87,3 % (1127/1291) (85,4 % - 89,1 %)	7,9 % (14/178) (4,4 % - 12,8 %)	99,7 % (1127/1130) (99,2 % - 99,9 %)
Тест Xpert vanA/vanB в сравнении с накопительным культивированием; vanA/vanB при 95 % ДИ				
	Чувствительность	Специфичность	PPV	NPV
Перианальные	86,8 % (59/68) (76,4 % - 93,8 %)	90,3 % (327/362) (86,8 % - 93,2 %)	62,8 % (59/94) (52,2 % - 72,5 %)	97,3 % (327/336) (95,0 % - 98,8 %)
Ректальные	94,3 % (115/122) (88,5 % - 97,7 %)	81,2 % (614/756) (78,2 % - 83,9 %)	44,7 % (115/257) (38,6 % - 51,1 %)	98,9 % (614/621) (97,7 % - 99,5 %)
Всего	91,6 % (174/190) (86,6 % - 95,1 %)	84,2 % (941/1118) (81,9 % - 86,3 %)	49,6 % (174/351) (44,2 % - 54,9 %)	98,3 % (941/957) (97,3 % - 99,0 %)

^a Основным фактором, способствовавшим низкой чувствительности (25 %) при определении vanB в перианальных образцах, было небольшое количество образцов, положительных на vanB по результатам исследования культуральным методом. В целом, распространенность vanB в исследуемой выборке пациентов была низкой.

18. Аналитическая специфичность

Исследование проводилось с использованием 42 штаммов бактерий и грибов. Определяли количественное содержание микроорганизмов в образцах, после чего образцы исследовали при помощи теста Xpert vanA/vanB. Штаммы были получены из Американской коллекции типовых культур (American Type Culture Collection, ATCC), Коллекции культур Университета Гетеборга (Culture Collection University of Goteborg, CCUG), Немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, DSMZ) и Центров по контролю и профилактике заболеваний США (Centers for Disease Control and Prevention, CDC).

В исследовании использовали грам-положительные (22) и грам-отрицательные микроорганизмы (18), в том числе резистентные к антибиотикам штаммы *Pseudomonas* spp. и *Acinetobacter* spp., а также дрожжевые грибки (2). Дополнительно микроорганизмы были классифицированы на аэробные (24), анаэробные (14) и микроаэрофильные (2). Среди исследовавшихся видов имелись два (2) чувствительных к ванкомицину штамма *E. faecalis* и *E. faecium*.

Каждый штамм тестировали в трех повторностях при концентрациях от $8,5 \times 10^8$ до $2,3 \times 10^{10}$ КОЕ/зонд-тампон. Дрожжевые грибки тестировали в концентрации около 10^7 клеток на зонд-тампон. В исследовании использовали положительный и отрицательный контроли. В условиях исследования для всех изолятов были получены результаты «vanA ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (vanA NEGATIVE)» и «vanB ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (vanB NEGATIVE)». Аналитическая специфичность составила 100 %.

19. Аналитическая чувствительность

Были выполнены исследования по определению 95 % доверительного интервала аналитического порога обнаружения (LoD) *Enterococcus faecium* (vanA) и *Enterococcus faecalis* (vanB), разведенных в фекальном материале человеческого происхождения, для теста Xpert vanA/vanB. Фекальный материал представлял собой автоклавированные жидкие фекалии человека (отрицательные на vanA и на vanB по результатам теста Xpert vanA/vanB), разведенные трис-буфером в соотношении 1:10. Порог обнаружения определялся как наименьшее количество колониеобразующих единиц (КОЕ) на зонд-тампон в положительном образце, который можно воспроизводимо отличить от отрицательного образца с 95 % доверительным интервалом.

При определении аналитического порога обнаружения тестирование выполняли в 4–10 повторностях на каждое разведение. Для подтверждения порога обнаружения образцов, содержащих микроорганизмы в концентрации на уровне установленного порога обнаружения, исследовали в 20 повторностях.

В условиях данного исследования порог обнаружения теста Xpert vanA/vanB при исследовании материала, который имитировал образец, полученный путем ректального соскоба, составил 37 КОЕ для vanA и 112 КОЕ для vanB.

20. Субстанции, препятствующие проведению анализа

Изучалась возможность влияния на результаты теста Xpert vanA/vanB шестнадцати экзогенных субстанций, которые могут обнаруживаться или присутствовать в фекалиях. Применявшиеся в исследовании субстанции представлены в таблице 1. Ни одна из 16 применявшихся субстанций не оказывала обнаружимого влияния на результаты теста в отношении vanA. Однако две из шестнадцати экзогенных субстанций, крем гидрокортизона (1 % гидрокортизон) и препарат Pepto-Bismol® (1–5 % субсалицилат висмута), потенциально способны влиять на результаты теста в отношении vanB. В исследовании по оценке влияния в присутствии крема гидрокортизона и препарата Pepto-Bismol® значения Ct были несколько выше, по сравнению с буфером, использовавшимся в качестве контроля.

Таблица 4. Субстанции, применявшиеся в исследовании по оценке влияния на результаты теста Xpert vanA/vanB

Субстанция	Субстанция
Цельная кровь, Karolinska University Hospital	Вазелин, Unilever
Муцин (свиной), Sigma	Dulcolax®, Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals
Каопектат®, Chattem	Салфетки Preparation H®, Wyeth Consumer Healthcare
Immodium®, McNeil-PPC	Ванкомицин, Fluka
Fleet®, CB Fleet Company	Метронидазол, Actavis
Фекальные жиры, Karolinska University Hospital	Anusol® Plus TM, Warner-Lambert Company
K-Y Jelly/Gelée®, McNeil-PPC	Концентрат бария сульфата для приготовления суспензии E-Z-HDTM, E-Z-EM Canada
Крем гидрокортизона, Longs Drugs ^a	Pepto-Bismol®, Proctor & Gamble ^a

^a В исследовании по оценке влияния значения Ct были несколько выше, по сравнению с буфером, использовавшимся в качестве контроля.

21. Справочная литература

1. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 to June 2004, issued October 2004. Am J Infect Control. 2004; 32:470-485.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
4. Stinear TP, Olden DC, Johnson PD, Davies JK, Grayson ML. Enterococcal *vanB* Resistance Locus in Anaerobic Bacteria in Human Feces. The Lancet. 2001. 357:855-856.
5. Ballard SA, Grabsch EA, Johnson PDR, Grayson ML. Comparison of Three PCR Primer Sets for Identification of *vanB* Gene Carriage in Feces and Correlation with Carriage of Vancomycin-Resistant Enterococci: Interference by *vanB*-Containing Anaerobic Bacilli. Antimicrob Agents and Chemother. 2005. 49(1): 77-81.
6. Domingo M.-C, Huletsky A, Bernal A, Giroux A, Boudreau DK, Picard FJ, Bergeron MG. Characterization of a Tn5382-like Transposon Containing the *vanB2* Gene Cluster in a *Clostridium* Strain Isolated from Human Faeces. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2005. 55(4):466-74.
7. REGULATION (EO) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing. List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/EC (amending Regulations (EO) No 1907/2007)
8. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

22. Расположение штаб-квартиры корпорации Cepheid

Головной офис

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Соединенные Штаты Америки
Телефон: + 1 408 541 4191
Факс: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Европейский офис

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Франция
Телефон: + 33 563 825 300
Факс: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

23. Техническая поддержка

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

Контактная информация

Соединенные Штаты Америки
Телефон: + 1 888 838 3222
Адрес электронной почты:
techsupport@cepheid.com

Франция
Телефон: + 33 563 825 319
Адрес электронной почты:
support@cepheideurope.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Cepheid доступна на нашем веб-сайте: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

24. Условные обозначения

Символ	Значение
	Каталожный номер
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Не использовать повторно
	Код партии
	Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно!
	Марка CE – Европейское соответствие
	Производитель
	Страна-изготовитель
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов
	Контроль
	Срок годности
	Температурные ограничения
	Биологическая опасность
	Предостережение



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden (Швеция)

Изготовлено в Швеции



Xpert® HBV Viral Load

REF GXHBV-VL-CE-10

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert® and Xpert® are trademarks of Cepheid.

Windows® is a trademark of Microsoft Corporation.

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

Copyright © Cepheid 2020. All rights reserved.

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

Cepheid®, логотип Cepheid, GeneXpert® и Xpert® являются товарными знаками компании Cepheid.

Windows® является товарным знаком Microsoft Corporation.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩЕЙ ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

Авторское право © Cepheid 2020. Все права защищены.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden (Швеция)

Xpert® HBV Viral Load

Только для диагностического применения *in vitro*.

1 Фирменное название

Xpert® HBV Viral Load

2 Общепринятое название

Xpert® HBV Viral Load

3 Назначение

Тест Cepheid Xpert® HBV Viral Load (VL) представляет собой *in vitro* тест, выполняемый методом амплификации нуклеиновых кислот для количественного определения ДНК вируса гепатита В (ВГВ) в образцах сыворотки или плазмы (с ЭДТА) человека, полученных у ВГВ-инфицированных лиц, на автоматизированной системе GeneXpert®.

Тест предназначен для использования в контексте общей клинической картины и информации о прочих лабораторных маркерах прогноза заболевания, как вспомогательное средство оценки вирусологического ответа на противовирусную терапию путем определения изменений уровней ДНК ВГВ в плазме или сыворотке.

Тест не предназначен для скрининга на ВГВ доноров или для использования в качестве подтверждающего диагностического теста.

4 Краткие сведения и разъяснения

Вирус гепатита В (ВГВ) представляет собой небольшой, заключенный в оболочку, ДНК-содержащий вирус семейства *Нерадnaviridae*, который вызывает острый и хронический гепатит В. Вирусная частица диаметром 42 нм содержит небольшого размера геном, состоящий из кольцевой ДНК, частично двухцепочечной, частично одноцепочечной. ВГВ содержит различные антигенные компоненты, включая поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg), ядерный антиген вируса гепатита В (HBcAg) и е-антиген вируса гепатита В (HBeAg). ВГВ передается при попадании на кожу или слизистые оболочки крови или других биологических жидкостей инфицированного лица, от матери к новорожденному, при тесном бытовом контакте, при переливании крови без надлежащего скрининга или при повторном использовании нестерилизованных шприцев или игл для инъекций в медицинских учреждениях, при употреблении инъекционных наркотиков и половом контакте с инфицированным лицом.

Хронический вирусный гепатит В может быть HBeAg-положительным и HBeAg-отрицательным.

Серопреvalенность HBsAg в различных возрастных группах существенно различается в разных географических регионах. Самый высокий (>5%) этот показатель является в тропической Африке, в некоторых частях Балканского региона, в Восточной Азии, Океании и в бассейне реки Амазонка (Южная Америка). В Центральной Латинской Америке, Северной Америке и Западной Европе распространенность составляет менее 2%. В целом почти половина населения земного шара проживает в высокоэндемичных регионах.¹ Заболеваемость хроническим гепатитом В и связанная с ним смертность связаны с персистенцией репликации вируса и развитием цирроза печени и (или) гепатоцеллюлярного рака.² Смертность от вирусного гепатита В со временем увеличилась, и будет продолжать расти, если заболевшие лица не будут выявляться и получать лечение.³

Вакцина против ВГВ используется для новорожденных, и это позволило существенно уменьшить число новых случаев хронической инфекции, однако охват вакцинацией составляет всего 39%.³ В 2015 г. хроническая инфекция ВГВ имела у 3,5% населения планеты, при этом наибольшая встречаемость заболевания была характерна для Западно-Тихоокеанского региона и Африки.³ Только 9% инфицированных ВГВ знали о своем диагнозе, и только 8% из осведомленных о диагнозе пациентов получали лечение.³ Для лечения пациентов в соответствующих случаях применяются аналоги нуклеотидов и нуклеозидов, такие как тенофовир и энтекавир, так как они эффективно подавляют репликацию ВГВ, предотвращают прогрессирование до цирроза и уменьшают смертность, связанную с поражением печени.¹ Лечение ВГВ является пожизненным.¹

5 Принципы проведения процедуры

Система приборов GeneXpert автоматизирует и интегрирует процессы очистки образцов, амплификации нуклеиновых кислот и обнаружения целевой последовательности в простых или сложных образцах с использованием ПЦР в режиме реального времени. Система состоит из прибора, персонального компьютера и предустановленного программного обеспечения для выполнения тестов и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи GeneXpert, которые содержат реактивы для ПЦР и в которых происходят очистка и процессы ПЦР. Поскольку картриджи представляют собой замкнутые системы, вероятность перекрестной контаминации между образцами сводится к минимуму. Полное описание систем представлено в соответствующем *руководстве оператора GeneXpert Dx* или *руководстве оператора GeneXpert Infinity*.

В комплект теста Xpert® HBV Viral Load входят реактивы для обнаружения ДНК ВГВ в образцах и два внутренних контроля для количественного определения ДНК ВГВ. Внутренние контроли также предназначены для контроля правильности обработки целевой последовательности и для отслеживания присутствия ингибиторов ПЦР. Контроль зондов (Probe Check Control, PCC) предназначен для проверки правильности регидратации реактивов, заполнения пробирки для проведения ПЦР в картридже, целостности зондов и стабильности красителя.

Этот тест стандартизован по 4-му Международному стандарту Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) для ДНК ВГВ для методик амплификации нуклеиновых кислот (код NIBSC: 10/266).⁴

6 Реактивы и приборы

6.1 Комплект поставки



Набор теста реагентов содержит реактивы в количестве, достаточном для анализа 10 образцов и (или) проб контроля качества. В набор входят:

Картриджи Xpert® HBV Viral Load со встроенными реакционными пробирками

- Гранулы 1, 2 и 3 (лиофилизированные)
- Реактив для лизирования (гуанидина тиоцианат)
- Реактив для промывки
- Реактив для вымывания
- Реактив связывания
- Реактив протеиназа K

10

1 каждого из типов в одном картридже

1,7 мл в одном картридже

0,5 мл в одном картридже

1,5 мл в одном картридже

1,5 мл в одном картридже

0,48 мл в одном картридже

Одноразовые пипетки для переноса, 1 мл

10 в каждом наборе

Компакт-диск:

1 в каждом наборе

- Файл с описанием теста (assay definition file, ADF)
- Инструкция по импорту файла ADF в программное обеспечение GeneXpert и Infinity
- Инструкции по применению (вкладыш-инструкция)

Примечание

Паспорта безопасности вещества (Safety Data Sheet, SDS) можно найти по адресам www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com на вкладке **ПОДДЕРЖКА (SUPPORT)**.

Примечание

Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма бычьей крови животных, выращенных в США. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время производства не происходило смешивания сырья с другими материалами животного происхождения.

7 Хранение и обращение



- Храните картриджи теста Xpert® HBV Viral Load при температуре 2–35 °C вплоть до истечения срока годности, указанного на этикетке.
- Если картриджи хранятся на холоде, доведите их до комнатной температуры перед применением.
- Не используйте реактивы или картриджи с истекшим сроком годности.



- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение теста.
- Не используйте картриджи с вытекшими реактивами.

8 Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Система приборов GeneXpert Dx или GeneXpert Infinity (каталожный номер зависит от конфигурации): прибор GeneXpert, компьютер с патентованным программным обеспечением GeneXpert версии 4.7b или выше (системы GeneXpert Dx) либо Xpertise версии 6.4b или выше (системы Infinity-80/Infinity-48s), сканер штрих-кодов и соответствующее руководство оператора прибора GeneXpert.
- Принтер: если необходим принтер, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.
- Отбеливатель или гипохлорит натрия.
- Этиловый спирт или денатурированный этиловый спирт.

9 Предупреждения и меры предосторожности

9.1 Общие



- Только для диагностического применения *in vitro*.
- При работе со всеми биологическими образцами, в том числе и с использованными картриджами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются агентством «Центры по контролю и профилактике заболеваний США» (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁵ и Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁶
- С целью избежать контаминации образцов и реактивов рекомендуется следовать принципам надлежащей лабораторной практики, включая правило замены перчаток перед началом работы с образцом следующего пациента.
- Следуйте принятым в учреждении процедурам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.
- Не заменяйте реактивы теста Xpert® HBV Viral Load другими реактивами.
- Не открывайте крышку картриджа теста Xpert® HBV Viral Load до тех пор, пока не будете готовы внести образец.
- Не используйте картридж, если он упал после извлечения из упаковки.
- Не встряхивайте картридж. Встряхивание или падение картриджа после вскрытия его крышки может привести к получению недействительных результатов.
- Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- Не закрывайте этикетку со штрих-кодом на картридже.
- При помощи пипетки для переноса или прецизионной пипетки внесите образец в картридж. Не переливайте образец в картридж непосредственно из устройства для сбора.
- ② • Каждый одноразовый картридж теста Xpert® HBV Viral Load применяется для проведения одного теста. Не используйте картриджи повторно.
- ② • Каждая одноразовая пипетка используется для переноса одного образца. Не использовать повторно одноразовые пипетки.
- Пользуйтесь чистыми лабораторными халатами и перчатками. Перчатки подлежат замене перед обработкой каждой следующей пробы.
- В случае загрязнения рабочей зоны или оборудования образцами или контролями тщательно протрите контаминированный участок свежеприготовленным 0,5% раствором гипохлорита натрия (или разбавленным в соотношении 1:10 хлорсодержащим хозяйственным отбеливателем). Затем протрите поверхность 70% этиловым спиртом. Перед продолжением работы дайте рабочим поверхностям полностью высохнуть.
- ⚠ • Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, и они требуют соблюдения стандартных мер предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реактивов следуйте принятым в вашем учреждении правилам защиты окружающей среды. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых национальных или региональных процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе нормативные документы не дают ясных указаний

по правильному удалению в отходы, биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их удаления.⁷

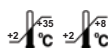
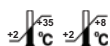
10 Опасные химические факторы^{8,9}

- Сигнальное слово: ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ
- **Заявления об опасности СГС ООН**
 - Вредно при проглатывании
 - Вызывает слабое раздражение кожи
 - Вызывает раздражение глаз
- **Меры предосторожности СГС ООН**
 - **Профилактика**
 - После использования тщательно вымыть.
 - **Реагирование**
 - При раздражении кожи: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
 - ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь, и если это легко сделать. Продолжить промывание.
 - Если раздражение глаз не проходит: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
 - При плохом самочувствии обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту/терапевту.

11 Сбор, транспортировка и хранение образцов

Цельную кровь следует собирать в пробирки для сбора образцов с К₂ЭДТА, пробирки РРТ-ЭДТА или пробирки для сбора сыворотки, и центрифугировать для отделения плазмы/сыворотки от эритроцитов, в соответствии с инструкциями изготовителя.

- Для теста Xpert® HBV Viral Load требуется не менее 0,6 мл плазмы или сыворотки. Если используется пипетка для переноса, входящая в набор, ее следует заполнить сывороткой или плазмой до четвертой метки (1,0 мл). Либо, при использовании прецизионной пипетки, требуется 0,6 мл плазмы или сыворотки. См. указания в разделе 12.2, вариант 1 и вариант 2, соответственно.
- Перед получением плазмы или сыворотки цельную кровь можно хранить до 24 часов при температуре 2–35 °С или до 3 дней при температуре 2–8 °С. Центрифугировать в соответствии с инструкциями изготовителя.
- После центрифугирования и отделения плазму и сыворотку можно хранить до исследования в течение до 24 часов при температуре 2–35 °С или до 7 дней при температуре 2–8 °С.
- Стабильность замороженных (от -80 °С до -20 °С) образцов плазмы и сыворотки сохраняется в течение 6 недель.
- Стабильность образцов плазмы и сыворотки сохраняется в течение не более трех циклов замораживания/размораживания.
- До переноса в картридж образцы плазмы и сыворотки следует разморозить и дождаться их согревания до комнатной температуры.
- При транспортировке образцов цельной крови, плазмы и сыворотки следует соблюдать местные, региональные и федеральные нормативные требования по транспортировке возбудителей.



12 Процедура

12.1 Подготовка образца

Важно! Анализ следует начинать не позднее чем через 4 часа после того, как проба была помещена в картридж.

1. После центрифугирования образца цельной крови, плазму можно перенести при помощи пипетки непосредственно в картридж. Для получения действительных результатов крайне важно использовать достаточный объем образца (см. указания в разделе 12.2, «Подготовка картриджа»).
2.  Замороженные образцы перед использованием следует поместить в условия комнатной температуры (20–35 °C) до их полного оттаивания и согревания до комнатной температуры.
3.  Образцы плазмы и сыворотки, хранившиеся при температуре 2–8 °C, перед использованием необходимо извлечь из холодильника и дождаться их согревания до комнатной температуры.
4.  Образцы плазмы, хранившиеся при температуре 2–8 °C или замороженные и оттаявшие, перед использованием необходимо перемешать на вихревой мешалке в течение 10 секунд. Мутный образец следует осветлить непродолжительным центрифугированием.

12.2 Подготовка картриджа

1. Пользуйтесь одноразовыми защитными перчатками.
2. Если картриджи хранятся на холоде, доведите их до комнатной температуры перед применением.
3. Осмотрите картридж на предмет отсутствия повреждений. В случае повреждения не используйте его.
4. Нанесите на картридж этикетку с идентификатором образца.
5. Откройте крышку картриджа.
6. Внесите образец в картридж.
 - **Вариант 1:** Если используется пипетка для переноса, входящая в набор (см. Рисунок 1), ее следует заполнить плазмой или сывороткой (из пробирки для сбора) до четвертой метки (1,0 мл) или несколько выше. Выпустите содержимое пипетки в предназначенную для образца камеру картриджа (см. Рисунок 2).
 - **Вариант 2:** При использовании прецизионной пипетки, необходимо перенести 0,6 мл плазмы или сыворотки (из пробирки для сбора) в предназначенную для образца камеру картриджа (см. Рисунок 2).

Примечание Не снимайте тонкую полимерную пленку, покрывающую внутреннее кольцо с 13 портами картриджа.



Рисунок 1. Пипетка для переноса теста Xpert® HBV Viral Load

- Закройте крышку картриджа. Убедитесь, что крышка надежно защелкнулась на месте.

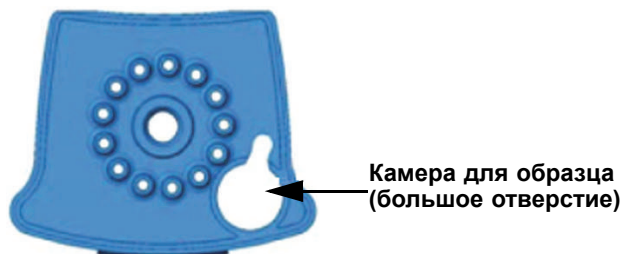


Рисунок 2. Картридж Xpert® HBV Viral Load (вид сверху)

12.3 Запуск анализа

Важно! Прежде чем начинать анализ, убедитесь, что файл с описанием теста (assay definition file, ADF) Xpert® HBV Viral Load импортирован в программное обеспечение.

В данном разделе перечисляются основные действия при выполнении теста. Подробные инструкции приводятся в руководстве оператора системы GeneXpert Dx или руководстве оператора системы GeneXpert Infinity, в зависимости от используемой модели прибора.

Примечание

Выполняемые действия могут быть другими, если системный администратор изменит установленную по умолчанию рабочую последовательность системы.

- Включите приборную систему GeneXpert:
 - При использовании прибора GeneXpert Dx вначале следует включить прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически либо после двойного щелчка на ярлыке программного обеспечения GeneXpert Dx, находящегося на рабочем столе Windows®.
 - или
 - При использовании прибора GeneXpert Infinity следует включить прибор. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически либо после двойного щелчка на ярлыке программного обеспечения Xpertise, находящегося на рабочем столе Windows®.
- Войдите в программное обеспечение приборной системы GeneXpert Dx, используя свое имя пользователя и пароль.
- В окне системы GeneXpert выберите пункт **Создать анализ (Create Test)** (для GeneXpert Dx) или выберите пункт **Команды (Orders)**, а затем **Заказать анализ (Order Test)** (для Infinity). Откроется окно **Создать анализ (Create Test)**.
- Отсканируйте «ID пациента» (Patient ID) (не обязательно). Если вводится «ID пациента» (Patient ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID пациента» (Patient ID) указывается в левой части окна «Просмотреть результаты» (View Results) и связывается с результатами теста.
- Отсканируйте «ID образца» (Sample ID) или введите вручную «ID образца» (Sample ID). Если вводится «ID образца» (Sample ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID образца» (Sample ID) указывается в левой части окна «Просмотреть результаты» (View Results) и связывается с результатами анализа.
- Отсканируйте штрих-код на картридже теста Xpert® HBV Viral Load. На основе информации, считанной со штрих-кода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «ID партии реактива» (Reagent Lot ID), «С/Н картриджа» (Cartridge SN) и «Срок годности» (Expiration Date).

Примечание

Если штрих-код картриджа Xpert® HBV Viral Load не сканируется, повторите анализ с новым картриджем.

- Щелкните **Начать анализ (Start Test)** (для GeneXpert Dx) или **Отправить (Submit)** (для Infinity). В появившемся диалоговом окне введите свой пароль.
- При использовании системы GeneXpert Infinity поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, будет выполнен анализ, а использованный картридж удален в контейнер для отходов.

или

Для прибора GeneXpert Dx:

- A. Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
- B. Закройте дверцу. После этого начинается анализ, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса анализа индикаторная лампа выключается.
- C. Перед открытием модуля и извлечением картриджа дождитесь разблокирования системой замка дверцы.
- D. Утилизируйте использованные картриджи в подходящий контейнер для сбора отходов образцов согласно стандартной практике, принятой в вашем учреждении.

13 Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечисляются основные действия по просмотру и печати результатов. Более подробные инструкции по просмотру и печати результатов см. в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемого прибора.

1. Для просмотра результатов выберите ярлык **Просмотреть результаты (View Results)**.
2. По завершении анализа нажмите кнопку **Отчет (Report)** в окне **Просмотреть результаты (View Results)** для просмотра отчета и (или) получения отчета в формате PDF.

14 Контроль качества

CONTROL

Каждый тест содержит контроль достаточности объема образца (Sample Volume Adequacy, SVA), внутренние количественные стандарты (Internal Quantitative Standard, IQS) высокой и низкой концентрации (IQS-H и IQS-L), а также специальные параметры партии (Lot Specific Parameters, LSP) и контроль зондов (Probe Check Control, PCC).

- **Контроль достаточности объема образца (SVA)** — предназначен для подтверждения правильности внесения образца в картридж. Контроль SVA позволяет подтвердить, что в камеру для образца внесен надлежащий объем образца. Контроль SVA считается пройденным, если его результат соответствует валидированным критериям приемлемости. Если контроль SVA не пройден, отображается либо сообщение **Ошибка 2096 (Error 2096)**, если образец не был внесен в картридж, либо сообщение **ОШИБКА 2097 (ERROR 2097)**, если в картридж был внесен недостаточный объем образца. Система не позволит пользователю возобновить тестирование.
- **Внутренние количественные стандарты высокой и низкой концентрации (IQS-H и IQS-L)** — это две линейаризованные плазмиды, последовательность которых не связана с последовательностью ВГВ. Они находятся в каждом картридже и проходят через весь процесс анализа. Эти стандарты используют для расчета концентрации ДНК ВГВ в образце. Кроме того, IQS-H и IQS-L обнаруживают связанное с образцом ингибирование реакции ПЦР в реальном времени, выполняя функцию контролей обработки образца. Контроли IQS-H и IQS-L считаются пройденными, если их результаты соответствуют валидированным критериям приемлемости.
- **Специальные параметры партии (LSP) для количественного определения** — в каждой партии наборов имеются встроенные LSP, созданные на основе панели калибровки ВГВ, прослеживаемой до 4-го Международного стандарта ВОЗ для ВГВ (код NIBSC: 10/266)⁴, а также IQS-H и IQS-L. Такие LSP являются уникальными для каждой партии реактивов, и используются для обеспечения правильности количественного определения.
- **Контроль зондов (Probe Check Control, PCC)** — перед запуском ПЦР система приборов GeneXpert измеряет флуоресцентный сигнал от зондов для отслеживания регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль PCC считается пройденным, если флуоресцентные сигналы соответствуют валидированным критериям приемлемости.
- **Внешние контроли** — в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики, внешние контроли, не входящие в данный набор, следует использовать согласно применимым требованиям местных и государственных уполномоченных организаций.

15 Интерпретация результатов

Результаты интерпретируются системой приборов GeneXpert на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета; они отображаются в окне «Просмотреть результаты» (View Results) (см. Рисунок 3 — Рисунок 8). Возможные результаты показаны в таблице 1.

Таблица 1. Результаты теста Xpert® HBV Viral Load и их интерпретация

Результат	Интерпретация
HBV ОБНАРУЖЕН IU/mL (log X,XX) (HBV DETECTED IU/mL (log X,XX)) См. Рисунок 3.	ДНК ВГВ обнаружена в концентрации XX МЕ/мл (log X,XX). <ul style="list-style-type: none"> • Титр ДНК ВГВ находится в пределах диапазона количественного определения теста (10–1,00E09 МЕ/мл). • IQS-H и IQS-L: ПРОЙДЕН (PASS). • Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
HBV ОБНАРУЖЕН >1,00E09 IU/mL (HBV DETECTED >1.00E09 IU/mL) См. Рисунок 4.	Обнаруженный титр ДНК ВГВ выше границы диапазона количественного определения теста. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H и IQS-L: ПРОЙДЕН (PASS). • Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
HBV ОБНАРУЖЕН <10 IU/mL (HBV DETECTED <10 IU/mL) См. Рисунок 5.	Обнаруженный титр ДНК ВГВ ниже границы диапазона количественного определения теста. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H и IQS-L: ПРОЙДЕН (PASS). • Контроль зондов – ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
HBV НЕ ОБНАРУЖЕН (HBV NOT DETECTED) См. Рисунок 6.	ДНК ВГВ не обнаружена. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H и IQS-L: ПРОЙДЕН (PASS). • Контроль зондов – ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬ- НЫЙ (INVALID) См. Рисунок 7.	Невозможно установить, присутствует или отсутствует в образце ДНК ВГВ. Повторите анализ в соответствии с указаниями раздела 16.2, «Процедура повторного анализа». <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H и (или) IQS-L: НЕ ПРОЙДЕН (FAIL); пороги цикла (Ct) не находятся в действительном диапазоне. • Контроль зондов – ПРОЙДЕН (PASS); все проверки качества зондов пройдены.
ОШИБКА (ERROR) См. Рисунок 8.	Невозможно установить, присутствует или отсутствует в образце ДНК ВГВ. Повторите анализ в соответствии с указаниями раздела 16.2, «Процедура повторного анализа». <ul style="list-style-type: none"> • Контроль зондов — НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)*; все или одна из проверок качества зондов не пройдены(-а). <p>* Если контроль зондов пройден, ошибка вызвана выходом за границы действительного диапазона предельного максимального давления или сбоем компонента системы.</p>
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	Невозможно установить наличие или отсутствие ДНК ВГВ. Повторите анализ в соответствии с указаниями раздела 16.2, «Процедура повторного анализа». Сообщение НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если лаборант прервал текущий процесс анализа.

Примечание Снимки с экранов тестов даны только в качестве примеров. Номер версии может отличаться от показанной на снимках с экрана в этом вкладыше-инструкции.

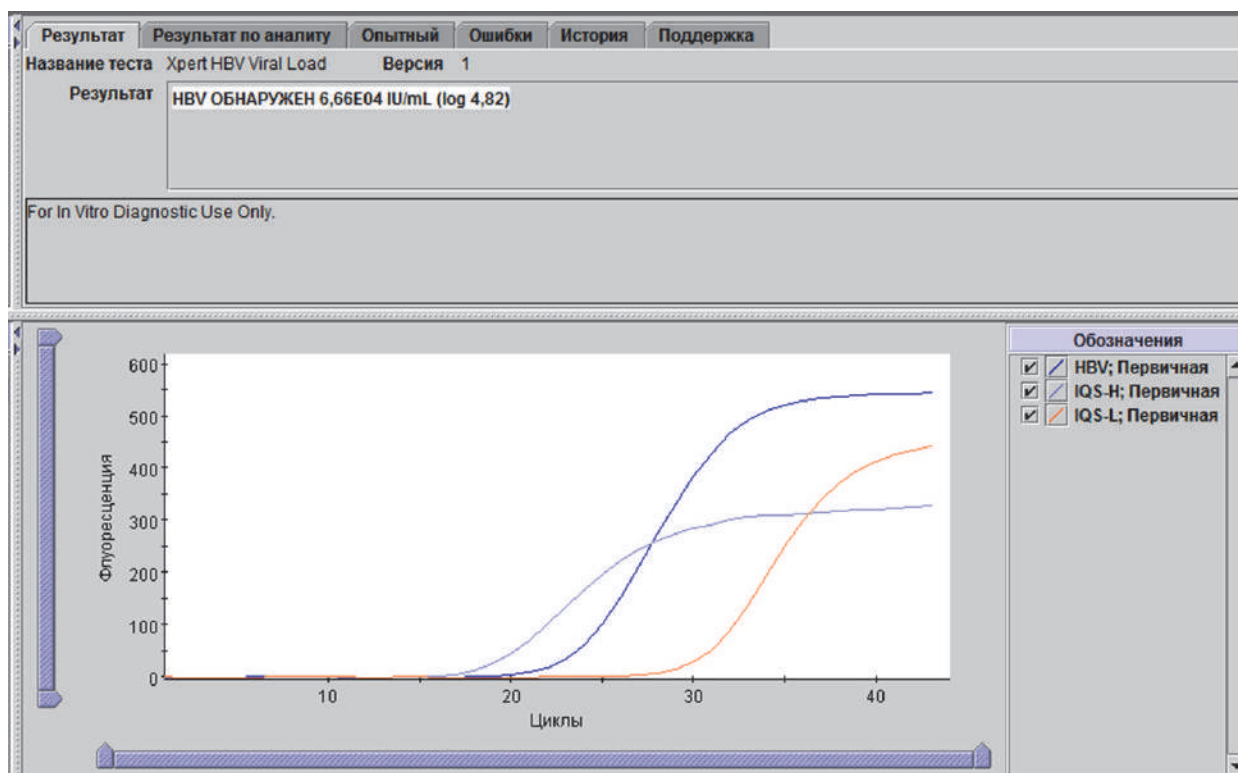


Рисунок 3. ВГВ обнаружен и количественно определен

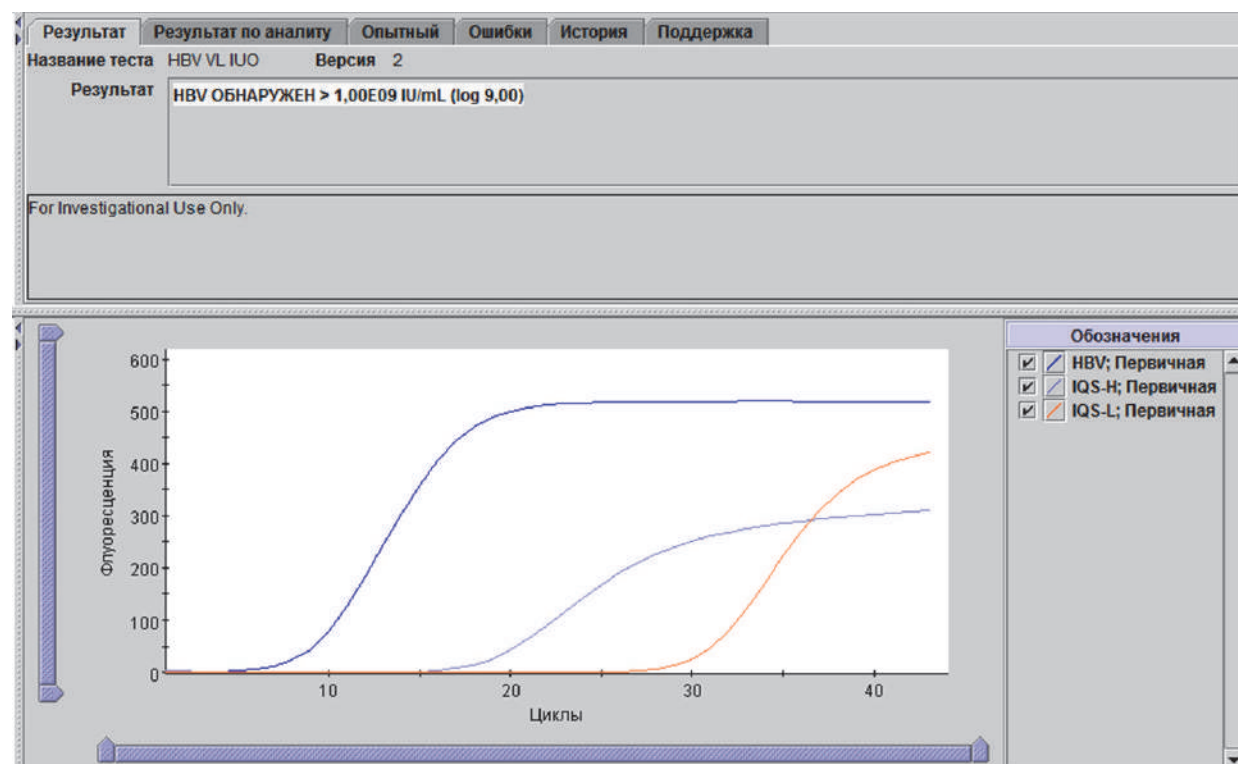


Рисунок 4. ВГВ обнаружен, но его титр выше границы диапазона количественного определения теста

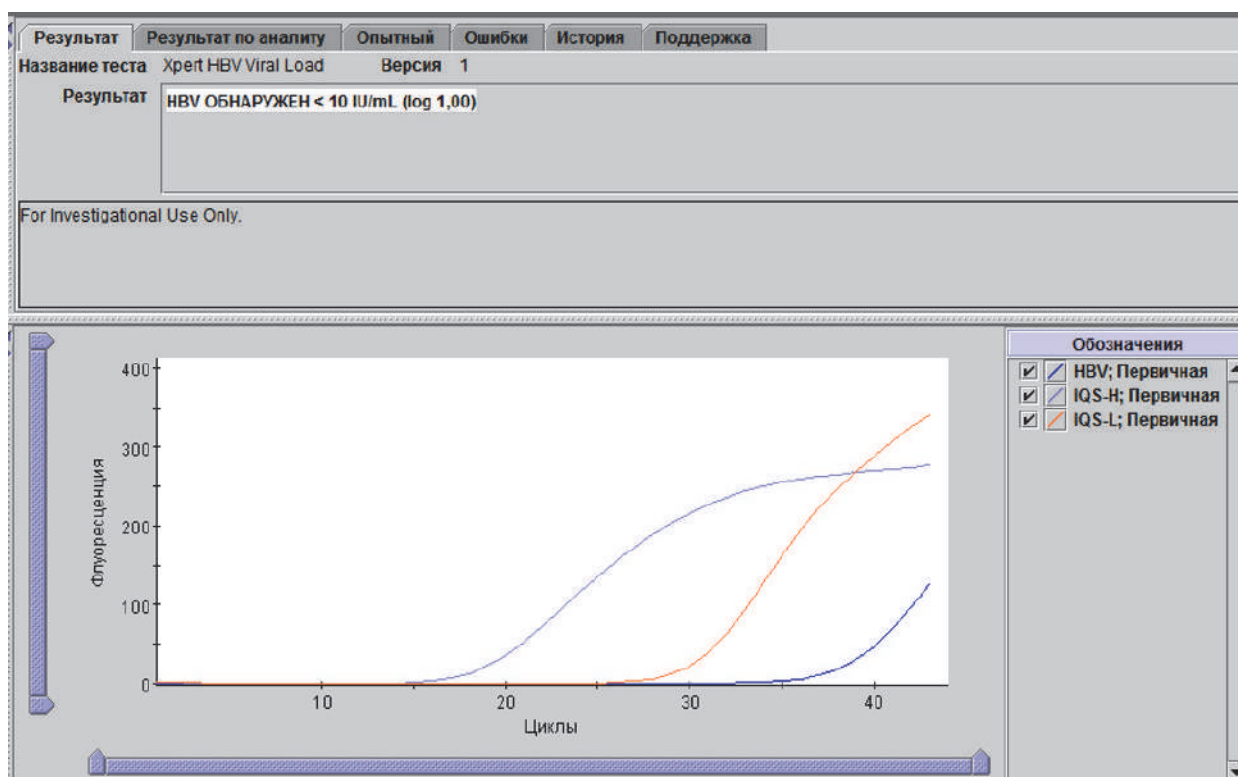


Рисунок 5. ВГВ обнаружен, но его титр ниже границы диапазона количественного определения теста

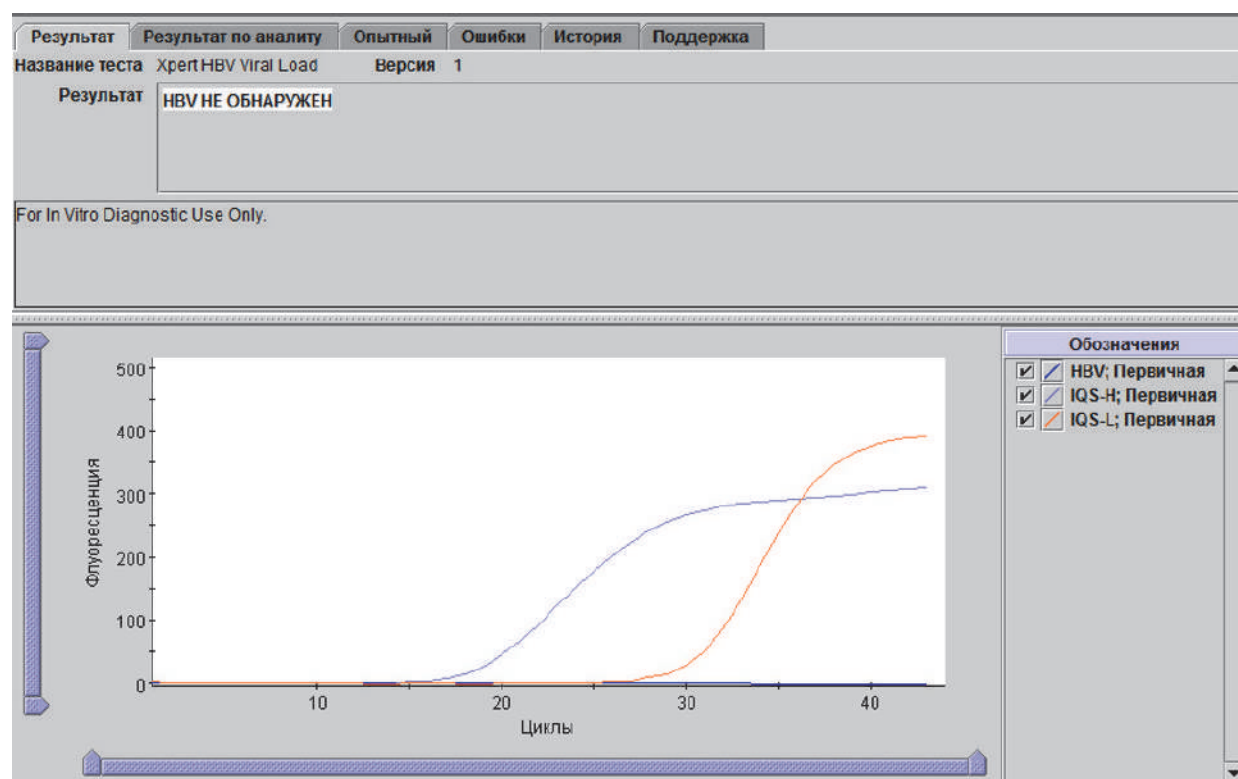


Рисунок 6. ВГВ не обнаружен

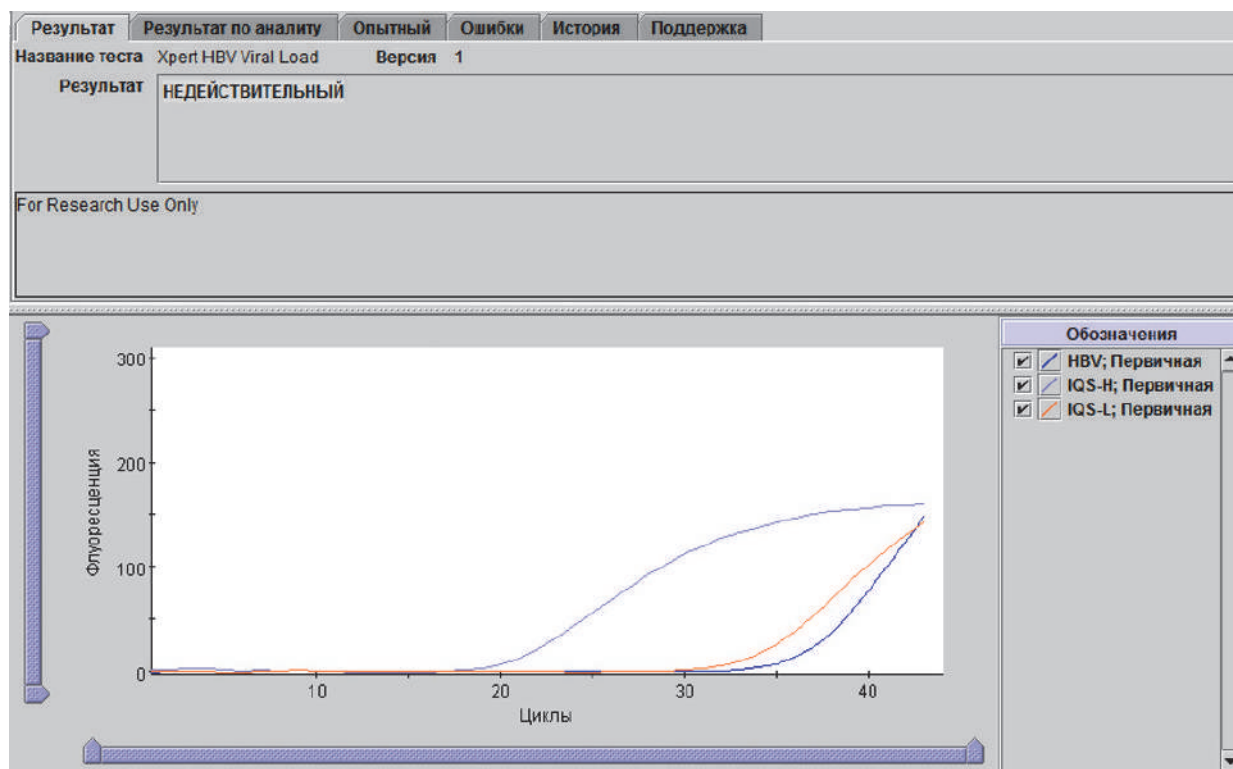


Рисунок 7. Недействительный результат

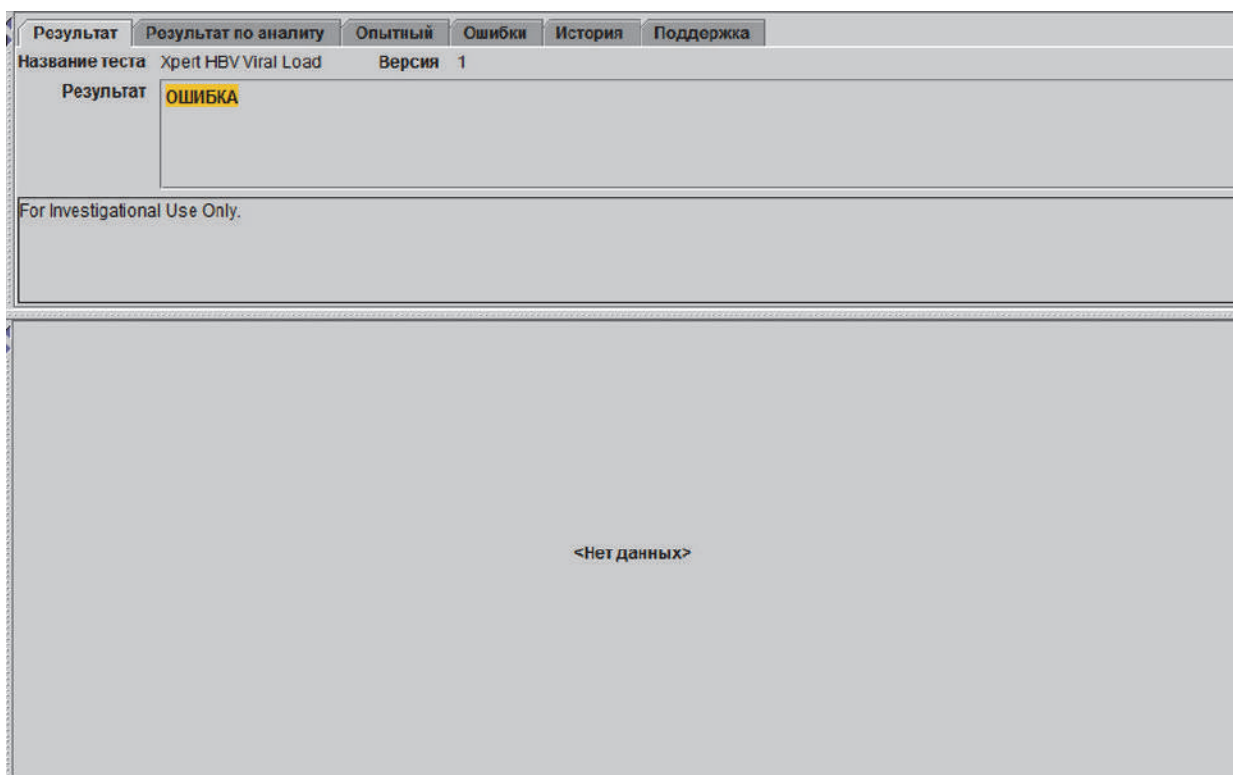


Рисунок 8. Ошибка

16 Повторное выполнение теста

16.1 Причины повторного выполнения теста

При получении любого из следующих результатов анализа повторите анализ в соответствии с указаниями, изложенными в разделе 16.2, «Процедура повторного анализа».

- **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** результат связан с одной или более следующих причин:
 - Значения Ct IQS-H и (или) IQS-L не находятся в действительном диапазоне.
 - Образец не был обработан надлежащим образом, или произошло ингибирование ПЦР.
- Результат **ОШИБКА (ERROR)** показывает, что анализ был прерван. К возможным причинам относятся следующие: внесен недостаточный объем пробы, неправильное заполнение реакционной пробирки, обнаружена проблема целостности зонда или превышен максимальный предел давления.
- Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Например, если оператор прервал выполняющийся процесс анализа или произошел перебой в подаче электроэнергии.

16.2 Процедура повторного анализа

При получении результата **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)**, **ОШИБКА (ERROR)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** выполните повторное тестирование соответствующего образца с использованием нового картриджа (не допускайте повторного использования картриджа).

1. Извлеките новый картридж из набора.
2. Выполните действия, указанные в разделе 12, «Процедура», включая раздел 12.2, «Подготовка картриджа» и раздел 12.3, «Запуск анализа».

17 Ограничения процедуры

- Во избежание контаминации образцов и реактивов рекомендуется следовать принципам надлежащей лабораторной практики, включая правило замены перчаток перед началом работы с каждым следующим образцом.
- Редкие мутации в целевом регионе теста Xpert® HBV Viral Load могут влиять на связывание праймера или зонда, в результате чего концентрация окажется заниженной или вирус не обнаружится.
- Данный тест был валидирован только для использования с образцами сыворотки и плазмы (с ЭДТА). Тестирование других типов образцов может привести к получению неточных результатов.
- Отрицательные результаты теста не исключают наличия инфекции ВГВ. Поэтому тест Xpert® HBV Viral Load не следует использовать в качестве диагностического для подтверждения инфицирования ВГВ.

18 Функциональные характеристики

18.1 Порог обнаружения

Порог обнаружения (LOD) теста Xpert® HBV Viral Load определяли для ВГВ генотипа А путем тестирования последовательных разведений 4-го международного стандарта ВОЗ для ДНК ВГВ (код NIBSC 10/266)⁴, в сыворотке и плазме с ЭДТА, отрицательных на ВГВ. Панели из образцов сыворотки или плазмы с ЭДТА шести уровней концентрации и отрицательного образца тестировали, соответственно, с использованием реактивов четырех или трех партий. Каждый компонент панели тестировали в течение трех дней, 24 повторности на партию реактивов. Всего каждый компонент панели образцов плазмы был исследован в 96 повторностях, а панели образцов сыворотки — в 72 повторностях.

Результаты для образцов сыворотки и плазмы с ЭДТА представлены в таблице 2. Исследование показало, что тест Xpert® HBV Viral Load позволяет обнаруживать ДНК ВГВ в международном стандарте ВОЗ в концентрации 3,20 МЕ/мл при исследовании плазмы с ЭДТА и в концентрации 5,99 МЕ/мл при исследовании сыворотки с долей положительных результатов 95% по результатам регрессионного пробит-анализа.

Таблица 2. Порог обнаружения теста Xpert Xpert® HBV Viral Load при использовании 4-го международного стандарта ВОЗ для ВГВ

Генотип	Материал	Номинальная концентрация ВГВ (МЕ/мл)	Количество действительных повторностей	Количество положительных результатов	Доля положительных результатов (%)	95% LOD по пробит-анализу (95% доверительный интервал)
А	Плазма	10	95	95	100	3,20 МЕ/мл (2,79–3,60 МЕ/мл)
		5	96	94	98	
		2,5	96	82	85	
		1,25	96	62	65	
		0,625	96	41	43	
		0	96	0	0	
А	Сыворотка	10	72	70	97	5,99 МЕ/мл (5,13–6,86 МЕ/мл)
		5	72	63	88	
		2,5	72	58	81	
		1,25	72	37	51	
		0,625	71	15	21	
		0	72	0	0	

Порог обнаружения для генотипов ВГВ от В до Н определяли путем тестирования панелей из шести или семи компонентов, приготовленных путем внесения ВГВ-положительных образцов, представляющих каждый генотип (генотипы от В до Г из международной референсной панели ВОЗ, код PEI: 5086/08, и генотипа Н в клиническом образце) в плазму с ЭДТА, отрицательную на ВГВ. Каждый компонент панели тестировали в течение трех дней, с использованием трех партий реактивов, всего по 24 повторности на компонент. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3. Порог обнаружения для ВГВ генотипов от В до Н в плазме с ЭДТА

Генотип	95% LOD по пробит-анализу (МЕ/мл)	95% доверительный интервал (МЕ/мл)
В	1,34	0,98 – 1,69
С	1,63	1,23 – 2,03
Д	3,96	3,01 – 4,92
Е	3,77	2,76 – 4,78
F	2,39	1,82 – 2,96
Г	1,21	0,95 – 1,47
Н	3,84	2,91 – 4,77

Порог обнаружения для ВГВ генотипов от В до Н подтверждали в образцах сыворотки согласно стандарту CLSI EP17-A2¹⁰ в 24 повторностях. Если доля положительных результатов >85% не достигалась, тестировали образцы более высоких концентраций. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4. Подтверждение порога обнаружения (LOD) для генотипов от В до Н в сыворотке

Генотип	Номинальная концентрация ВГВ (МЕ/мл)	Доля положительных результатов (%)
B	1,34	88
C	3,25	96
D	3,96	96
E	3,77	96
F	2,39	92
G	1,21	88
H	3,84	100

Функциональные характеристики теста Xpert® HBV Viral Load также оценивали в отношении вируса гепатита В с мутацией в области рессоре. Для этого тестировали с одной партией реактивов секвенированный клинический образец ВГВ, включавший две мутации в области рессоре (C1858T и G1896A) и две мутации основного core-промотора (A1762T и G1764A), разведенный до концентрации 10 МЕ/мл в сыворотке и плазме с ЭДТА. Доля положительных результатов, равная 100%, достигалась для всех 24 повторностей для каждого материала.

18.2 Предел количественного определения

Нижний предел количественного определения (lower limit of quantitation LLOQ) — это наименьшая концентрация ДНК ВГВ, которая может быть количественно определена с приемлемой прецизионностью и правильностью, и устанавливаемая путем оценки общей аналитической ошибки (total analytical error, TAE) и подхода, основанного на разности двух измерений. LLOQ определяли с использованием четырех независимых образцов, представляющих генотипы ВГВ от А до D, в плазме с ЭДТА, при концентрации, близкой к порогу обнаружения теста. Каждый образец тестировали с четырьмя партиями реактивов, по 8–24 повторности на партию. Оценка TAE была получена в модели Вестгарда в соответствии с рекомендациями CLSI EP17-A2¹⁰ с критерием, [(абсолютная систематическая ошибка) + 2 CO ≤ 1 log₁₀ МЕ/мл]. Подход с разностью двух измерений оценивался с использованием критерия [(2 × кв. корень (2) × CO) ≤ 1 log₁₀ МЕ/мл].

Результаты определения LLOQ для каждого образца представлены в таблице 5. Результаты показывают, что тест Xpert® HBV Viral Load позволяет количественно определять ДНК ВГВ в концентрации 10 МЕ/мл с приемлемыми правильностью и прецизионностью.

Таблица 5. Определение LLOQ теста Xpert Xpert® HBV Viral Load

Генотип ВГВ	Партия	N	Концентрация ВГВ (log ₁₀ МЕ/мл)		Систематическая ошибка	Общее СО	Общая аналитическая ошибка ^a	Подход с двумя измерениями ^b
			Ожидаемая	Наблюдаемая				
A	1	24	1,00	1,02	0,02	0,20	0,42	0,57
	2	24	1,00	1,05	0,05	0,16	0,37	0,45
	3	24	1,00	0,94	-0,06	0,20	0,46	0,57
	4	23	1,00	1,02	0,02	0,14	0,30	0,40
B	1	16	1,00	1,18	0,18	0,11	0,39	0,30
	2	24	1,00	1,18	0,18	0,17	0,53	0,49
	3	8	1,00	1,17	0,17	0,19	0,54	0,53
	4	8	1,00	1,25	0,25	0,19	0,64	0,55

Таблица 5. Определение LLOQ теста Xpert Xpert® HBV Viral Load (Продолжение)

Генотип ВГВ	Партия	N	Концентрация ВГВ (log ₁₀ МЕ/мл)		Систематическая ошибка	Общее СО	Общая аналитическая ошибка ^a	Подход с двумя измерениями ^b
			Ожидаемая	Наблюдаемая				
C	1	16	1,00	1,10	0,10	0,17	0,44	0,47
	2	24	1,00	1,11	0,11	0,22	0,55	0,61
	3	8	1,00	0,83	-0,17	0,24	0,65	0,68
	4	8	1,00	1,01	0,01	0,18	0,36	0,50
D	1	16	1,00	0,81	-0,19	0,28	0,74	0,78
	2	24	1,00	0,79	-0,21	0,27	0,75	0,76
	3	8	1,00	0,83	-0,14	0,14	0,42	0,39
	4	8	1,00	0,91	-0,09	0,11	0,31	0,32

- a Значения общей аналитической ошибки, вычисленные по модели Вестгарда, где: $[TAE = | \text{систематическая ошибка} | + (2 \times CO) \leq 1 \log_{10} \text{ МЕ/мл}]$, что обеспечивает 95%-ную вероятность того, что измерение будет отличаться от истинного значения менее чем на $1 \log_{10} \text{ МЕ/мл}$.
- b Подход с двумя измерениями $[(2 \times (\text{кв. корень}(2) \times CO) \leq 1 \log_{10} \text{ МЕ/мл}]$, показывает, что разность менее чем $1 \log_{10} \text{ МЕ/мл}$ может быть объяснена случайной ошибкой измерения.

18.3 Прецизионность/воспроизводимость

Прецизионность и воспроизводимость теста Xpert® HBV Viral Load определяли с использованием образцов плазмы с К₂ЭДТА при помощи дисперсионного анализа (ANOVA) для определения общей дисперсии.

Было проведено многоцентровое (3 центра; 2 внешних и 1 внутренний) слепое исследование с целью определения основных компонентов дисперсии теста Xpert® HBV Viral Load с применением восьмикомпонентной панели, состоящей из восьми ВГВ-положительных образцов. ВГВ-положительные компоненты панели готовили путем разведения ВГВ-плазмид с хорошо изученными характеристиками или ВГВ-положительного клинического образца в человеческой плазме с ЭДТА. По два оператора (один с опытом выполнения ПЦР, другой без такого опыта) в каждом из трех исследовательских центров исследовали одну панель в двух повторностях два раза в день (что равноценно восьми повторностям в день) на протяжении шести дней. Всего выполнено 144 повторности на каждый компонент панели. Были использованы три партии теста Xpert® HBV Viral Load, каждая на протяжении двух дней исследований. Прецизионность и воспроизводимость определяли в соответствии с CLSI EP05-A3¹¹ и CLSI EP15-A3.¹²

Прецизионность и воспроизводимость теста Xpert® HBV Viral Load оценивали методом иерархического дисперсионного анализа, где в качестве факторов использованы следующие: центр/прибор, партия, день, оператор/серия, в пределах серии. Рассчитывали стандартное отклонение и процент вариабельности концентрации ВГВ, представленной в виде log₁₀, под влиянием каждого фактора, как показано в таблице 6.

Таблица 6. Прецизионность и воспроизводимость теста Xpert Xpert® HBV Viral Load

Концентрация ДНК ВГВ (Log ₁₀ МЕ/мл)			Влияние на СО общей вариабельности (КВ%)										Общая пре- цизионность	
			Центр/прибор		Партия		День		Оператор/ серия		В пределах серии			
Ожидаемая	Наблюдае- мая	N	СО	(%) ^а	СО	(%) ^а	СО	(%) ^а	СО	(%) ^а	СО	(%) ^а	СО	КВ (%) ^б
9,00	9,13 ^с	144	<0,01	<0,01	0,04	23,4	<0,01	<0,01	0,02	4,9	0,07	71,7	0,08	19,7
8,00	8,17	144	<0,01	<0,01	0,04	26,7	<0,01	<0,01	0,02	5,4	0,06	67,9	0,07	16,9
7,00	7,15	144	0,01	2,2	0,03	12,2	0,01	3,9	<0,01	<0,01	0,07	81,8	0,07	16,8
6,00	6,18	144	<0,01	<0,01	0,04	32,1	0,01	4,3	<0,01	<0,01	0,05	63,6	0,06	14,7
4,70	4,87	144	0,02	4,5	0,03	15,3	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,07	80,2	0,07	17,1
3,00	3,19	144	<0,01	<0,01	0,03	28,8	<0,01	<0,01	0,02	11,5	0,04	59,7	0,06	13,2

Таблица 6. Прецизионность и воспроизводимость теста Хpert Хpert® HBV Viral Load (Продолжение)

Концентрация ДНК ВГВ (Log ₁₀ МЕ/мл)			Влияние на СО общей вариабельности (КВ%)										Общая пре- цизионность	
			Центр/прибор		Партия		День		Оператор/ серия		В пределах серии			
Ожидаемая	Наблюдае- мая	N	СО	(%) ^a	СО	(%) ^a	СО	(%) ^a	СО	(%) ^a	СО	(%) ^a	СО	КВ (%) ^b
2,00	2,17	144	<0,01	<0,01	0,02	8,6	<0,01	<0,01	0,01	1,0	0,08	90,5	0,08	19,0
1,00	1,13	144	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,05	11,0	0,01	0,3	0,15	88,8	0,16	37,7

a (%) представляет собой влияние компонента дисперсии на общую дисперсию.

b «КВ» является логнормальным КВ, полученным по формуле:

$$\text{Lognormal CV}(\%) = 100 * \sqrt{10^{(\ln(10) * \sigma_{\log_{10} \text{data}}^2) - 1}}$$

c Наблюдавшееся значение превышает диапазон количественного определения теста Хpert® HBV Viral Load.

18.4 Линейный диапазон

Линейный диапазон теста Хpert® HBV Viral Load определяли путем анализа панелей из восьми образцов, включавших диапазон концентраций от 1,00 до 9,00 log₁₀ МЕ/мл. Панели готовили путем внесения клинического образца, содержащего ВГВ генотипа А, или архивной ДНК-плазмиды ВГВ в высоком титре, в отрицательную на ВГВ сыворотку и плазму с ЭДТА. Каждый компонент панели исследовали в восьми повторностях на партию реактивов, за исключением самых низких разведений, которые исследовали в шестнадцати повторностях на партию реактивов. Использовали две партии реактивов. Результаты представлены в Рисунок 9 и Рисунок 10.

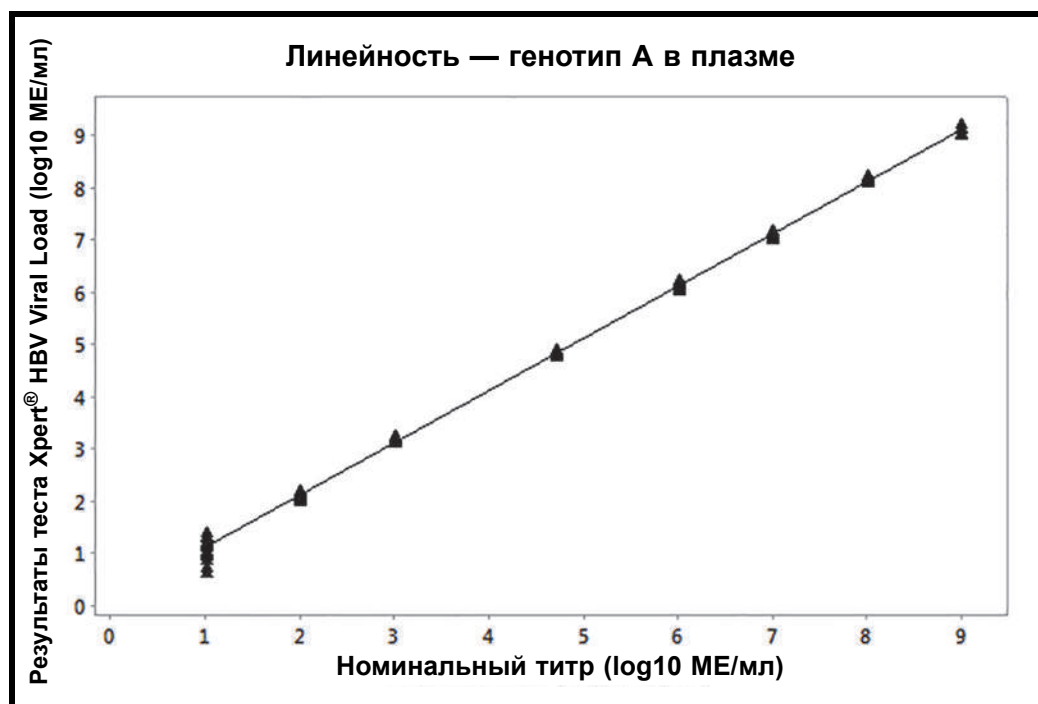


Рисунок 9. Линейность теста Хpert Хpert® HBV Viral Load при исследовании образцов плазмы с ЭДТА

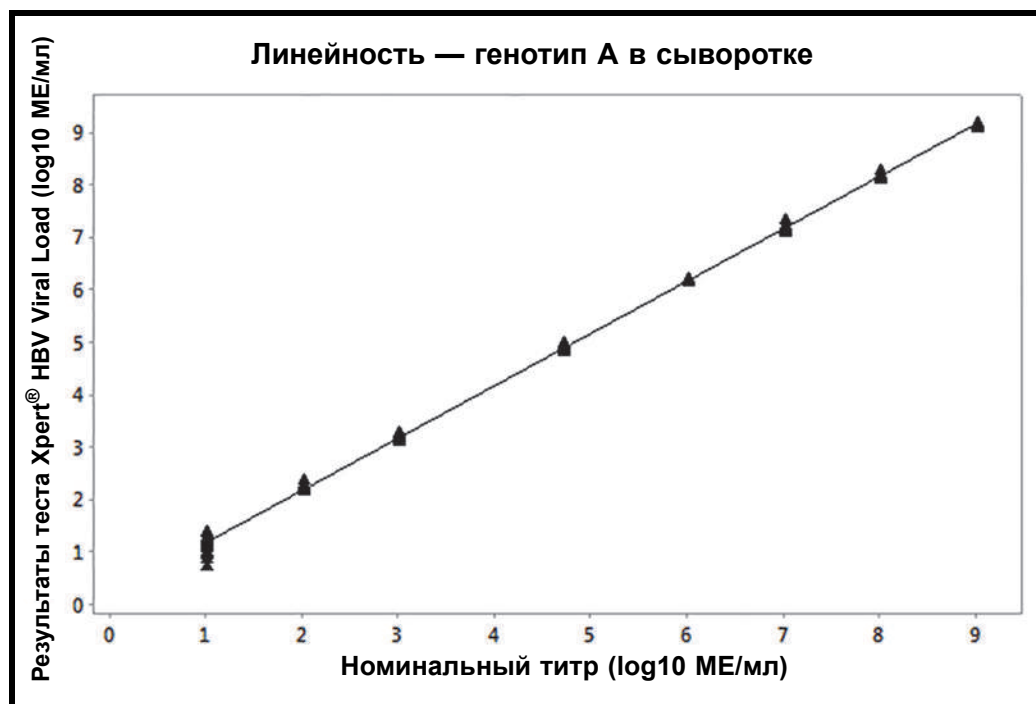


Рисунок 10. Линейность теста Xpert Xpert® HBV Viral Load при исследовании образцов сыворотки с ЭДТА

Для подтверждения линейности были приготовлены панели разведения с генотипами ВГВ от В до Н, с целью включить как можно более широкий диапазон измерений. Для этого клинические образцы, соответствующие каждому генотипу ВГВ, разводили в отрицательной на ВГВ плазме с ЭДТА. Компоненты панели тестировали с использованием одной партии реактивов, количество повторностей на каждый компонент было таким же, как и для ВГВ генотипа А.

Была продемонстрирована линейность в соответствии с рекомендациями CLSI EP06-A¹³ для генотипов А-Н со значением $R^2 > 0,99$. Тест Xpert® HBV Viral Load дает линейные результаты в диапазоне 1,00–9,00 log₁₀ МЕ/мл для генотипа А и во всем исследованном диапазоне для генотипов от В до Н (см. таблице 7).

Таблица 7. Линейность теста Xpert Xpert® HBV Viral Load по генотипу

Генотип	Уравнение линейной регрессии	R ²	Исследованный диапазон титров (log ₁₀ МЕ/мл)
А (плазма)	$y = 1,005x + 0,093$	0,999	1,00 – 9,00
А (сыворотка)	$y = 1,000x + 0,167$	0,999	1,00 – 9,00
В	$y = 0,998x - 0,027$	0,995	1,00 – 6,83
С	$y = 0,998x - 0,119$	0,998	1,00 – 7,69
Д	$y = 0,993x + 0,101$	0,998	1,00 – 7,41
Е	$y = 1,010x - 0,149$	0,999	1,00 – 8,14
Ф	$y = 0,994x - 0,068$	0,999	1,00 – 7,96
Г	$y = 0,990x + 0,538$	0,999	1,00 – 8,61
Н	$y = 0,991x + 0,122$	0,999	1,00 – 6,35

18.5 Аналитическая специфичность (эксклюзивность)

Аналитическую специфичность теста Xpert® HBV Viral Load оценивали путем внесения микроорганизмов и вирусов, способных давать перекрестные реакции, в концентрации 1×10^6 КОЕ/мл для микроорганизмов и 1×10^5 копий/мл или TCID₅₀/мл для вирусов в ВГВ-отрицательную плазму с ЭДТА и в плазму с ЭДТА, содержащую около 30 МЕ/мл стандартного материала ВГВ (4-й международный стандарт ВОЗ для ВГВ, код NIBSC: 10/266)⁴. Исследованные микроорганизмы перечислены в таблице 8. Ни один из исследованных микроорганизмов не дал перекрестной реакции и не препятствовал количественному определению в тесте Xpert® HBV Viral Load.

Таблица 8. Аналитическая специфичность, микроорганизмы

Вирусы		Бактерии	Дрожжи
Вирус полиомы человека ВК	Вирус иммунодефицита человека 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Candida albicans</i>
Цитомегаловирус	Вирус иммунодефицита человека 2	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Вирус Эпштейна — Барра	Вирус папилломы человека типа 16		
Вирус гепатита А	Вирус папилломы человека типа 18		
Вирус гепатита С	Т-лимфотропный вирус человека типа 1		
Вирус простого герпеса типа 1	Т-лимфотропный вирус человека типа 2		
Вирус простого герпеса типа 2	Вирус ветряной оспы		
Вирус герпеса человека типа 6	Вирус осповакцины		
Вирус герпеса человека типа 8			

18.6 Вещества, потенциально способные воспрепятствовать проведению анализа

Оценивали подверженность теста Xpert® HBV Viral Load влиянию повышенных уровней эндогенных веществ, маркеров аутоиммунных заболеваний и назначаемых ВГВ-инфицированным пациентам лекарств. Ингибирующий эффект изучали в отсутствии и присутствии около 30 МЕ/мл стандартного материала ДНК ВГВ (4-й международный стандарт ВОЗ для ВГВ, код NIBSC: 10/266)⁴.

Установлено, что повышенное содержание указанных в таблице 9 эндогенных веществ не влияет на количественные результаты теста Xpert® HBV Viral Load со средним титром $\log_{10}$ каждого ВГВ-положительного образца, содержащего вещества, способные препятствовать проведению анализа, в пределах $\pm 0,10 \log_{10}$ МЕ/мл относительно положительного контроля. Отрицательные результаты были получены для всех образцов, не содержащих ВГВ, что указывает на отсутствие влияния на специфичность теста.

Таблица 9. Эндогенные субстанции и применявшиеся в анализе концентрации

Субстанция	Концентрация, применявшаяся в анализе
Альбумин	9 г/дл
Билирубин	20 мг/дл
Гемоглобин	500 мг/дл
ДНК человека	0,4 мг/дл
Триглицериды	3000 мг/дл

Установлено, что перечисленные в таблице 10 лекарственные препараты в концентрациях, в 3 раза превышающих максимальную концентрацию в плазме ($C_{\max}$), в присутствии или отсутствии ДНК ВГВ, не оказывают влияния на количественные показатели, получаемые при помощи теста Xpert® HBV Viral Load или на его специфичность.

Таблица 10. Пулы препаратов, применявшиеся в анализе

Пул	Лекарственные препараты
1	Зидовудин, саквинавир кларитромицин, интерферон-альфа-2b, ритонавир, омбитасвир, паритапревир, дасабувир, диданозин
2	Абакавира сульфат, фосампренавир, пегинтерферон-альфа-2a, рибавирин, энтекавир, адефовира дипивоксил
3	Тенофовира дизопроксила фумарат, ламивудин, индинавира сульфат, ганцикловир, валганцикловира гидрохлорид, ацикловир, пароксетин, телбивудин
4	Ставудин, эфавиренз, лопинавир, энфувиртид, ципрофлоксацин, флуоксетин
5	Невирапин, нелфинавир, азитромицин, валацикловир, сертралин, тенофовир, алафенамид

При исследовании образцов плазмы с K_2 ЭДТА, содержащих маркеры аутоиммунных заболеваний (каждый маркер был взят у пяти человек), не выявило влияния на функциональные характеристики теста Xpert® HBV Viral Load маркеров системной красной волчанки (СКВ), антинуклеарных антител (АНА) или ревматоидного фактора (РФ). Средняя концентрация ДНК ВГВ (представленная в виде $\log_{10}$), которая вносилась в образцы, находилась в пределах $\pm 0,10 \log_{10}$ МЕ/мл относительно положительного контроля. Отрицательные результаты были получены для всех образцов, не содержащих ВГВ, что указывает на отсутствие влияния на специфичность теста.

18.7 Эквивалентность материалов (плазма с K_2 ЭДТА, РРТ-ЭДТА и сыворотка)

Исследование эквивалентности материалов для теста Xpert® HBV Viral Load было проведено с использованием 32 соответствующих по характеристикам ВГВ-положительных клинических образцов и 23 соответствующих по характеристикам ВГВ-отрицательных клинических образцов, собранных в пробирки для сбора плазмы с K_2 ЭДТА, пробирки для сбора плазмы РРТ-ЭДТА и пробирки для сбора сыворотки. В 23 соответствующих по характеристикам ВГВ-отрицательных клинических образца вносили клинические образцы с ВГВ, соответствующие генотипам от В до G, а также ДНК-плазмиды, экспрессирующие целевую последовательность генома генотипа А, в титрах по всему линейному диапазону.

На исследованных образцах была продемонстрирована эквивалентность материалов (см. Рисунок 11 и Рисунок 12).

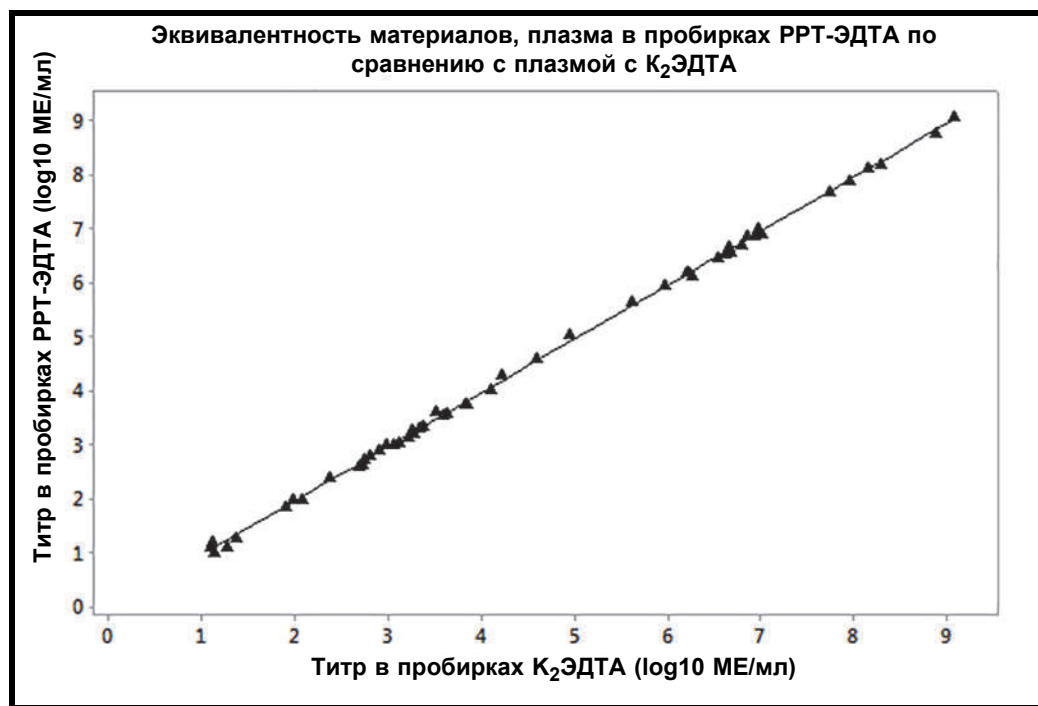


Рисунок 11. График линейной регрессии, плазма в пробирках РРТ-ЭДТА по сравнению с плазмой в пробирках с К₂ЭДТА

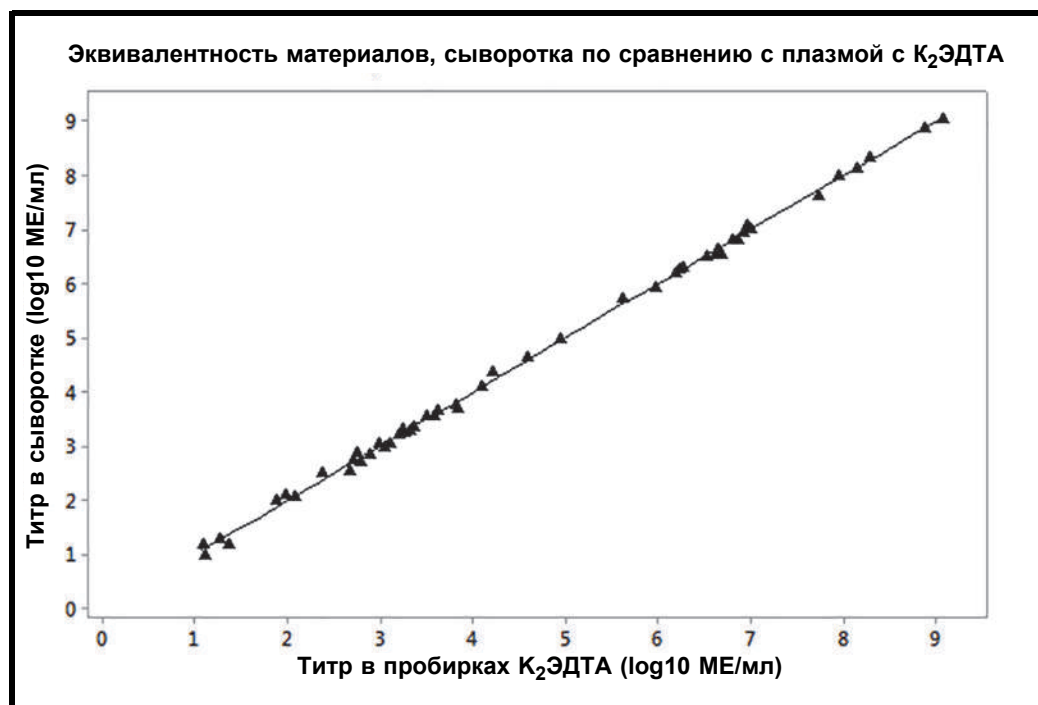


Рисунок 12. График линейной регрессии, сыворотка по сравнению с плазмой в пробирках с К₂ЭДТА

18.8 Отказ всей системы

Частоту отказа всей системы для теста Xpert® HBV Viral Load определяли путем тестирования в 100 повторностях образца плазмы с ЭДТА, в который был внесен ВГВ генотипа А в виде 4-го международного стандарта ВОЗ для ДНК ВГВ (код NIBSC 10/266)⁴. Тестировали образцы с внесенной вирусной ДНК в концентрации около 3 x LLOQ (30 МЕ/мл).

Результаты исследования показали, что все повторности были действительными, с положительным результатом в отношении целевой последовательности ВГВ, а частота отказа всей системы составила 0,0%.

18.9 Контаминация продуктами предыдущей реакции

Выполняли тестирование ВГВ-положительного образца с высоким титром ($>1 \times 10^7$ МЕ/мл) и сразу после этого тестировали ВГВ-отрицательный образец на том же модуле GeneXpert. Процедуру повторяли двадцать (20) раз на двух модулях. Частота контаминации продуктами предыдущей реакции для теста Xpert® HBV Viral Load составила 0%.

19 Функциональные характеристики — клинические

19.1 Специфичность у здоровых доноров крови

Специфичность теста Xpert® HBV Viral Load оценивали с использованием 99 образцов сыворотки и 100 образцов плазмы с ЭДТА, полученных от ВГВ-отрицательных доноров крови. Специфичность теста Xpert® HBV Viral Load составила 100,0% [95% ДИ: 98,1-100,0 (199/199)].

19.2 Корреляция между методами

Было проведено многоцентровое исследование для сравнения функциональных характеристик теста Xpert® HBV Viral Load с методом сравнения, предназначенным для количественного определения ДНК ВГВ. Для этого были использованы оставшиеся образцы сыворотки и плазмы с ЭДТА, полученные в рамках оказания стандартной медицинской помощи у лиц, инфицированных ВГВ.

Из 876 пригодных к анализу пациентов 351 (40,1%) были женского пола и 489 (55,8%) были мужского пола. Средний возраст составил $47,2 \pm 15,9$ лет, диапазон возраста — от 18 до 89 лет. Из 876 образцов 560 содержали ДНК ВГВ в диапазоне количественного определения обоих тестов — Xpert® HBV Viral Load и метода сравнения. Результаты анализа с использованием регрессии Деминга и обычной линейной регрессии представлены в Рисунок 13.

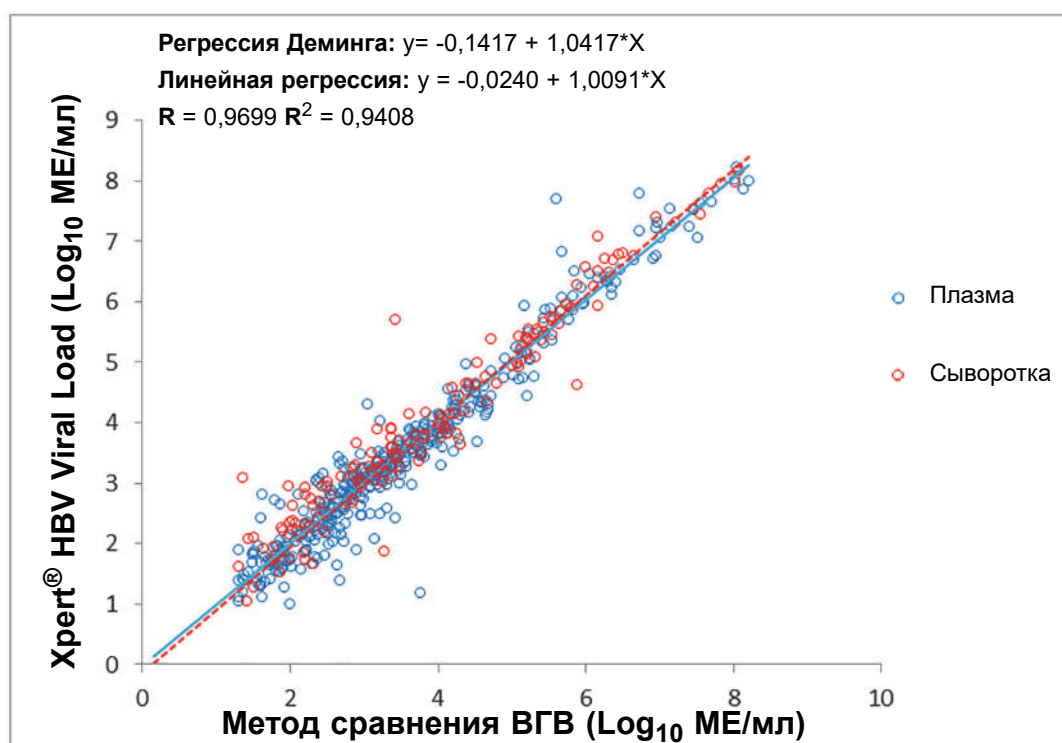


Рисунок 13. Корреляция между результатами теста Xpert® HBV Viral Load и метода сравнения при использовании образцов сыворотки и плазмы с ЭДТА

20 Справочная литература

1. World Health Organization (WHO). Guidelines for the Prevention, Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis B Infection. March 2015. Accessed March 14, 2018 at: <http://www.who.int/hiv/pub/hepatitis/hepatitis-b-guidelines/en/>.
2. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. J. Hepat. 2012; 57:167-185. Available at: <http://dxdoi.org/10.1016/j.jhep.2012.02.010>.
3. World Health Organisation. Global hepatitis report, 2017. WHO. April 2017.
4. The 4th WHO International Standard for Hepatitis B Virus DNA for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC code: 10/266). National Institute for Biological Standards and Control; 2016.
5. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (5th edition), accessed March 5, 2018 at <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline*. Document M29 (refer to latest edition).
7. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. Accessed April 20, 2018 at http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/.
8. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006.
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures*; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2012.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures*; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. *User Verification of Precision and Estimation of Bias*; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP15-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach*. Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2003.

21 Расположение штаб-квартиры корпорации Cepheid

Головной офис

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Соединенные Штаты Америки
Телефон: + 1 408 541 4191
Факс: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Европейский офис

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Франция
Телефон: + 33 563 825 300
Факс: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

22 Техническая поддержка

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

Контактная информация

Соединенные Штаты Америки
Телефон: + 1 888 838 3222
Адрес электронной почты:
techsupport@cepheid.com

Франция
Телефон: + 33 563 825 319
Адрес электронной почты:
support@cepheideurope.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Cepheid доступна на нашем веб-сайте:
www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

23 Условные обозначения

Символ	Значение
	Каталожный номер
	Медицинское для диагностики <i>in vitro</i>
	Не использовать повторно
	Код партии
	Обратитесь к инструкции по применению
	Производитель
	Страна-изготовитель
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов
	Контроль
	Срок годности
	Марка CE – Европейское соответствие
	Температурные ограничения
	Биологическая опасность
	Осторожно!
	Предостережение



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden (Швеция)

CE 2797 IVD

Xpert® HCV Viral Load

REF **GXHCV-VL-CE-10**
GXHCV-VL-IN-10



Cepheid®

Медицинское устройство
для диагностики *in vitro*



301-3019-RU, Ред. J февраль 2021 г.

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, Xpert®, and Xpertise™ are trademarks of Cepheid.
Windows® is a trademark of Microsoft Corporation.

Notice to Purchaser: Armored RNA® is technology jointly owned by Asuragen, Inc. and Cenetron Diagnostics, Ltd.
Armored RNA is a registered trademark of Asuragen, Inc. and Cenetron Diagnostics, Ltd.

ORTHO® is a registered trademark of Ortho-Clinical Diagnostics.

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

Copyright © 2015-2021 Cepheid. All rights reserved.

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

Cepheid®, логотип Cepheid, GeneXpert®, Xpert® и Xpertise™ являются товарными знаками компании Cepheid.
Windows® является товарным знаком корпорации Microsoft Corporation.

Информация для покупателя: технология Armored RNA® принадлежит по праву совместной собственности корпорации Asuragen, Inc. и компании Cenetron Diagnostics, Ltd. Armored RNA является зарегистрированным товарным знаком корпорации Asuragen, Inc. и компании Cenetron Diagnostics, Ltd.

Ortho® является зарегистрированным товарным знаком компании Ortho-Clinical Diagnostics.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩИМ ВКЛАДЫШЕМ-ИНСТРУКЦИЕЙ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

Авторское право © 2015-2021 г. Cepheid. Все права защищены



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Xpert® HCV Viral Load

Только для диагностического применения *in vitro*.

1 Фирменное название

Xpert® HCV Viral Load (вирусная нагрузка ВГС)

2 Общепринятое название

HCV VL

3 Назначение

Тест HCV VL, выполняемый на системе GeneXpert®, предназначен для быстрого количественного определения РНК вируса гепатита С (ВГС) в сыворотке или плазме (с ЭДТА) крови ВГС-инфицированных пациентов. В тесте автоматически выполняется полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) и используется флуоресценция для детекции целевой РНК с целью количественного определения HCV.

Тест HCV VL применяется для количественного определения ВГС генотипов 1–6 в диапазоне от 10 до 100 000 000 МЕ/мл. Тест HCV VL предназначен для применения в качестве вспомогательного средства ведения пациентов, инфицированных ВГС и получающих противовирусную терапию. Этот тест измеряет уровни РНК ВГС в исходном состоянии и во время лечения. Он может быть использован для прогнозирования устойчивого и неустойчивого вирусологических ответов на лечение ВГС.

Результаты теста HCV VL также можно использовать для подтверждения инфицирования ВГС у лиц с наличием антител к ВГС. У пациентов с наличием антител к ВГС и отрицательным результатом теста на РНК ВГС можно рассмотреть целесообразность применения другого анализа на антитела к ВГС с целью дифференцирования истинного контакта с ВГС и ложноположительной биологической реакцией. Повторный тест на РНК ВГС может потребоваться для лиц, имевших контакт с ВГС на протяжении последних 6 месяцев или имеющих клинические проявления заболевания, вызванного ВГС.

Тест Xpert HCV VL предназначен для применения специалистами в области лабораторной диагностики или медицинскими работниками, прошедшими специальное обучение.

Этот анализ не предназначен для скрининга доноров на ВГС.

4 Краткие сведения и разъяснения

Вирус гепатита С (HCV), входящий в семейство флавивирусов (Flaviviridae), в настоящее время признан ведущим этиологическим фактором хронических заболеваний печени — хронического активного гепатита, цирроза печени и печеночно-клеточного рака.¹ Геном HCV представляет собой молекулу РНК с положительной полярностью, состоящую примерно из 9500 нуклеотидов.¹ Обычным путем инфицирования HCV является парентеральный контакт с инфицированной кровью — главным образом при использовании внутривенных наркотических препаратов и переливании препаратов необследованной донорской крови. Реже заражение HCV происходит в связи с профессиональной деятельностью, перинатальным путем и при половых контактах.²

Согласно оценке, 185 миллионов человек, что составляет около 3 % населения всех стран мира, инфицированы HCV. Более 80 % из них живут в странах с низким и средним уровнем дохода.³ Это заболевание представляет наибольшую проблему для развивающихся стран; оно наиболее распространено в Китае (3,2 %)⁴, Пакистане (4,8 %)⁴, Нигерии (18,3 %)⁵ и Египте (22 %)⁴. Около 15 миллионов взрослых европейцев инфицированы HCV, и большинство этих людей не знают о наличии у них инфекции HCV.⁶ Ежегодно от 350 000 до 500 000 человек погибают от заболеваний печени, связанных с HCV.⁷

Применение противовирусных препаратов может привести к излечению HCV-инфекции, однако доступность средств диагностики и лечения является ограниченной.⁷ В настоящее время у большинства пациентов можно добиться излечения HCV-инфекции при использовании высокоэффективных, безопасных и хорошо переносимых комбинаций пероральных противовирусных препаратов прямого действия, продолжительность лечения которыми составляет 8–24 недели.⁵ Впервые в научном сообществе стали обсуждать возможность глобальной эрадикации HCV.⁵

Доказано, что количественное определение РНК HCV позволяет оценить выраженность противовирусного ответа на лечение, направленное против HCV. В руководящих указаниях по ведению и лечению пациентов с HCV рекомендуется проводить количественное определение РНК HCV до начала противовирусной терапии, в ходе терапии и после ее завершения. Основной целью лечения является достижение стойкого вирусологического ответа, который определяется как невозможность выявления РНК HCV при помощи чувствительного теста через 12 недель или 24 недели после завершения терапии, направленной против HCV.⁸

5 Принципы выполнения анализа

В системе GeneXpert объединены и автоматически выполняются следующие процессы: очистка пробы, амплификация нуклеиновых кислот и выявление целевой последовательности в простых и сложных образцах при помощи ОТ-ПЦР с использованием флуоресценции для детекции целевой РНК. Система состоит из прибора, персонального компьютера и предустановленного программного обеспечения для выполнения тестов и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи GeneXpert, которые содержат реактивы для ОТ-ПЦР и в которых происходят процессы ОТ-ПЦР. Поскольку картриджи представляют собой замкнутые системы для проведения реакции, вероятность перекрестной контаминации между образцами сводится к минимуму. Полное описание системы представлено в соответствующем *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*.

В комплект теста HCV VL входят реактивы для обнаружения РНК ВГС в образцах и два внутренних контроля для количественного определения РНК ВГС. Внутренние контроли также предназначены для отслеживания выздоровления пациентов и выявления ингибиторов в исследованиях методами ОТ и ПЦР. Контроль качества зондов (Probe Check Control, PCC) предназначен для проверки правильности регидратации реактивов, заполнения пробирки для проведения ПЦР в картридже, целостности зондов и стабильности красителя.

6 Реактивы

6.1 Материалы, входящие в комплект поставки



Набор теста HCV VL содержит реактивы в количестве, достаточном для анализа 10 образцов или проб контроля качества. В набор входят:

Картриджи теста HCV VL со встроенными реакционными пробирками	10
• Гранулы 1, 2 и 3 (лиофилизированные)	1 каждого из типов в одном картридже
• Реактив для лизирования (гуанидина тиоцианат)	2,0 мл в одном картридже
• Реактив для ополаскивания	0,5 мл в одном картридже
• Реактив для вымывания	1,5 мл в одном картридже
• Реактив связывания	2,4 мл в одном картридже
• Протеиназа K	0,48 мл в одном картридже
Одноразовые пипетки для переноса, объемом 1 мл	10 штук в наборе
Компакт-диск	1 штук в наборе
• Файл с описанием теста (Assay Definition File, ADF)	
• Инструкция по импортированию файла ADF в программное обеспечение GeneXpert	
• Инструкция по применению (вкладыш-инструкция)	

Примечание

Паспорта безопасности вещества (Safety Data Sheets, SDS) можно найти по адресу www.cepheidinternational.com на вкладке **SUPPORT (ПОДДЕРЖКА)**.

Примечание

Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма бычьей крови животных, выращенных в США. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время производства не происходило смешивания сырья с другими материалами животного происхождения.

7 Хранение и обращение



- Храните картриджи и реактивы теста HCV VL при температуре 2–28 °C.
- Не открывайте картридж до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение анализа.
- Не используйте картриджи с вытекшими реактивами.
- Не используйте ранее замороженные картриджи и реактивы теста HCV VL.
- Не используйте реактивы или картриджи с истекшим сроком годности.

8 Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Система GeneXpert Dx или GeneXpert Infinity (каталожный номер зависит от конфигурации): прибор GeneXpert, компьютер с патентованным программным обеспечением GeneXpert Dx версии 4.7b или выше (система GeneXpert Dx); или Xpertise версии 6.4b или выше (Infinity-80/Infinity-48s), сканер штрих-кодов и руководство оператора.
- Принтер: если необходим принтер, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.
- Хозяйственный отбеливатель или гипохлорит натрия

9 Предупреждения и меры предосторожности



- При работе со всеми биологическими образцами, в том числе и с использованными картриджами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются агентством «Центры по контролю и профилактике заболеваний» США (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁹ и Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute).¹⁰
- С целью избежать контаминации образцов и реактивов рекомендуется следовать принципам надлежащей лабораторной практики и менять перчатки перед началом работы со следующим образцом.
- Следуйте принятым в учреждении правилам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.
- Не заменяйте реактивы теста HCV VL другими реактивами.
- Открывайте крышку картриджа теста HCV VL только для внесения пробы.
- Не используйте картридж, если он упал после извлечения из упаковки.
- Не встряхивайте картридж. Встряхивание или падение картриджа после открывания его крышки может привести к получению недействительных результатов.
- Не использовать картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- Не используйте картриджи с вытекшими реактивами.
- ② • Каждый одноразовый картридж теста HCV VL применяется для выполнения одного теста. Не использовать картриджи повторно.
- ② • Одноразовая пипетка используется для переноса одного образца. Не использовать одноразовые пипетки повторно.
- Пользуйтесь чистыми лабораторными халатами и перчатками. Перчатки подлежат замене перед обработкой каждой следующей пробы.
- В случае загрязнения рабочей зоны или оборудования пробами или контролями тщательно протрите контаминированный участок разбавленным в соотношении 1:10 хлорсодержащим хозяйственным отбеливателем или гипохлоритом натрия, а затем 70 % этиловым спиртом или 70 % денатурированным этиловым спиртом. Прежде чем продолжать, протрите рабочие поверхности насухо.
- Обратитесь в службу удаления отходов вашего учреждения по вопросам правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реактивов. Ознакомьтесь с региональными и местными нормативами, поскольку они могут отличаться от федеральных нормативов удаления отходов. Некоторые материалы могут подпадать под определение «опасные отходы», на которые распространяются особые требования по удалению отходов. Учреждениям следует соблюдать действующие требования по удалению опасных отходов.

- Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, и они требуют соблюдения стандартных мер предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реактивов выполняйте принятые в вашем учреждении правила защиты окружающей среды. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе правила не дают ясных указаний по правильному удалению в отходы, биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их удаления.

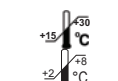
10 Опасные химические факторы^{11,12}

- Сигнальное слово: ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ
- Заявления об опасности СГС ООН:**
 - Вредно при проглатывании
 - Вызывает слабое раздражение кожи
 - Вызывает раздражение глаз
- Заявления о мерах предосторожности СГС ООН:**
 - Профилактика**
 - После использования тщательно вымыть.
 - Меры реагирования**
 - При плохом самочувствии обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту/терапевту.
 - При раздражении кожи: обратиться за медицинской консультацией/помощью.
 - ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь и если это легко сделать. Продолжить промывание.
 - Если раздражение глаз не проходит: обратиться за медицинской консультацией/помощью.

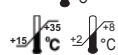
11 Сбор, хранение и транспортировка образца

Цельную кровь следует собирать в пробирки с K2 ЭДТА, пробирки для отделения плазмы с ЭДТА или пробирки для сбора сыворотки и центрифугировать для отделения плазмы или сыворотки от эритроцитов в соответствии с инструкциями изготовителя пробирок.

- Для теста HCV VL требуется не менее 1 мл плазмы или сыворотки. При использовании входящей в набор пипетки для переноса требуется не менее 1,2 мл плазмы или сыворотки. Либо, при использовании прецизионной пипетки, требуется не менее 1 мл плазмы или сыворотки.



- Перед получением плазмы или сыворотки цельную кровь можно хранить до 24 часов при температуре 15–30 °C или до 3 дней при температуре 2–8 °C. Центрифугировать в соответствии с инструкциями изготовителя.



- После центрифугирования и отделения плазму и сыворотку можно хранить до исследования в течение до 24 часов при температуре 15–35 °C или до 3 дней при температуре 2–8 °C.



- Замороженные образцы плазмы и сыворотки (от -70 °C до -18 °C) сохраняют стабильность до 6 недель.
- Стабильность образцов плазмы и сыворотки сохраняется в течение не более трех циклов замораживания–размораживания.
- До переноса в картридж образцы плазмы и сыворотки следует разморозить и дождаться их согревания до комнатной температуры.



- Цельная кровь, плазма и сыворотка подлежат транспортировке при температуре 2–8 °C.
- При транспортировке образцов цельной крови, плазмы или сыворотки следует соблюдать государственные, региональные и местные нормативные требования по транспортировке возбудителей инфекционных заболеваний.

12 Процедура

12.1 Подготовка образца



1. После центрифугирования пробы цельной крови можно перенести 1 мл плазмы пипеткой непосредственно в картридж. Для получения действительных результатов крайне важно использовать достаточный объем образца (см. инструкции ниже в разделе 12.2 «Подготовка картриджа», вариант 1).
2. Замороженные образцы перед использованием следует поместить в условия комнатной температуры (20–35 °C) до полного оттаивания и согревания до комнатной температуры.
3. Пробы плазмы и сыворотки, хранившиеся при температуре 2–8 °C, перед использованием необходимо извлечь из холодильника и дождаться их согревания до комнатной температуры.
4. Пробы плазмы, хранившиеся при температуре 2–8 °C или замороженные и оттаявшие, перед использованием необходимо перемешать на вихревой мешалке в течение 15 секунд. Мутный образец следует осветлить непродолжительным центрифугированием.

12.2 Подготовка картриджа

1. Наденьте одноразовые защитные перчатки.
2. Осмотрите подлежащий использованию картридж на предмет отсутствия повреждений. В случае повреждения не используйте его.
3. Откройте крышку картриджа.
 - **Вариант 1:** при использовании пипетки для переноса, входящей в набор (рисунок 1), из пробирки для сбора наберите в пипетку плазму или сыворотку почти до уровня головки, но выше линии на пипетке. Это позволит перенести не менее 1 мл плазмы или сыворотки в камеру для пробы картриджа (рисунок 2). **НЕ** переливайте образец в камеру!
 - **Вариант 2:** при использовании автоматической пипетки перенесите не менее 1 мл плазмы или сыворотки в камеру для пробы картриджа (рисунок 2). **НЕ** переливайте образец в камеру!

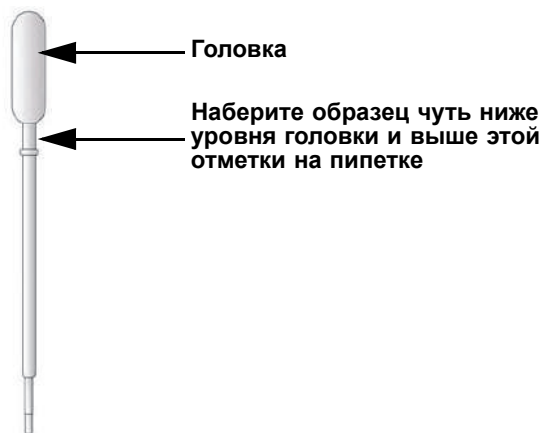


Рисунок 1. Пипетка для переноса теста HCV VL

4. Закройте крышку картриджа.
5. Загрузите картридж в прибор GeneXpert Dx или в систему Infinity.

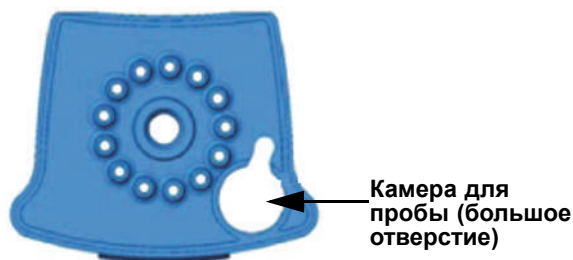


Рисунок 2. Картридж теста HCV VL (вид сверху)

12.3 Запуск теста

Важно Прежде чем начинать анализ, убедитесь, что файл с описанием теста (Assay Definition File, ADF) HCV VL импортирован в программное обеспечение.

Примечание

Выполняемые вами действия могут быть другими, если системный администратор изменит установленный по умолчанию порядок работы системы.

В данном разделе перечисляются основные действия при выполнении теста. Подробные инструкции приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемой модели.

1. Включите анализатор GeneXpert.
 - При использовании GeneXpert Dx вначале следует включить прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически. Если программное обеспечение не запускается автоматически, дважды щелкните по ярлыку программного обеспечения GeneXpert Dx, который находится на рабочем столе Windows®.
 - или
 - При использовании GeneXpert Infinity следует включить прибор. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически. Если программное обеспечение не запускается автоматически, дважды щелкните по ярлыку программного обеспечения Xpertise, который находится на рабочем столе Windows®.
2. Войдите в программное обеспечение системы Система GeneXpert под своим именем пользователя и паролем.
3. В окне GeneXpert System выберите пункт **Создать анализ** (для GeneXpert Dx) или выберите пункт **Orders (Команды)**, а затем **Order Test (Заказать тест)** (для Infinity).
4. Отсканируйте идентификационный номер пациента (не обязательно). Удостоверьтесь в правильности введенного вручную идентификационного номера пациента. Идентификационный номер пациента связывается с результатом теста и указывается в окне «View Results» (Просмотреть результаты).
5. Отсканируйте или введите вручную идентификационный номер пробы. Удостоверьтесь в правильности введенного вручную идентификационного номера пробы. Идентификационный номер образца связывается с результатами анализа и указывается в окне «View Results» (Просмотреть результаты) и во всех отчетах. Появится диалоговое окно «Scan Cartridge» (Сканировать штрих-код картриджа).
6. Отсканируйте штрих-код на картридже теста HCV VL. Появится окно «Create Test» (Создать анализ). На основе информации, считанной со штрих-кода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «Select Assay» (Выбрать тест), «Reagent Lot ID» (ID партии реактива), «Cartridge SN» (С/Н картриджа) и «Expiration Date» (Срок годности).
7. Выберите пункт **Начать анализ** (для GeneXpert Dx) или **Submit (Отправить)** (для Infinity). При необходимости введите пароль.
8. При использовании системы GeneXpert Infinity поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, будет выполнен анализ, а использованный картридж удален в контейнер для отходов.

или

Для прибора GeneXpert Dx:

- A. Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
- B. Закройте дверцу. После этого начинается анализ, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса анализа индикаторная лампа выключается.
- C. Перед открытием модуля и извлечением картриджа дождитесь разблокирования системой замка дверцы.
- D. Использованные картриджи следует удалять в подходящие контейнеры для сбора отходов образцов согласно стандартным правилам, принятым в вашем учреждении.

13 Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечисляются основные действия по просмотру и печати результатов. Для получения более подробных инструкций обратитесь к *руководству оператора системы GeneXpert Dx* или *руководству оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемого прибора.

1. Для просмотра результатов выберите ярлык **View Results (Просмотреть результаты)**.

- По завершении анализа выберите кнопку **Report (Отчет)** в окне «View Results» (Просмотреть результаты) для просмотра отчета и (или) получения отчета в формате PDF.

14 Контроль качества

CONTROL

Каждый тест содержит контроль достаточности объема пробы (Sample Volume Adequacy, SVA), внутренний количественный стандарт высокой и низкой концентрации (IQS-H и IQS-L), который также выступает в качестве контроля обработки образца (specimen processing control, SPC), и контроль качества зондов (Probe Check Control, PCC).

- Контроль достаточности объема пробы (SVA)** — Позволяет удостовериться в правильности внесения пробы в картридж. Контроль SVA позволяет подтвердить, что в камеру для пробы внесен надлежащий объем пробы. Контроль SVA считается пройденным, если его результат соответствует валидированным критериям приемлемости. Если контроль SVA не пройден, на экране отобразится сообщение **ERROR 2096 (ОШИБКА 2096)**, при отсутствии пробы, или **ERROR 2097 (ОШИБКА 2097)**, при недостаточном объеме пробы. Система не позволит пользователю возобновить тестирование.
- Внутренний количественный стандарт высокой и низкой концентрации (IQS-H и IQS-L)** — IQS-H и IQS-L представляют собой две «защищенные» РНК — Armored RNA® — в виде сухих гранул, которые проходят весь процесс тестирования. IQS-H и IQS-L являются стандартными образцами, калиброванными относительно международного стандартного образца ВОЗ (WHO 4th International Standard) HCV. Они предназначены для количественного определения с использованием специфичных для партии параметров при расчете концентрации РНК HCV в пробе. Также контроли IQS-H и IQS-L позволяют обнаружить ингибирование реакции ОТ-ПЦР, связанное с образцом. Контроли IQS-H и IQS-L считаются пройденными, если их результаты соответствуют валидированным критериям приемлемости.
- Контроль качества зондов (PCC)** — Перед началом ПЦР системой GeneXpert измеряется флуоресцентный сигнал от зондов для проверки регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зонда и стабильности красителя. Контроль PCC считается пройденным, если его результат соответствует валидированным критериям приемлемости.
- Внешние контроли** — В соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики, внешние контроли, не входящие в данный набор, следует использовать согласно применимым требованиям местных, региональных и государственных органов сертификации.

15 Интерпретация результатов

Результаты интерпретируются Система GeneXpert автоматически на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета и отображаются в окне «View Results» (Просмотреть результаты) (рисунок 3 и рисунок 5). Возможные результаты приведены в таблица 1.

Таблица 1. Результаты теста HCV VL и их интерпретация

Результат	Интерпретация
HCV DETECTED (HCV ОБНАРУЖЕН) XX IU/mL (log X.XX) [XX ME/мл (log X,XX)] См. рисунок 3.	РНК HCV обнаружена в количестве XX ME/мл. <ul style="list-style-type: none"> Титр РНК HCV находится в пределах линейного диапазона теста, и конечная точка превышает минимальное значение. IQS-H и IQS-L: PASS (ПРОЙДЕН). Контроль качества зондов: PASS (ПРОЙДЕН); все проверки качества зондов пройдены.
HCV DETECTED (HCV ОБНАРУЖЕН) > 1.00E08 IU/mL (> 1,00E08 ME/мл) См. рисунок 4.	Обнаруженный уровень РНК HCV превышает диапазон количественных изменений теста. <ul style="list-style-type: none"> IQS-H и IQS-L: PASS (ПРОЙДЕН). Контроль качества зондов: PASS (ПРОЙДЕН); все проверки качества зондов пройдены.
HCV DETECTED (HCV ОБНАРУЖЕН) < 10 IU/mL (< 10 ME/мл) См. рисунок 5.	Обнаруженный уровень РНК HCV находится ниже диапазона количественных измерений теста. <ul style="list-style-type: none"> IQS-H и IQS-L: PASS (ПРОЙДЕН). Контроль качества зондов: PASS (ПРОЙДЕН); все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.

Таблица 1. Результаты теста HCV VL и их интерпретация (продолжение)

Результат	Интерпретация
HCV NOT DETECTED (HCV НЕ ОБНАРУЖЕН) См. рисунок 6.	РНК HCV не обнаружена. <ul style="list-style-type: none"> РНК HCV не обнаружена. IQS-H и IQS-L: PASS (ПРОЙДЕН). Контроль качества зондов: PASS (ПРОЙДЕН); все проверки качества зондов пройдены.
INVALID (НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ) См. рисунок 7.	Невозможно установить наличие или отсутствие РНК HCV. Повторите тестирование в соответствии с указаниями раздел 16.2, Повторный анализ. <ul style="list-style-type: none"> IQS-H и (или) IQS-L: FAIL (НЕ ПРОЙДЕН); пороги цикла (Cycle thresholds, Cts) не находятся в действительном диапазоне, и конечная точка ниже минимального значения. Контроль качества зондов: PASS (ПРОЙДЕН); все проверки качества зондов пройдены.
ERROR (ОШИБКА) См. рисунок 8.	Невозможно установить наличие или отсутствие РНК HCV. Повторите тестирование в соответствии с указаниями раздел 16.2, Повторный анализ. <ul style="list-style-type: none"> Контроль качества зондов: FAIL (НЕ ПРОЙДЕН)*; все или одна из проверок в рамках контроля качества зондов не пройдены (-а). <p>* Если проверка качества зондов пройдена, ошибка вызвана выходом за границы приемлемого диапазона предельного максимального давления или сбоем компонента системы.</p>
NO RESULT (НЕТ РЕЗУЛЬТАТА)	Невозможно установить наличие или отсутствие РНК HCV. Повторите тестирование в соответствии с указаниями раздел 16.2, Повторный анализ. Сообщение NO RESULT (НЕТ РЕЗУЛЬТАТА) свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если лаборант прервал текущий процесс анализа.

Примечание

Снимки экрана приводятся только для примера. Действительные название теста и номер версии могут отличаться от приведенных на снимках экрана в данном вкладыше-инструкции.

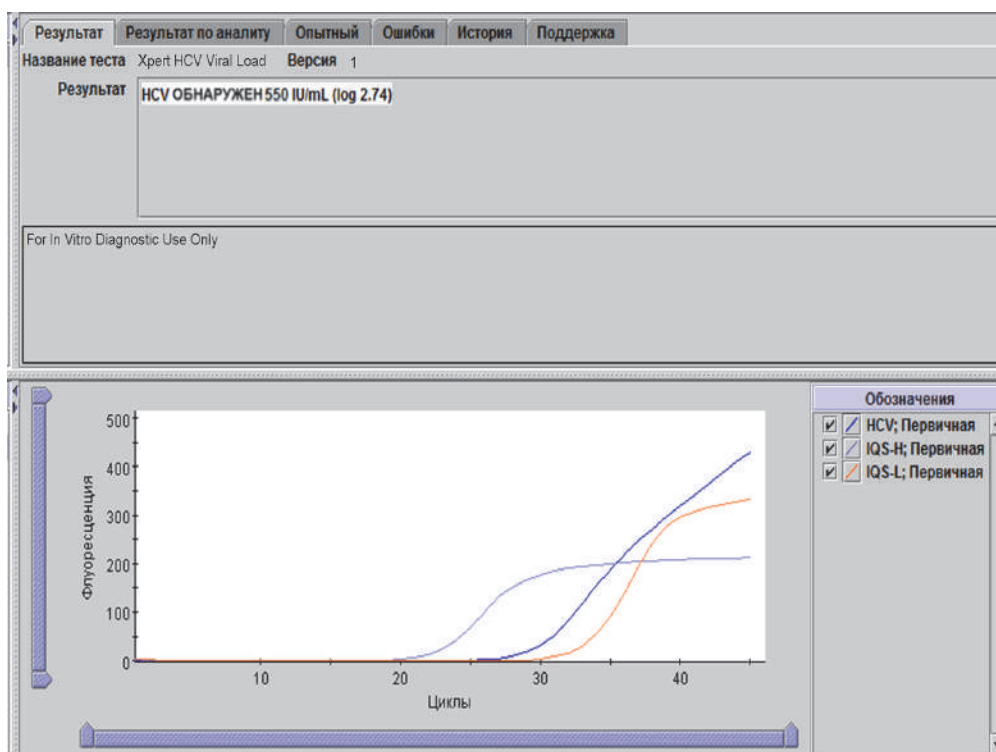


Рисунок 3. HCV обнаружен и определен уровень его концентрации

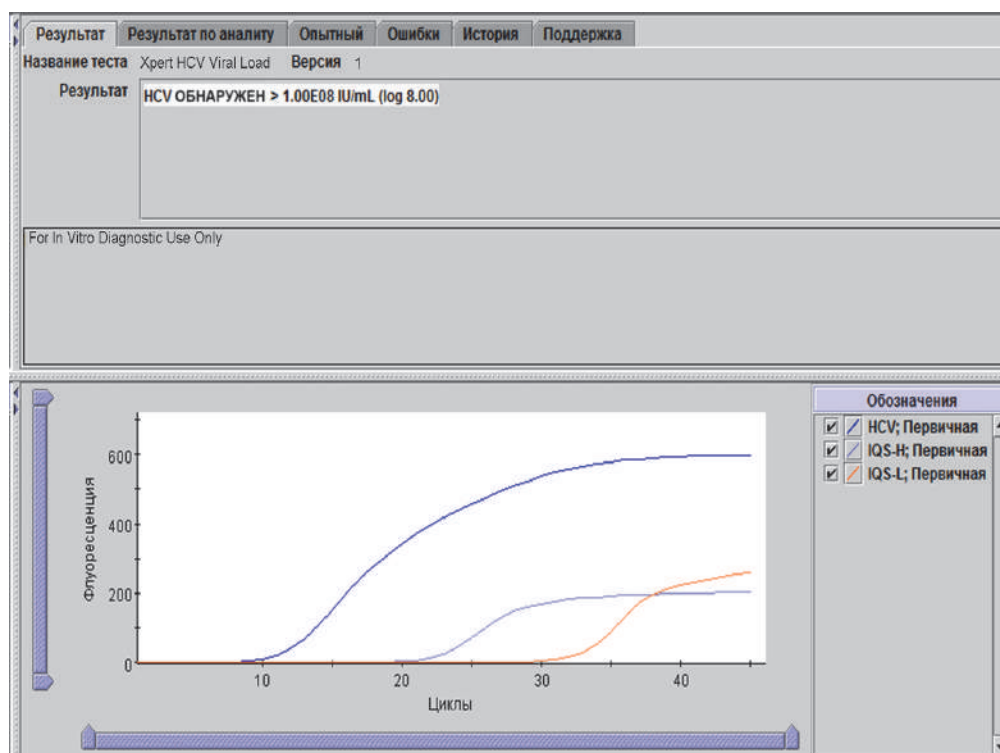


Рисунок 4. HCV обнаружен

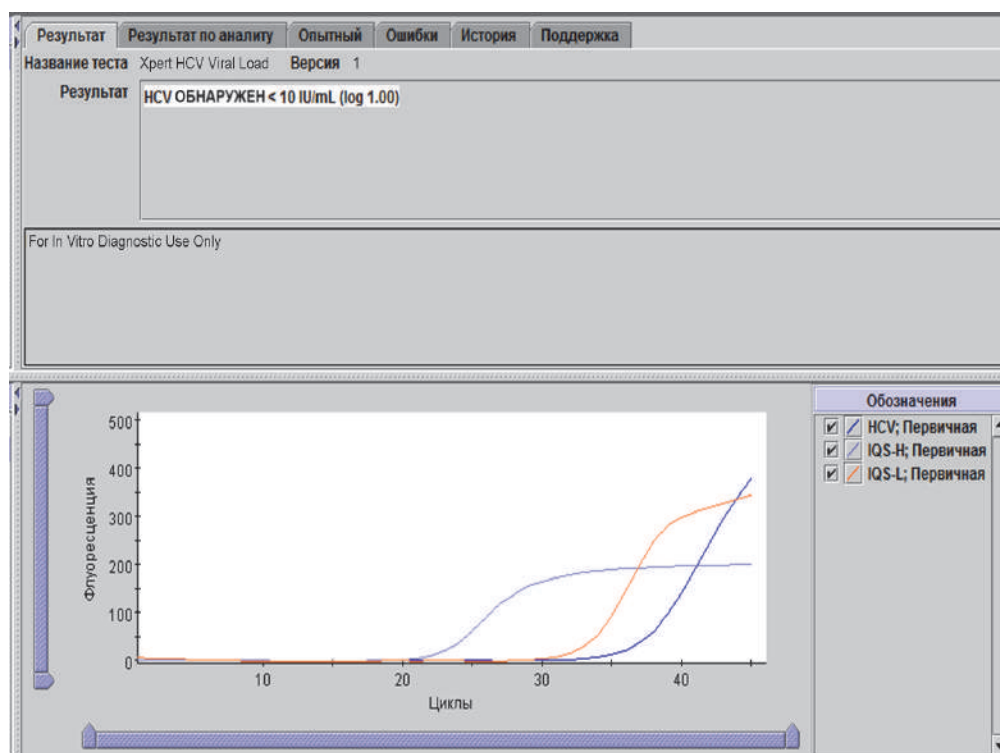


Рисунок 5. HCV обнаружен

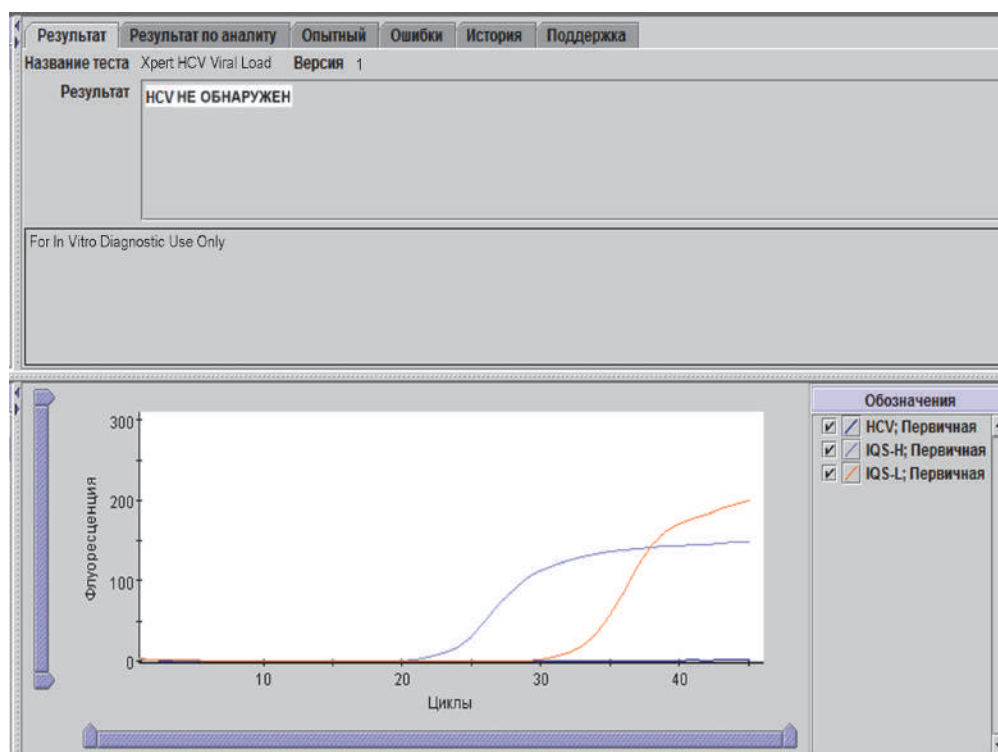


Рисунок 6. HCV не обнаружен

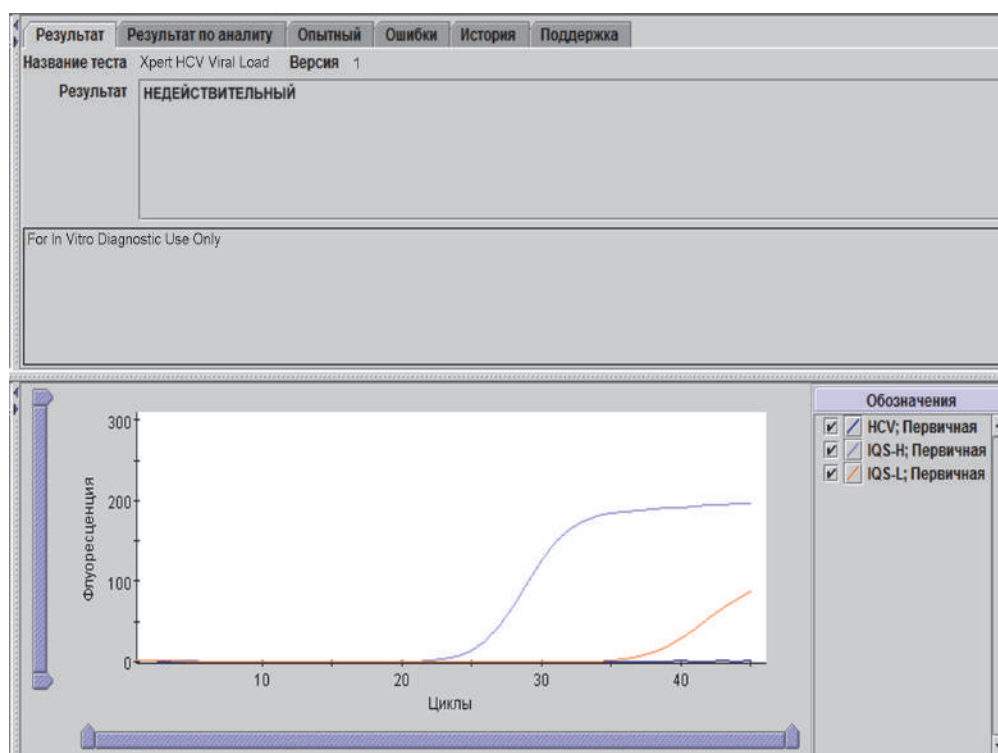


Рисунок 7. Недействительный

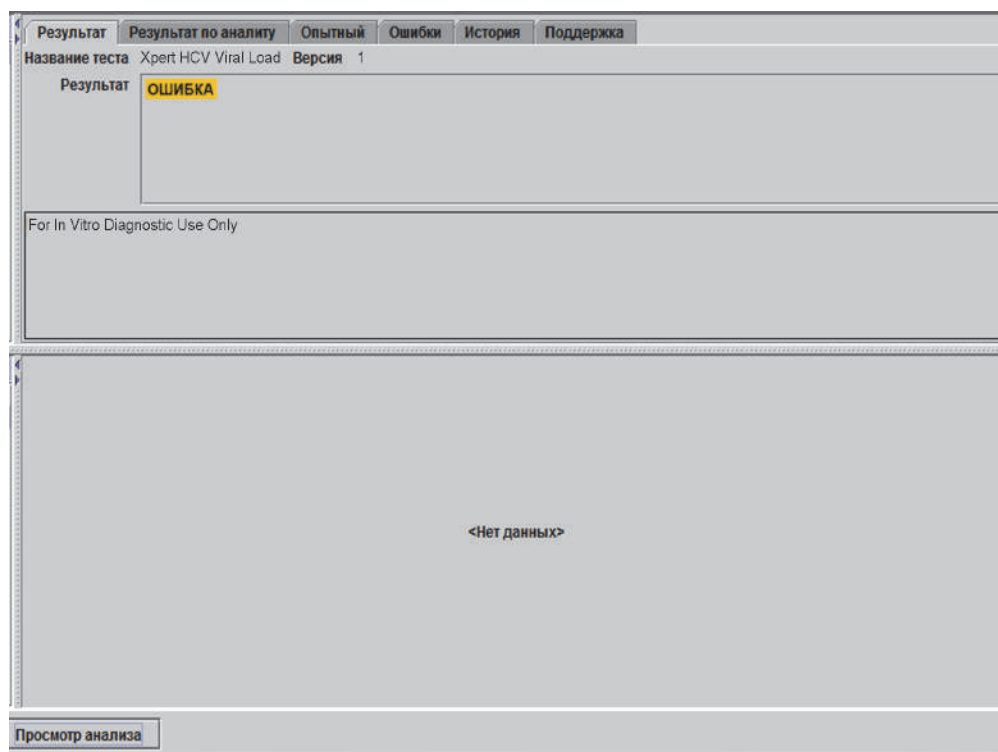


Рисунок 8. Ошибка

16 Повторное тестирование

16.1 Причины повторного выполнения теста

При получении одного из следующих результатов повторите тестирование в соответствии с указаниями раздел 16.2, Повторный анализ.

- Результат **INVALID (НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ)** связан с одной или более следующих причин:
 - значения Cts IQS-H и (или) IQS-L не находятся в действительном диапазоне;
 - проба не обработана надлежащим образом или ПЦР была ингибирована.
- Результат **ERROR (ОШИБКА)** показывает, что анализ был прерван. К возможным причинам относятся следующие: внесен недостаточный объем пробы, неправильно заполнена реакционная пробирка, обнаружена проблема целостности зонда или превышен максимальный предел давления.
- Сообщение **NO RESULT (НЕТ РЕЗУЛЬТАТА)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Например, если оператор остановил тестирование или произошел перебой в подаче электроэнергии.

16.2 Повторный анализ

Для повторного тестирования в случаях получения результата **NO RESULT (НЕТ РЕЗУЛЬТАТА)**, **INVALID (НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ)** или **ERROR (ОШИБКА)** используйте новый картридж (не допускайте повторного использования картриджа) и новые реактивы.

- Извлеките новый картридж из набора.
- См. раздел 12, Процедура, включая раздел 12.1, Подготовка образца, раздел 12.2, Подготовка картриджа раздел 12.3, Запуск теста.

17 Ограничения

С целью избежать контаминации реактивов рекомендуется соблюдать принципы надлежащей лабораторной практики и менять перчатки перед началом работы со следующим образцом.

Мутации или полиморфизм в участках связывания праймера или зонда могут повлиять на возможность обнаружения новых или неизвестных вариантов ВГС и привести к получению ложноотрицательных результатов.

18 Функциональные характеристики

18.1 Предел обнаружения

Порог обнаружения (LOD) теста HCV VL определяли в исследованиях с использованием восьми различных разведений, приготовленных из стандартного образца ВГС генотипа 1 в плазме с ЭДТА и сыворотке, отрицательных на ВГС. В качестве материала HCV генотипа 1 в исследовании предела обнаружения (LOD) использовали международный стандартный образец ВОЗ (WHO 4th International standard, NIBSC code 06/102). Предел обнаружения устанавливали для реактивов трех партий и в общей сложности в 72 или 73 повторях на каждый уровень разведения. Один дополнительный уровень низкой концентрации был введен в исследование для обоих типов проб после первого дня тестирования. Для этого уровня выполнено меньшее количество повторов (49 для плазмы и 53 для сыворотки). Оценку выполняли в соответствии с руководящими указаниями CLSI E17-A2. Концентрацию РНК HCV, которая может обнаруживаться с долей положительных результатов выше 95 %, определяли при помощи регрессионного пробит-анализа. Результаты для отдельных партий и образцов представлены в таблице 2. Максимальный наблюдаемый предел обнаружения (LOD), установленный при помощи пробит-анализа для образца плазмы с ЭДТА, содержащей HCV генотипа 1, составил 4,0 МЕ/мл (95 % ДИ: 2,8–5,2). Максимальный наблюдаемый предел обнаружения (LOD), установленный при помощи пробит-анализа для образца сыворотки, содержащей HCV генотипа 1, составил 6,1 МЕ/мл (95 % ДИ: 4,2–7,9).

Таблица 2. Оценочные значения предела обнаружения (LOD) для теста HCV VL, полученные методом пробит-регрессии, и 95 % верхняя и нижняя границы доверительных интервалов для образцов плазмы и сыворотки, содержащих HCV генотипа 1, с распределением по партии набора

Образец	Партия	LoD 95 % (МЕ/мл)	95 % ДИ (МЕ/мл)
ВОЗ (плазма)	1	3,3	2,4 - 4,2
	2	4,0	2,7 - 5,2
	3	4,0	2,8 - 5,2
ВОЗ (сыворотка)	1	6,1	4,2 - 7,9
	2	2,6	1,9 - 3,3
	3	2,3	1,8 - 2,9

Анализ коэффициента попаданий показал, что доля положительных результатов >95 % достигается на уровне концентрации 6 МЕ/мл при исследовании материала, содержащего HCV генотипа 1; см. таблица 3.

Таблица 3. Предел обнаружения (LOD) теста HCV VL для образцов плазмы с ЭДТА и сыворотки, содержащих HCV генотипа 1

Образец	Концентрация (МЕ/мл)	Количество повторов	Количество положительных	Доля положительных результатов (%)
ВОЗ (плазма)	0,5 ^а	49	24	49
	1	72	47	65
	2	72	61	85
	3	72	69	96
	4	72	67	93
	6	72	71	99
	8	73	73	100
	10	72	72	100
ВОЗ (сыворотка)	0,5 ^а	53	21	40
	1	73	47	64
	2	73	64	88
	3	72	69	96
	4	73	71	97
	6	72	71	99
	8	72	70	97
	10	72	72	100

а. Уровень концентрации 0,5 МЕ/мл включен в исследование на 2-й день в связи с большой долей положительных результатов, полученных на уровне 1 МЕ/мл после первого дня исследования

Кроме того, выполнено тестирование клинических образцов, содержащих HCV генотипов 1a, 2b, 3a, 4a, 5a и 6a, разведенных в человеческой плазме с ЭДТА, отрицательной на HCV. Тестирование проводили с использованием реактивов одной партии в 24 повторах на каждый уровень концентрации. Номинальную концентрацию в клинических образцах определяли в тесте Abbott RealTime HCV™. Анализ коэффициента попаданий показал, что доля положительных результатов >95 % отмечается при уровне концентрации 10 МЕ/мл всех генотипов; см. таблица 4. Установлено, что предел обнаружения (LOD) теста HCV VL составляет 10 МЕ/мл в образцах плазмы с ЭДТА и сыворотки, содержащих HCV генотипов 1–6.

Таблица 4. Анализ коэффициента попаданий предела обнаружения (LOD) теста HCV VL в образцах плазмы с ЭДТА, содержащих HCV генотипов 1–6

Генотип	Наименьший уровень концентрации с >95 % коэффициентом попаданий (МЕ/мл)	Коэффициент попаданий (%)
1a	10	100
2b	4	100
3a	6	100
4a	4	100
5a	2	96
6a	4	96

18.2 Предел количественного определения

Общую аналитическую ошибку рассчитывали с использованием оценочных данных, полученных в анализе данных исследования предела обнаружения (LOD) (стандарт ВОЗ) и исследования прецизионности/воспроизводимости, в соответствии с руководящими указаниями CLSI E17-A2. Значения общей аналитической ошибки для разведений, наблюдаемая концентрация вируса в которых находилась на уровне или возле уровня предела обнаружения теста, 10 МЕ/мл ($1,0 \log_{10}$) представлены в таблица 5. Общую аналитическую ошибку рассчитывали двумя различными методами.

Таблица 5. Анализ общей аналитической ошибки теста HCV VL для установления предела количественного обнаружения

Образец (исследование)	Партия РАЗВ	N	Концентрация ($\log_{10}$ МЕ/мл)		Систем- атичес- кая ошибка	Общее СО	Общая аналити- ческая ошибка ^а Абсолют- ная систем- атичес- кая ошибка + (2хСО)	Общая аналити- ческая ошибка ^б 2хкв. корень (2)хСО
			Ожид- аемая	Наблюд- аемая				
Асrometrix (Прецизи- онность)	РАЗВ.1	72	1,40	1,31	0,09	0,15	0,38	0,41
	РАЗВ.2	72	1,40	1,29	0,11	0,14	0,40	0,41
	РАЗВ.3	72	1,40	1,24	0,16	0,12	0,41	0,35
Асrometrix (Прецизион- ность)	РАЗВ.1	72	1,00	0,92	0,08	0,22	0,52	0,62
	РАЗВ.2	72	1,00	0,82	0,18	0,18	0,54	0,51
	РАЗВ.3	72	1,00	0,75	0,25	0,19	0,63	0,54
ВОЗ, плазма (LoD)	РАЗВ.1	24	1,00	0,91	0,09	0,21	0,51	0,59
	РАЗВ.2	24	1,00	0,82	0,18	0,30	0,78	0,86
	РАЗВ.3	24	1,00	0,86	0,14	0,17	0,48	0,48
ВОЗ, сыворотка (LoD)	РАЗВ.1	24	1,00	0,96	0,04	0,13	0,30	0,37
	РАЗВ.2	24	1,00	0,88	0,12	0,23	0,58	0,66
	РАЗВ.3	24	1,00	0,80	0,20	0,18	0,57	0,52

а. Общая аналитическая ошибка, рассчитанная при помощи модели Вестгарда согласно стандарту CLSI EP17-A2 (раздел 6.2)

б. Общая аналитическая ошибка на основе разницы между двумя методиками измерения

Результаты анализа общей аналитической ошибки показывают, что тест HCV VL позволяет определять концентрации 10 МЕ/мл ($1,0 \log_{10}$) с приемлемыми правильностью и прецизионностью.

18.3 Прецизионность/воспроизводимость

Прецизионность и воспроизводимость теста HCV VL определяли путем анализа параллельных разведений стандартных образцов ВГС в ВГС-отрицательной плазме с ЭДТА. Номинальную концентрацию в использованном стандартном образце калибровали по международному стандартному образцу ВОЗ (WHO 4th HCV International Standard, 06/102). Это слепое сравнительное исследование проведено в двух центрах с использованием семикомпонентной панели, изготовленной из стандартного образца ВГС в ВГС-отрицательной плазме с ЭДТА при концентрациях РНК в пределах всего диапазона количественного определения теста HCV VL. Два оператора в каждом из двух исследовательских центров один раз в день на протяжении шести дней для каждой партии тестировали одну панель, состоящую из 21 пробы. В одном центре применяли прибор Infinity-80, а в другом — приборы GeneXpert Dx. Для исследования использованы три партии реактивов теста HCV VL. Прецизионность/воспроизводимость оценивали в соответствии с документом CLSI EP5-A2, «Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline». Результаты по прецизионности для каждой партии реактивов представлены в таблице 6.

Таблица 6. Прецизионность теста HCV VL по партиям

Ожидаемая концентрация РНК HCV log ₁₀ МЕ/мл	Общая прецизионность для партии					
	Партия 1		Партия 2		Партия 3	
	СО	КВ ^а	СО	КВ ^а	СО	КВ ^а
1,0	0,23	55,8 %	0,18	44,2 %	0,20	48,1 %
1,4	0,15	35,1 %	0,15	35,8 %	0,13	29,6 %
2,7	0,09	20,7 %	0,09	20,6 %	0,09	20,2 %
4,2	0,07	16,4 %	0,08	18,9 %	0,07	15,3 %
5,4	0,12	28,3 %	0,09	19,9 %	0,07	16,2 %
6,9	0,13	31,8 %	0,09	20,9 %	0,07	17,0 %
8,2	0,10	22,7 %	0,10	23,7 %	0,08	17,8 %

а. «КВ» является логнормальным КВ, полученным по формуле:

$$CV \text{ (of the lognormal dist)} = \sqrt{10^{\ln(10) \cdot \sigma^2} - 1}$$

Воспроизводимость и прецизионность теста HCV VL оценивали методом иерархического дисперсионного анализа, где в качестве условий использовались следующие: центр/прибор, партия, день, оператор/серия, в пределах серии. Рассчитывали стандартное отклонение и процент вариальности концентрации HCV, представленной в виде $\log_{10}$, под влиянием каждого условия (см. таблица 7).

Таблица 7. Стандартное отклонение, влияние каждого условия (в процентах вариальности) и общая прецизионность

Концентрация РНК HCV $\log_{10}$ МЕ/мл			Влияние на общую вариальность, СО (КВ %)										Общая прецизионность			
			Центр/ прибор		Партия		День		Оператор/ серия		В пределах серии		Всего			
Ожидаемая	Факт-ическая	N	СО	(%) ^a	СО	(%) ^a	СО	(%) ^a	СО	(%) ^a	СО	(%) ^a	СО	Ниж-няя граница ДИ	Верх-няя граница ДИ	КВ ^b
1,0	0,83	216	0,03	1,8 %	0,08	13,2 %	0,04	3,5 %	0,00	0,0 %	0,19	81,6 %	0,21	0,18	0,25	51,7 %
1,4	1,28	216	0,00	0,0 %	0,04	7,1 %	0,00	0,0 %	0,00	0,0 %	0,14	92,9 %	0,14	0,13	0,16	34,1 %
2,7	2,66	216	0,00	0,0 %	0,04	17,2 %	0,00	0,0 %	0,02	3,2 %	0,08	79,5 %	0,09	0,08	0,11	22,1 %
4,2	4,18	215	0,00	0,0 %	0,05	30,9 %	0,01	2,6 %	0,00	0,0 %	0,07	66,5 %	0,09	0,07	0,12	20,6 %
5,4	5,44	216	0,00	0,0 %	0,06	26,5 %	0,00	0,0 %	0,01	1,3 %	0,09	72,2 %	0,11	0,09	0,14	25,8 %
6,9	6,86	216	0,00	0,0 %	0,07	34,0 %	0,02	3,4 %	0,00	0,0 %	0,10	62,5 %	0,13	0,10	0,17	29,8 %
8,2	8,11	216	0,00	0,0 %	0,09	47,9 %	0,00	0,0 %	0,02	2,6 %	0,09	49,5 %	0,13	0,10	0,19	30,5 %

a. (%) представляет собой влияние компонента дисперсии на общий логнормальный КВ

b. «КВ» является логнормальным КВ, полученным по формуле:

$$CV \text{ (of the lognormal dist)} = \sqrt{10^{\ln(10) \cdot \sigma^2} - 1}$$

18.4 Линейный диапазон и инклюзивность

Линейный диапазон теста HCV VL определяли путем анализа двенадцати компонентной панели с концентрациями от ~ 5 ($0,75 \log_{10}$) до $\sim 1 \times 10^8$ ($8 \log_{10}$) МЕ/мл. Панели готовили путем параллельного разведения стандартного образца ВГС ((Armored RNA® генотип 1 и клинический образец 1) в плазме с ЭДТА и сыворотке, отрицательных на ВГС. Номинальную концентрацию в использованном стандартном образце калибровали по международному стандартному образцу ВОЗ (WHO 4th HCV International Standard, 06/102). Каждый компонент панели тестировали в четырех повторах каждый день на протяжении трех дней, с использованием наборов двух партий. Всего выполнено по 24 повтора на каждый компонент панели и тип образца. Анализ линейности выполняли в соответствии с руководящими указаниями CLSI EP06-A. Объединенные результаты для обеих партий представлены на рисунок 9 и рисунок 10. Тест HCV VL является линейным в диапазоне 0,8–8,0 $\log_{10}$ МЕ/мл со значением $R^2 > 0,997$.

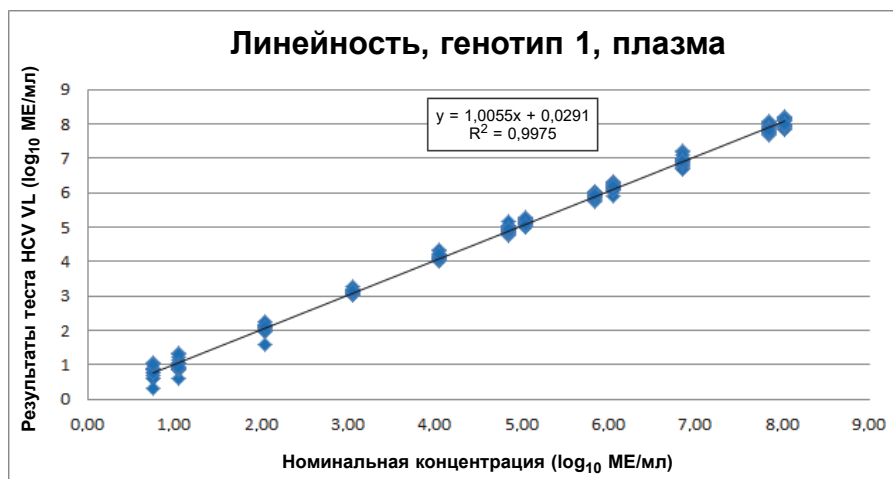


Рисунок 9. Линейность теста HCV VL в отношении генотипа 1 при исследовании плазмы с ЭДТА

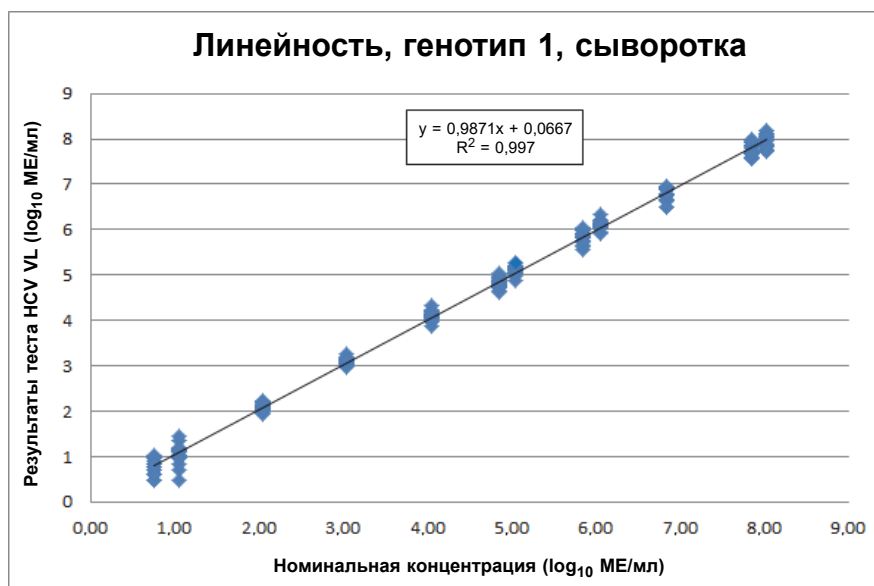


Рисунок 10. Линейность теста HCV VL в отношении генотипа 1 при исследовании сыворотки

Для подтверждения диапазона линейности и оценки инклюзивности теста HCV VL были приготовлены панели, состоящие из клинических образцов, представляющих генотипы ВГС 2–6 и, при возможности, Armored RNA® (только генотипы 2 и 3) в отрицательной плазме человека с добавлением ЭДТА. Были приготовлены панели из 7–13 компонентов на каждый генотип с целью получить как можно более широкий диапазон концентраций (от ~ 0,9–6 log₁₀ МЕ/мл для генотипа 5 до ~ 0,9 – 8,3 log₁₀ для генотипа 3). Компоненты панели тестировали в четырех повторях каждый день на протяжении трех дней с использованием наборов двух партий. Всего выполнено по 24 повтора на каждый компонент панели и генотип. Номинальную концентрацию в использованных стандартных образцах калибровали по международному стандартному образцу ВОЗ (WHO 4th HCV International Standard, 06/102). Для всех генотипов была установлена линейность со значениями R² в диапазоне 0,994 – 0,998.

18.5 Аналитическая специфичность (эксклюзивность)

Аналитическая специфичность анализа HCV VL была оценена путем внесения микроорганизмов, способных дать перекрестные реакции, в исходной концентрации 1 x 10⁵ КОЕ/мл, копий/мл или TCID₅₀/мл в ВГС-отрицательную плазму с ЭДТА или плазму, содержащую ~25 МЕ/мл стандартного материала ВГС (клинического образца генотипа 1). Исследованные микроорганизмы перечислены в таблице 8.

Таблица 8. Микроорганизмы, использованные для оценки аналитической специфичности

Вирус иммунодефицита человека 1
Вирус иммунодефицита человека 2
Т-лимфотропный вирус человека I типа
Т-лимфотропный вирус человека II типа
<i>Candida albicans</i>
Цитомегаловирус
Вирус Эпштейна — Барра
Вирус гепатита А
Вирус гепатита В
Вирус простого герпеса 1 типа
Вирус простого герпеса 2 типа
Вирус герпеса человека 6 типа
Вирус герпеса человека 8 типа
Вирус ветряной оспы
Вирус ВК (полиомавирус человека 1)
Вирус Банзи
Вирус Ильеус
Вирус лихорадки Западного Нила
Вирус Зика
Папилломавирус человека тип 16
Папилломавирус человека тип 18
<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>

Ни один из исследованных микроорганизмов не дал перекрестной реакции, и результат определения РНК ВГС тестом HCV VL во всех положительных повторях составил ± 0,5 log по сравнению с ВГС-положительным контролем. Помимо перечисленных в таблице 8 микроорганизмов, выполнен анализ перекрестной реактивности с вирусом Денге и вирусом оспенной вакцины *in silico* (методом компьютерного моделирования), так как для исследования не удалось получить вирусный материал. Не обнаружено практически значимого сходства между анализируемыми вирусами и праймерами и зондами теста Xpert HCV VL.

18.6 Субстанции, вероятно препятствующие проведению анализа

Оценивали подверженность теста HCV VL влиянию повышенных уровней эндогенных веществ, назначаемых ВГС-инфицированным пациентам лекарств и маркеров аутоиммунных заболеваний. Тестировали образцы плазмы с ЭДТА, отрицательной на HCV, и образцы плазмы, содержащие ~25 МЕ/мл стандартного образца HCV (клинический образец генотипа 1).

Установлено, что повышенное содержание указанных в таблице 9 эндогенных веществ не влияет на количественные результаты теста HCV VL или на его специфичность.

Таблица 9. Эндогенные субстанции и использованные в исследовании концентрации

Субстанция	Использованная в тестировании концентрация
Альбумин	9 г/дл
Билирубин	20 мг/дл
Гемоглобин	500 мг/дл
ДНК человека	0,4 мг/дл
Триглицериды	3000 мг/дл

Установлено, что указанные в таблице 10 лекарственные компоненты не влияют на количественные результаты теста HCV VL или на его специфичность при испытаниях с утроенной пиковой концентрацией в пяти пулах лекарственных веществ.

Таблица 10. Пулы препаратов, применявшиеся в анализе

Пул	Лекарственные препараты
Контроль	Н/П
1	Зидовудин, саквинавир, ритонавир, интерферон альфа-2b, кларитромицин
2	Абакавира сульфат, фосампренавир кальция, пэгинтерферон 2b, рибавирин
3	Тенофовира дизопроксила фумарат, ламивудин (ЗТС), индинавира сульфат, ганцикловир, валганцикловира гидрохлорид, ацикловир
4	Ставудин (d4T), эфавиренз, лопинавир, энфувиртид (Т-20), ципрофлоксацин
5	Невирапин, нелфинавира мезилат, азитромицин, валацикловира гидрохлорид

Исследование в тесте HCV VL образцов, содержащих маркеры аутоиммунных заболеваний (каждый маркер был взят у десяти человек), не выявило взаимодействий с маркерами системной красной волчанки (СКВ), антинуклеарных антител (АНА) или ревматоидного фактора (РФ).

18.7 Чувствительность к сероконверсии

Для оценки чувствительности теста HCV VL исследовали последовательные образцы плазмы из десяти панелей сероконверсии, общее число компонентов составило 59. Каждая панель сероконверсии состояла из неразведенных образцов плазмы, полученных у одного и того же донора в ходе развития инфекции HCV и последующего иммунного ответа. Тест HCV VL позволил обнаружить РНК HCV в 51 из 57 исследованных образцов с действительными результатами, по сравнению с обнаружением антител к HCV в 21 из 59 образцов, исследованных при помощи как минимум одного из тестов на антитела (Abbott ARCHITECT HCV Ab, Abbott PRISM HCV Ab, Ortho® Ver. 3.0 ELISA HCV Ab, тест-система Ortho HCV 3.0 ELISA с Enhanced SAVE, Ortho Vitros Eci, Siemens ADIVA Centaur). В 9 панелях сероконверсии РНК HCV обнаруживалась при помощи теста HCV VL в более ранних образцах, по сравнению с результатами тестов на антитела, и в 1 панели сероконверсии — в образцах, полученных в одно и то же время. Результаты представлены в таблице 11.

Таблица 11. Чувствительность к сероконверсии теста HCV VL

Номер панели	Количество образцов в панели	Продолжительность в днях	Количество положительных компонентов панели		Число дней до получения первого положительного результата		Число дней между первым положительным результатом в тесте Xpert HCV VL и любым тесте на антитела
			Xpert HCV VL	Тест на антитела ^a	Xpert HCV VL	Тест на антитела ^a	
PHV913	4	9	4	2	0 ^b	7	7
PHV915	4	14	3 ^c	2	5 ^c	12	7
PHV920	9	35	9	7	0 ^b	13	13
PHV922	6	17	5 ^c	5	3 ^c	3	0
PHV924	6	88	6	3	0 ^b	59	59
PHV925	5	27	5	1	0 ^b	27	27
PHV926	5	14	5	1	0 ^b	14	14
PHV927	5	17	4	0	4	17 ^d	13
PHV928	9	50	7	0	29	50 ^d	21
PHV929	6	22	3	0	14	22 ^d	8

a. Тест на антитела по данным поставщика: Abbott ARCHITECT HCV Ab, Abbott PRISM HCV Ab, Ortho Ver. 3.0 ELISA HCV Ab, Ortho Enhanced SAvе HCV Ab, Ortho Vitros Eci, Siemens ADIVA Centaur.

b. Обнаружение во всех образцах выполняли при помощи теста Xpert HCV VL.

c. Представлены все результаты теста Xpert HCV VL, для первого компонента панели получен недействительный результат.

d. Для всех образцов получены отрицательные результаты тестов на антитела к HCV (по информации поставщика). Для определения «дней до первого положительного результата» использован день последнего образца.

18.8 Эквивалентность сред для сбора проб (ЭДТА, среда пробирки для отделения плазмы с ЭДТА и сыворотка)

Для каждого типа среды для сбора проб (ЭДТА, ЭДТА в пробирках PPT для подготовки плазмы, а также сыворотки) были собраны образцы у 50 соответствующих по характеристикам ВГС-положительных лиц и у 25 соответствующих по характеристикам ВГС-отрицательных лиц. Эти образцы были исследованы с использованием одной партии наборов теста HCV VL.

Как показано на рисунках 11 и 12, функциональные характеристики теста HCV VL были одинаковыми при использовании плазмы с ЭДТА по сравнению с пробами сыворотки и при использовании плазмы с ЭДТА по сравнению с плазмой с ЭДТА в пробирках PPT для подготовки плазмы. Определенная тестом HCV VL концентрация РНК ВГС во всех ВГС-положительных образцах, собранных в сыворотку или в плазму в пробирках с ЭДТА для приготовления плазмы, находилась в пределах $\pm 0,5 \log_{10}$ МЕ/мл от концентрации, обнаруженной в ВГС-положительных образцах, собранных в плазму с ЭДТА.

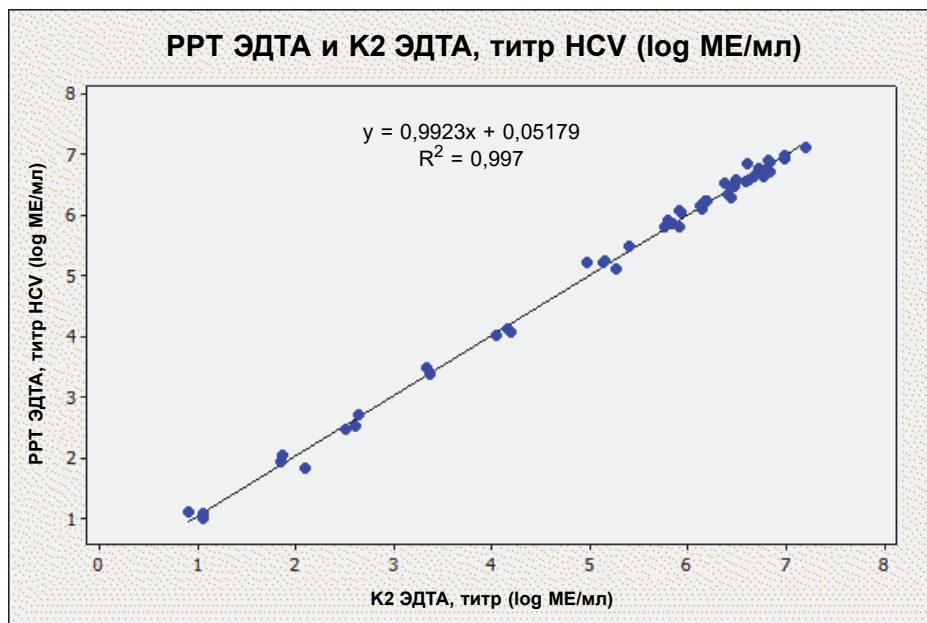


Рисунок 11. Диаграмма рассеивания значений логарифма ME/мл для РРТ ЭДТА по сравнению со значениями логарифма ME/мл для ЭДТА

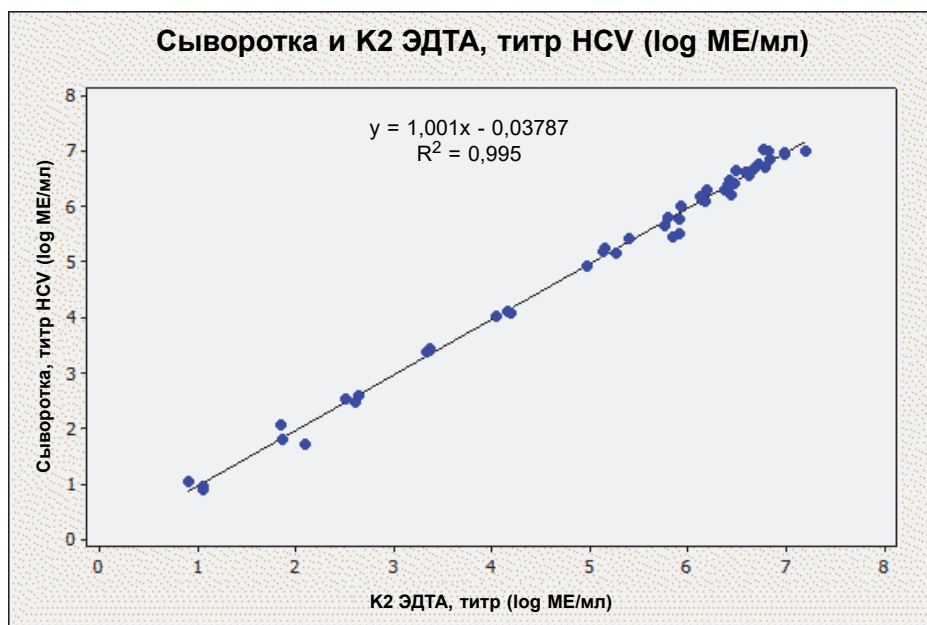


Рисунок 12. Диаграмма рассеивания значений логарифма ME/мл для сыворотки по сравнению со значениями логарифма ME/мл для плазмы с ЭДТА

19 Функциональные характеристики — клинические

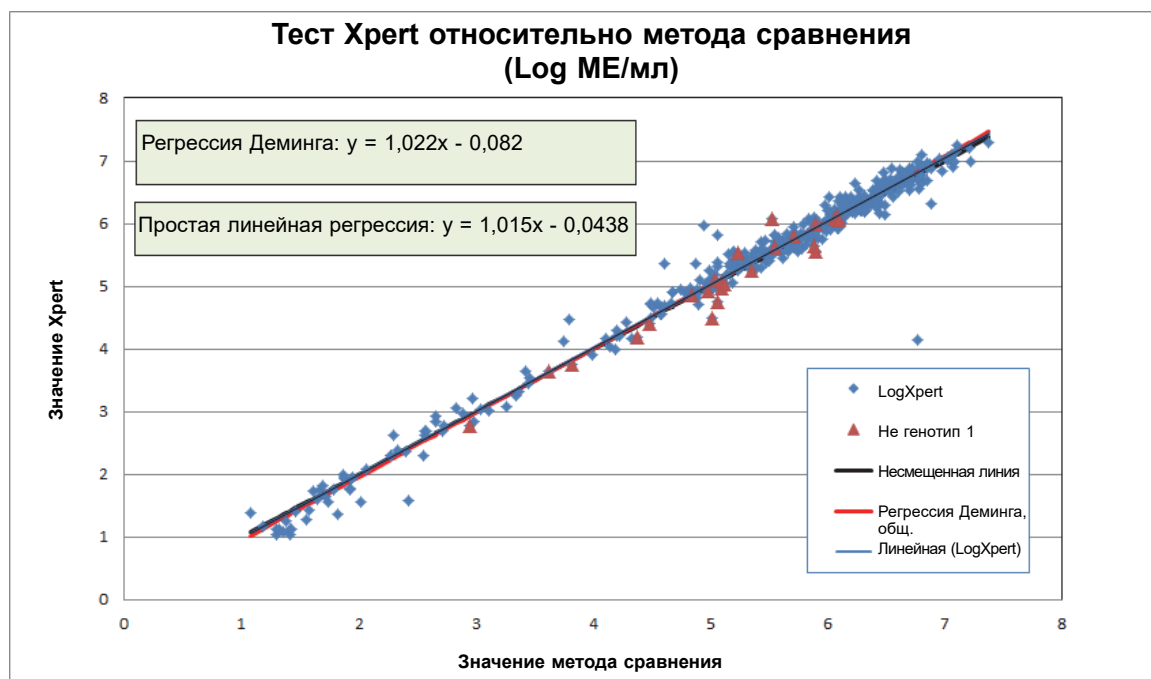
Специфичность

Специфичность теста HCV VL оценивали с использованием 501 образца плазмы с ЭДТА, полученного от разных HCV-отрицательных доноров крови. При использовании теста Xpert HCV VL ни в одном образце из 501 не обнаружена РНК HCV, что указывает на 100 % специфичность теста (95 % ДИ = 99,2–100,0).

Корреляция между методами

Проведено многоцентровое исследование для сравнения функциональных характеристик теста HCV VL относительно метода сравнения с использованием свежих и замороженных образцов плазмы или сыворотки человека, полученных у ВГС-инфицированных лиц. Из 607 образцов, соответствующих критериям исследования (каждый из которых взят у отдельного пациента), 408 (67,2 %) были получены у лиц мужского пола. Средний возраст составил $50,2 \pm 13,2$ года, диапазон возраста — от 21 до 86 лет.

Из этих 607 образцов 389 находились в пределах диапазона количественного определения обоих методов, включая 23 образца, которые содержали HCV, не относящиеся к генотипу 1 (генотипы 2, 2а, 2b, 2с, 3, 3а, 4 и 6), и один образец, содержащий несколько генотипов (HCV 1 и 6). Результаты анализа методом регрессии Деминга показали наличие высокой степени корреляции между тестом HCV VL и методом сравнения, со значением наклона 1,022 и точки пересечения оси ординат 0,082. Значение R^2 составило 0,986.



*HCV, не относящиеся к генотипу 1, представлены треугольниками. Одно аномальное значение не было включено в анализ.

Рисунок 13. Тест Xpert относительно метода сравнения

20 Справочная литература

1. Di Bisceglie AM. *Natural history of Hepatitis C: it impact on clinical management*. Hepatology 2000; 31:1014-1018.
2. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of Hepatitis C. Consensus Statement. J. Hepatology 2011; vol. 55:245-264.
3. Mohd Hanafiah K., Groeger J., Flaxman AD., Wiersma S.T *Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence*. Hepatology 2013; 57(4): 1333-1342.
4. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. *Global epidemiology of hepatitis C virus infection*. Lancet Infect Dis 2005; 5:558-67. doi:10.1016/S1473-3099(05)70216-4 PMID: 16122679.
5. Graham CS., Swan T. *A Path to Eradication of Hepatitis C in Low-and-Middle-Income Countries*. Antiviral Res. 2015 Jan 20; pii: S0166-3542(15)00005-4. doi: 10.1016/j.antiviral.215.01.004. [Epub ahead of print].
6. Region H Press Release. The number of people living with HIV and hepatitis is on the rise in Europe, Oct 2014. <http://newsite.hiveurope.edu/>
7. Hepatitis C Fact Sheet No 164 Updated April 2014, accessed January 28, 2015 at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>
8. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, et al. *Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update*. Hepatology 2009;49 (4):1335-1374.
9. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (refer to latest edition. <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline*. Document M29 (refer to latest edition).
11. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC)).
12. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

21 Расположение штаб-квартиры корпорации Cepheid

Головной офис

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Соединенные Штаты Америки
Телефон: + 1 408 541 4191
Факс: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Европейский офис

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Франция
Телефон: + 33 563 825 300
Факс: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

22 Техническая поддержка

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

Контактная информация

Соединенные Штаты Америки
Телефон: + 1 888 838 3222
Адрес электронной почты:
techsupport@cepheid.com

Франция
Телефон: + 33 563 825 319
Адрес электронной почты:
support@cepheideurope.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Cepheid доступна на нашем веб-сайте: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

23 Условные обозначения

Символ	Значение
	Каталожный номер
	Диагностическое медицинское устройство <i>in vitro</i>
	Не использовать повторно
	Код партии
	Осторожно
	Изготовитель
	Место производства
	Содержимого достаточно для проведения <n> анализов
	Контроль
	Срок годности
	Марка CE – Европейское соответствие
	Температурные ограничения
	Биологическая опасность
	Предостережение



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden



Xpert® HCV VL Fingerstick

REF GXHCV-FS-CE-10

Trademark, Patents and Copyright Statements

Xpertise, Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, Xpert®, and Xpertise® are trademarks of Cepheid.

Windows® is a trademark of Microsoft Corporation.

Armored RNA® is a trademark of Asuragen Inc.

Minivette® is a trademark of Sarstedt AG & CO.

Ortho® is a trademark of Ortho Clinical Diagnostics.

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

Copyright © 2018-2021 Cepheid. All rights reserved.

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

Xpertise, Cepheid®, логотип Cepheid, GeneXpert®, Xpert® и Xpertise® являются товарными знаками компании Cepheid.

Windows® является товарным знаком корпорации Microsoft Corporation.

Armored RNA® является товарным знаком компании Asuragen, Inc.

Minivette® является товарным знаком компании Sarstedt AG & CO.

Ortho® является товарным знаком компании Ortho Clinical Diagnostics.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩИМ ВКЛАДЫШЕМ-ИНСТРУКЦИЕЙ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

Авторское право © 2018-2021 Cepheid. Все права защищены.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden (Швеция)

Xpert® HCV VL Fingerstick

Только для диагностического применения in vitro.

1 Фирменное название

Xpert® HCV VL Fingerstick

2 Общепринятое название

HCV VL FS

3 Назначение

Xpert HCV VL Fingerstick (FS) представляет собой тест in vitro на основе полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) для обнаружения и количественного определения РНК вируса гепатита С (ВГС) в цельной капиллярной крови человека с ЭДТА и в цельной венозной крови с ЭДТА у ВГС-инфицированных пациентов в автоматизированных системах приборов GeneXpert®.

Тест Xpert HCV VL FS предназначен для применения в качестве вспомогательного средства первичной диагностики у лиц, имеющих риск инфекции ВГС или антитела к ВГС. Обнаружение РНК ВГС является признаком репликации вируса, а это свидетельствует об активной инфекции.

Тест Xpert HCV VL FS предназначен для применения в качестве вспомогательного средства ведения пациентов, инфицированных ВГС и получающих противовирусную терапию. Этот тест измеряет уровни РНК ВГС в любое время во время виремии и во время лечения. Он может быть использован для прогнозирования устойчивого и неустойчивого вирусологических ответов на лечение ВГС.

Тест Xpert HCV VL FS предназначен для применения специалистами в области лабораторной диагностики или медицинскими работниками, прошедшими специальное обучение. Этот анализ не предназначен для скрининга доноров крови на ВГС.

4 Краткие сведения и разъяснения

ВГС относится к семейству Flaviviridae и известен как основной возбудитель хронических заболеваний печени, в том числе хронического активного гепатита, цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы¹. Геном ВГС является плюс-цепью РНК, состоящей из приблизительно 9500 нуклеотидов¹. Передача ВГС обычно происходит посредством чрескожного контакта с зараженной кровью, в основном при внутривенном введении наркотических препаратов, небезопасных инъекциях с целью оказания медицинской помощи, а также переливании продуктов не подвергнутой скринингу донорской крови. Реже происходит передача ВГС при перинатальной экспозиции и половых контактах². Острая фаза инфекции ВГС обычно бессимптомна, из-за чего многие случаи остаются недиагностированными. Из числа инфицированных ВГС хронический гепатит С развивается приблизительно у 70 %². В настоящее время скрининг для выявления ранее перенесенной или существующей инфекции ВГС основан на обнаружении анти-ВГС антител, однако наличие РНК ВГС свидетельствует о текущей инфекции³. Во всем мире с хронической инфекцией ВГС живет примерно 71 миллион пациентов, и диагноз установлен только у 20 % из них². Инфекция ВГС неравномерно распространена по земному шару, и частота инфекции различается между разными странами и в пределах одной страны. Наиболее пораженными регионами является Восточное Средиземноморье (2,3 %), Европа (1,5 %), Африка (1,0 %); в других регионах (Северная и Южная Америка, Западно-Тихоокеанский регион, Юго-Восточная Азия) частота составляет <1 %². Противовирусные препараты могут излечить ВГС, но доступ к диагностике и лечению ограничен⁴. В настоящее время возможно излечение ВГС (что определяется как устойчивый вирусологический ответ, т. е. необнаружимые уровни РНК ВГС при сроке от 12 до 24 недель после завершения анти-ВГС терапии) с применением высокоэффективных, безопасных и переносимых комбинированных пероральных противовирусных препаратов прямого действия (ПППД), которые принимают в течение 8–12 недель^{2,5}.

Показана важность количественного определения РНК ВГС для оценки эффективности ответа на противовирусную терапию ВГС. Указания по ведению и лечению ВГС рекомендуют количественное определение РНК ВГС перед началом противовирусной терапии, а также по истечении 12 или 24 недель после завершения анти-ВГС терапии⁵.

5 Принципы проведения процедуры

Системы приборов GeneXpert автоматизируют и объединяют процессы очистки образцов, амплификации нуклеиновых кислот и обнаружения целевой последовательности в простых или сложных образцах с использованием тестов на основе ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), применяющих флуоресценцию для обнаружения целевой РНК. Система состоит из прибора, персонального компьютера и предустановленного программного обеспечения для выполнения тестов и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи GeneXpert, которые содержат реактивы для ОТ-ПЦР и в которых происходят процессы ОТ-ПЦР. Поскольку картриджи представляют собой замкнутые системы, вероятность перекрестной контаминации между образцами сводится к минимуму. Полное описание систем представлено в соответствующем *Руководстве оператора GeneXpert Dx* или *Руководстве оператора GeneXpert Infinity*. В комплект теста HCV VL FS входят реактивы для обнаружения РНК ВГС в клинических образцах и два внутренних контроля для количественного определения РНК ВГС. Внутренние контроли также предназначены для контроля правильности обработки целевой последовательности и для отслеживания присутствия ингибиторов ОТ и ПЦР. Контроль зондов (Probe Check Control, PCC) предназначен для проверки правильности регидратации реактивов, заполнения пробирки для проведения ПЦР в картридже, целостности зондов и стабильности красителя.

Этот тест стандартизован по 4-му Международному стандарту ВГС Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) (код NIBSC: 06/102).⁶

6 Реактивы и приборы

6.1 Комплект поставки



Набор теста HCV VL FS содержит реактивы в количестве, достаточном для анализа 10 образцов или проб контроля качества. В набор входят:

Картриджи теста HCV VL FS со встроенными реакционными пробирками	10
• Гранулы 1, 2 и 3 (лиофилизированные)	1 каждого из типов в одном картридже
• Реактив для лизирования (гуанидина тиоцианат)	1,0 мл в одном картридже
• Реактив для ополаскивания	0,5 мл в одном картридже
• Реактив для вымывания	1,5 мл в одном картридже
• Реактив связывания	1,5 мл в одном картридже
Компакт-диск	
• Файл с описанием теста (Assay Definition File, ADF)	
• Инструкция по импорту файла ADF в программное обеспечение GeneXpert	
• Инструкции по применению (вкладыш-инструкция)	

Примечание Паспорта безопасности веществ (Safety Data Sheet, SDS) можно найти по адресам www.cepheid.com и www.cepheidinternational.com, на **ВКЛАДКЕ (SUPPORT)**.

Примечание Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма бычьей крови животных, выращенных в США. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время производства не происходило смешивания сырья с другими материалами животного происхождения.

7 Хранение и обращение



- Храните картриджи и реактивы теста HCV VL FS при температуре 2–28 °C. Если картриджи хранятся на холоде, доведите их до комнатной температуры перед применением.
- Не снимайте крышку с картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение анализа.
- Не используйте картриджи с вытекшими реактивами.
- Не используйте ранее замороженные картриджи.
- Не используйте картриджи после даты истечения срока годности.

8 Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Система GeneXpert Dx или GeneXpert Infinity (каталожный номер зависит от конфигурации): прибор GeneXpert, компьютер с патентованным программным обеспечением GeneXpert версии 4.7b или выше (системы GeneXpert Dx) либо Xpertise версии 6.4b или выше (системы Infinity-80/Infinity-48s), сканер штрих-кодов и руководство оператора.
- Принтер: если необходим принтер, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.
- Отбеливатель или гипохлорит натрия
- Этиловый спирт или денатурированный этиловый спирт
- Одноразовые Minivette® РОСТ 100 мкл К3Е (P/N: MINIVETTE 100E-100, коробки по 100 шт.)
- Одноразовый Safety-Lancet Super, 1,5 мм (Sarstedt P/N: 85.1018) или аналогичный

9 Предупреждения и меры предосторожности



- Только для диагностического применения *in vitro*.
- При работе со всеми биологическими образцами, в том числе с использованными картриджами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются Центрами по контролю и профилактике заболеваний США (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁷ и Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute)⁸.
- С целью избежать контаминации образцов и реактивов рекомендуется следовать принципам надлежащей лабораторной практики, включая правило замены перчаток перед началом работы с каждым следующим образцом.
- Следуйте принятым в учреждении правилам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.
- Не заменяйте реактивы теста HCV VL FS другими реактивами.
- Открывайте крышку картриджа теста HCV VL FS только для внесения образца.
- Не используйте картридж, если он упал после извлечения из упаковки.
- Не встряхивайте картридж. Встряхивание или падение картриджа после вскрытия его крышки может привести к получению недействительных результатов.
- Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- Не используйте картриджи с вытекшими реактивами.
- ② • Каждый одноразовый картридж HCV VL FS применяется для выполнения одного теста. Не используйте уже применявшиеся картриджи повторно.
- ② • Устройства Minivette РОСТ применяются для сбора и переноса одного образца. Не используйте повторно Minivette РОСТ.
- Пользуйтесь чистым лабораторным халатом и перчатками. Перчатки подлежат замене перед обработкой каждой следующей пробы.
- В случае загрязнения рабочей зоны или оборудования образцами или контролями тщательно протрите контаминированный участок свежеприготовленным 0,5 % раствором гипохлорита натрия (или разбавленным в соотношении 1:10 хлорсодержащим хозяйственным отбеливателем). Затем протрите поверхность 70 % этиловым спиртом. Перед продолжением работы дайте рабочим поверхностям полностью высохнуть.
- Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, при обращении с ними необходимо соблюдать стандартные меры предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реактивов следуйте принятым в вашем учреждении правилам защиты окружающей среды. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых национальных или региональных процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе нормативные документы не дают ясных указаний по правильному удалению в отходы, биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их удаления⁹.

10 Опасные химические факторы^{10,11}

- Сигнальное слово: ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ
- **Заявления об опасности СГС ООН**
 - Вредно при проглатывании
 - Вызывает слабое раздражение кожи
 - Вызывает раздражение глаз
- **Меры предосторожности СГС ООН**
 - **Профилактика**
 - После использования тщательно вымыть.
 - **Реагирование**
 - При плохом самочувствии обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту/терапевту.
 - При раздражении кожи: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
 - ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь, и если это легко сделать. Продолжить промывание.
 - Если раздражение глаз не проходит: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.

11 Сбор и хранение образца

11.1 Цельная капиллярная кровь

- Образцы цельной капиллярной крови следует собирать в Minivette POCT после прокола кожи пальца ланцетом Safety Lancet (не поставляется компанией Cepheid). Выполняйте полученные от производителя инструкции по применению.
- Для теста HCV VL FS необходимо взять 100 мкл цельной крови. Устройство Minivette POCT должно быть полностью заполнено.
- Собранные в Minivette POCT образцы можно сохранять в устройстве для сбора образцов до 15 минут при температуре 5–35 °C.



11.2 Цельная венозная кровь

- Собирайте цельную венозную кровь в стерильный флакон с ЭДТА в качестве антикоагулянта согласно инструкциям производителя.
- Для теста HCV VL FS необходимо взять 100 мкл цельной крови.
- Цельную венозную кровь с ЭДТА можно хранить в стерильном флаконе в течение не более 6 месяцев при температуре -20 °C, 72 часа при 2–8 °C или 24 часа при температуре не выше 35 °C.



12 Процедура

12.1 Подготовка картриджа

Важно! Анализ следует начинать не позднее чем через 4 часа после того, как проба была помещена в картридж.

1. Пользуйтесь одноразовыми защитными перчатками.
2. Перед использованием картриджа доведите его до комнатной температуры (25 ± 3 °C).
3. Осмотрите картридж на предмет отсутствия повреждений. В случае повреждения не используйте его.
4. Нанесите на картридж метку с идентификатором образца.
5. Откройте крышку картриджа.
6. При работе с цельной *капиллярной* кровью:
 - A. Вставьте заполненное устройство Minivette POCT (см. Рисунок 1) как можно глубже в камеру для образца картриджа (см. Рисунок 2).
 - B. Осторожно нажмите на поршень Minivette POCT, чтобы вытеснить кровь.

При работе с цельной *венозной* кровью:

- А. Перемешайте образец цельной крови, перевернув флакон не менее семи (7) раз.
- В. Микропипеткой перенесите 100 мкл цельной крови в камеру для образца в картридже (см. Рисунок 2). Обеспечьте внесение крови на дно камеры для образца.
- С. Для обеспечения внесения 100 мкл предварительно смочите наконечник пипетки или используйте метод обратного пипетирования для набора и внесения образца крови.

Примечание При внесении в картридж менее 100 мкл крови может вызвать состояние ошибки недостаточного объема ОШИБКА 2097 (ERROR 2097), что не позволит прибору выполнить обработку образца.



Рисунок 1. Minivette POCT 100 мкл ЭДТА

Примечание Не снимайте тонкую полимерную пленку, покрывающую внутреннее кольцо с 13 портами тестового картриджа.



Рисунок 2. Картридж HCV VL FS (вид сверху)

7. Закройте крышку картриджа. Убедитесь, что крышка надежно защелкнулась на месте.

12.2 Запуск анализа

Важно! Перед началом теста убедитесь, что файл с описанием теста (Assay Definition File, ADF) HCV VL FS импортирован в программное обеспечение.

В данном разделе перечисляются основные действия при выполнении теста. Подробные инструкции приводятся в *Руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *Руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемой модели прибора.

Примечание Выполняемые действия могут быть другими, если системный администратор изменит установленную по умолчанию рабочую последовательность системы.

1. Включите прибор GeneXpert.
 - При использовании прибора GeneXpert Dx вначале следует включить сам прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert Dx запустится автоматически. Если это не происходит, дважды щелкните по ярлыку программного обеспечения GeneXpert Dx, который находится на рабочем столе Windows®.
 - или
 - При использовании прибора GeneXpert Infinity следует включить прибор. Программное обеспечение Xpertise™ запустится автоматически. Если это не происходит, дважды щелкните по ярлыку программного обеспечения Xpertise, который находится на рабочем столе Windows®.
2. Войдите в программное обеспечение Система GeneXpert со своим именем пользователя и паролем.
3. В окне системы GeneXpert щелкните **«Создать тест» (Create Test)** (для GeneXpert Dx) или **«Заказы» (Orders)**, а затем **«Заказать тест» (Order Test)** (для Infinity).
4. Отсканируйте «ID пациента» (Patient ID) (не обязательно). Если вводится «ID пациента» (Patient ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «Идентификатор пациента» (Patient ID) связывается с результатом теста и указывается в окне «Просмотреть результаты» (View Results).
5. Отсканируйте или введите вручную «ID образца» (Sample ID). Если вводится «ID образца» (Sample ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. Идентификационный номер образца связывается с результатами анализа и указывается в окне «Просмотреть результаты» (View Results) и во всех отчетах. Появится диалоговое окно «Сканировать штрих-код картриджа» (Scan Cartridge).
6. Отсканируйте штрих-код на картридже HCV VL FS. На основе информации, считанной со штрих-кода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «Выбрать тест» (Select Assay), «ID партии реактива» (Reagent Lot ID), «C/Н картриджа» (Cartridge SN) и «Срок годности» (Expiration Date).
7. Щелкните **«Начать тест» (Start Test)** (для GeneXpert Dx) или **«Отправить» (Submit)** (для Infinity). При необходимости введите пароль.
8. При использовании прибора GeneXpert Infinity поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, будет выполнен анализ, а использованный картридж удален в контейнер для отходов.

или

При использовании прибора GeneXpert Dx:

- D. Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
- E. Закройте дверцу. После этого начинается анализ, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса анализа индикаторная лампа выключается.
- F. Перед открытием модуля и извлечением картриджа дождитесь разблокирования прибором замка дверцы.
- G. Использованные картриджи следует удалять в подходящие контейнеры для сбора отходов образцов согласно стандартным правилам, принятым в вашем учреждении.

13 Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечисляются основные действия по просмотру и печати результатов. Более подробные инструкции по просмотру и печати результатов представлены в *Руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *Руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемого прибора.

1. Для просмотра результатов выберите ярлык **Просмотреть результаты (View Results)**.
2. По завершении анализа выберите кнопку **Отчет (Report)** в окне «Просмотреть результаты» (View Results) для просмотра отчета и (или) получения отчета в формате PDF.

14 Контроль качества

CONTROL

Каждый тест содержит контроль достаточности объема образца (Sample Volume Adequacy, SVA), внутренние количественные стандарты (Internal Quantitative Standard, IQS) высокой и низкой концентрации (IQS-H и IQS-L), а также контроль зондов (Probe Check Control, PCC).

- **Контроль достаточности объема образца (Sample Volume Adequacy, SVA):** Обеспечивает правильность внесения пробы в картридж. Контроль SVA позволяет подтвердить, что в камеру для пробы внесен надлежащий объем пробы. Контроль SVA считается успешно пройденным, если его результат соответствует валидированным критериям приемлемости. Если контроль SVA не пройден и в картридж было внесено недостаточное количество образца, на экран будет выведено сообщение **ОШИБКА 2097 (ERROR 2097)**. **ОШИБКА 2096 (ERROR 2096)** означает, что было обработано недостаточное количество образца. Система не позволит пользователю возобновить выполнение теста.

- **Внутренний количественный стандарт высокой и низкой концентрации (IQS-H и IQS-L):** IQS-H и IQS-L представляют собой две не имеющие отношения к ВГС контрольные «защищенные» РНК — Armored RNA® в виде сухих гранул, которые проходят весь процесс обработки в системе GX. Они служат для приведения концентрации ВГС в соответствие с качеством образца и характеристиками партии набора. IQS-H и IQS-L обнаруживают связанное с образцом ингибирование ОТ-ПЦР, выполняя функцию контролей обработки образца. Контроли IQS-H и IQS-L считаются пройденными, если их результаты соответствуют валидированным критериям приемлемости.
- **Параметры, специфичные для партии (Lot Specific Parameters, LSP),** для количественного определения. В каждой партии набора имеются встроенные LSP, созданные на основе калибровочной панели ВГС, прослеживаемой до 4^{го} Международного стандарта HCV NAT (код NIBSC 06/102)⁷, а также **внутренние количественные стандарты IQS-H и IQS-L.** Значения Ct для IQS-H и IQS-L включены в качестве параметров в уравнение, образующее LSP партии набора.
- **Контроль зондов (Probe Check Control, PCC).** Перед началом ПЦР система приборов GeneXpert измеряет флуоресцентный сигнал зондов для проверки регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль PCC считается пройденным, если флуоресцентные сигналы соответствуют валидированным критериям приемлемости.
- **Внешние контроли.** В соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики, внешние контроли, не входящие в данный набор, следует использовать согласно применимым требованиям местных и государственных уполномоченных организаций.

15 Интерпретация результатов

Результаты интерпретируются системой Система GeneXpert на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета; они отображаются в окне «Просмотреть результаты» (View Results) Рисунок 3 и Рисунок 4. Возможные результаты приведены в Таблица 1.

Таблица 1. HCV VL FS Результаты теста и их интерпретация

Результат	Интерпретация
HCV ОБНАРУЖЕН (HCV DETECTED) XX ME/мл (log X.XX)	РНК ВГС обнаружена в концентрации XX ME/мл (см. Рисунок 3). <ul style="list-style-type: none"> • Титр РНК ВГС находится в пределах диапазона количественного определения теста (100–1,00E08 ME/мл). • IQS-H и IQS-L: ПРОЙДЕНА. • Проверка зондов: ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.
HCV ОБНАРУЖЕН (HCV DETECTED) > 1,00E08 ME/мл	Обнаруженный титр РНК ВГС выше границы диапазона количественного определения теста. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H и IQS-L: ПРОЙДЕНА. • Проверка зондов: ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.
HCV ОБНАРУЖЕН (HCV DETECTED) < 100 ME/мл	Обнаруженный титр РНК ВГС ниже границы диапазона количественного определения теста. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H и IQS-L: ПРОЙДЕНА. • Проверка зондов: ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.
HCV НЕ ОБНАРУЖЕН (HCV NOT DETECTED)	РНК ВГС не обнаружена (см. Рисунок 4). <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H и IQS-L: ПРОЙДЕНА. • Проверка зондов: ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)	Присутствие или отсутствие РНК ВГС в образце установить невозможно. Повторите анализ согласно инструкциям, содержащимся в Раздел 16.2, Процедура повторного теста. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H и (или) IQS-L: НЕ ПРОЙДЕН (FAIL): Пороги цикла (Ct) не находятся в действительном диапазоне. • Проверка зондов: ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.

Таблица 1. HCV VL FS Результаты теста и их интерпретация (Продолжение)

Результат	Интерпретация
ОШИБКА (ERROR)	<p>Присутствие или отсутствие РНК ВГС в образце установить невозможно. Повторите анализ согласно инструкциям, содержащимся в Раздел 16.2, Процедура повторного теста.</p> <ul style="list-style-type: none"> Проверка зондов: НЕ ПРОЙДЕН (Probe Check: FAIL)*; все или одна из проверок в рамках контроля зондов не пройдены (-а). <p>* Если контроль зондов пройден, ошибка вызвана выходом за границы действительного диапазона предельного максимального давления или сбоем компонента системы.</p>
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	<p>Присутствие или отсутствие РНК ВГС в образце установить невозможно. Повторите анализ согласно инструкциям, содержащимся в Раздел 16.2, Процедура повторного теста. Сообщение НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если лаборант прервал текущий процесс анализа.</p>

Примечание Снимки с экранов тестов даны только в качестве примеров. Номер версии может отличаться от показанной на снимках с экрана в этом вкладыше-инструкции.

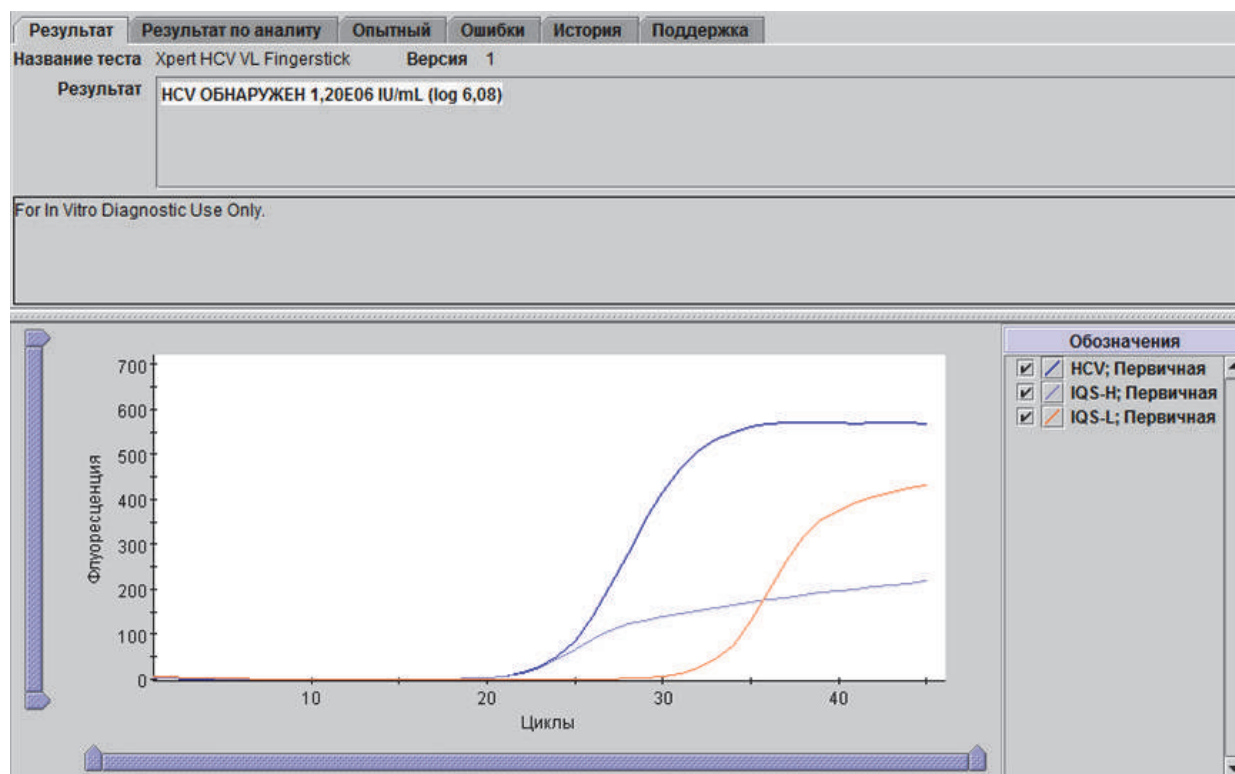


Рисунок 3. ВГС обнаружен и количественно определен

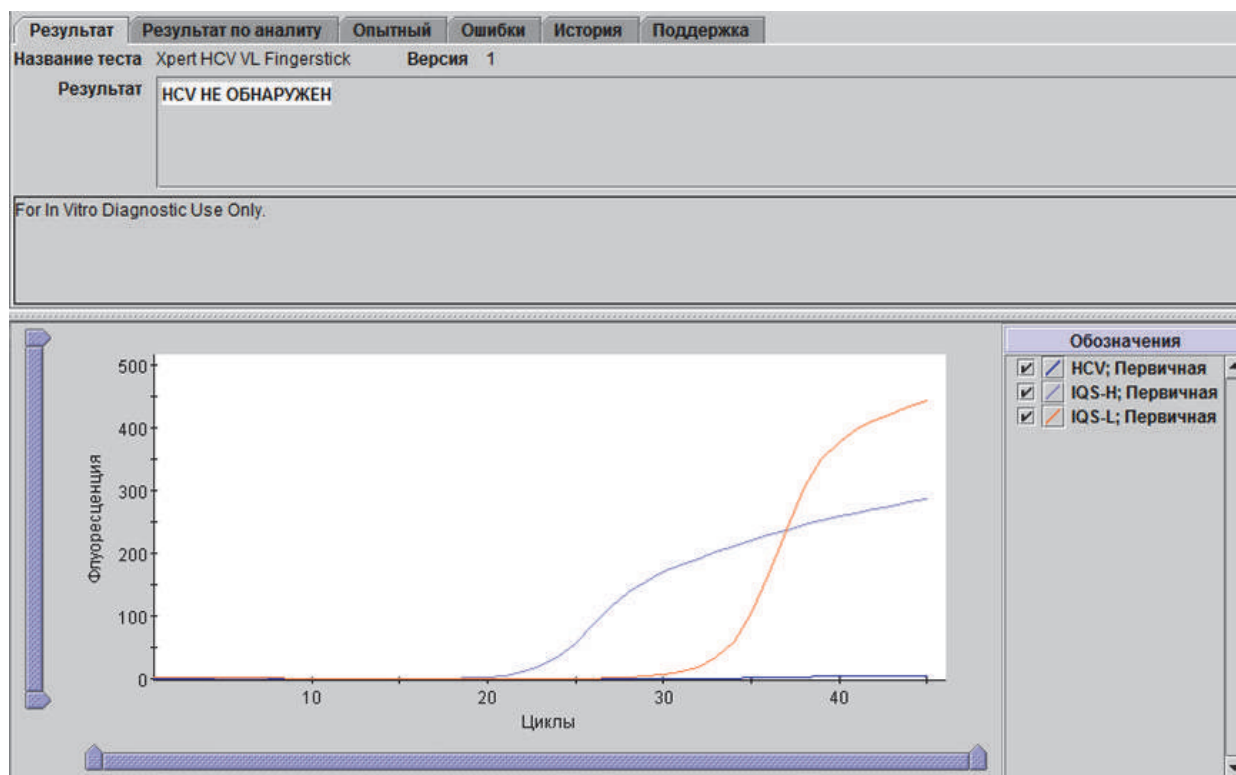


Рисунок 4. ВГС не обнаружен

16 Повторное выполнение теста

16.1 Причины повторного выполнения теста

При получении любого из следующих результатов анализа повторите тест в соответствии с указаниями, изложенными в Раздел 16.2, Процедура повторного теста.

- **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** результат связан с одной или более следующих причин:
 - Значения Ct IQS-H и (или) IQS-L не находятся в действительном диапазоне.
 - Образец не был обработан надлежащим образом, или произошло ингибирование ПЦР.
- Результат **ОШИБКА (ERROR)** показывает, что анализ был прерван. К возможным причинам относятся следующие: внесен недостаточный объем пробы, неправильное заполнение реакционной пробирки, обнаружена проблема целостности зонда или превышен максимальный предел давления.
- Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Например, оператор прервал выполняющийся процесс анализа или произошел перебой в подаче электроэнергии.

16.2 Процедура повторного теста

При получении результата **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)**, **ОШИБКА (ERROR)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** повторите тест соответствующего образца с использованием нового картриджа (не допускайте повторного использования картриджа).

1. При использовании цельной капиллярной крови см. инструкцию по сбору образца в Раздел 11.1, Цельная капиллярная кровь.
2. Извлеките новый картридж из набора.
3. См. Раздел 12, Процедура, в том числе Раздел 12.1, Подготовка картриджа и Раздел 12.2, Запуск анализа.

17 Ограничения процедуры

- Во избежание контаминации образцов и реактивов рекомендуется следовать принципам надлежащей лабораторной практики, включая правило замены перчаток перед началом работы с каждым следующим образцом.
- Редкие мутации в целевом регионе теста HCV VL FS могут влиять на связывание праймера или зонда, в результате чего концентрация окажется заниженной или вирус не обнаружится.
- Данный тест был валидирован для использования с образцами цельной капиллярной и венозной крови, собранными в ЭДТА. Тестирование других типов образцов может привести к получению неточных результатов.
- Для надлежащего выполнения этого теста требуются правильные процедуры сбора, хранения образцов, обращения с ними и транспортировки в место выполнения теста.
- Результаты теста HCV VL FS следует интерпретировать в совокупности с другими клиническими и лабораторными показателями.
- В связи с естественными различиями между технологиями, прежде чем переходить от использования одного метода к другому, пользователям рекомендуется выполнить в своей лаборатории исследования по корреляции методов для количественной оценки разницы между технологиями.
- Отрицательный результат теста HCV VL FS не исключает вероятности наличия инфекции ВГС у пациента.
- Этот тест не предназначен для скрининга на ВГС донорских образцов крови, плазмы, сыворотки или тканей.

18 Функциональные характеристики

18.1 Предел обнаружения

Предел обнаружения (limit of detection, LOD) теста HCV VL FS был определен для генотипов ВГС от 1 до 6 путем исследования семи- или восьмикомпонентных панелей, приготовленных путем внесения ВГС-положительных клинических образцов или имеющегося в продаже референсного материала с высоким титром ВГС (Acrometrix HCV High Titer Control, генотип 1b, Thermo Fisher Scientific, партия: RD16121511) в цельную ВГС-отрицательную кровь человека, собранную в ЭДТА. Концентрация в каждой партии материала была определена тестом Xpert HCV Viral Load, калибровка которого прослеживается до 4^{го} Международного стандарта ВГС ВОЗ (код NIBSC 06/102)⁶. Предел обнаружения ВГС генотипа 1a был определен путем анализа 24 повторностей каждого уровня разведения с каждой из трех партий реактивов в течение трех дней. Для каждого уровня было исследовано в общей сложности 72 повторности образцов генотипа 1a. Предел обнаружения ВГС генотипов 1b и от 2 до 6 был определен с применением одной партии реактивов в тесте 24 повторностей на каждом уровне разведения в течение трех дней.

Концентрация РНК ВГС, которая может быть обнаружена с долей положительных результатов выше 95 %, была определена методом регрессионного пробит-анализа. Результаты исследований всех генотипов представлены в Таблица 2.

Таблица 2. Предел обнаружения в тесте Xpert HCV VL FS методом регрессионного пробит-анализа

Генотип	Номинальная концентрация (МЕ/мл)	Количество действительных повторностей	Количество положительных результатов	Доля положительных результатов (%)	Предел обнаружения с 95 %-ной вероятностью, определенный пробит-анализом (95 % доверительный интервал)
1a	45	72	72	100 %	22 МЕ/мл ^a (95 % ДИ: 17–27 МЕ/мл)
	30	72	70	97 %	
	15	72	59	82 %	
	10	72	59	82 %	
	5	72	30	42 %	
	2,5	72	9	13 %	

Таблица 2. Предел обнаружения в тесте Хpert HCV VL FS методом регрессионного пробит-анализа

Генотип	Номинальная концентрация (МЕ/мл)	Количество действительных повторностей	Количество положительных результатов	Доля положительных результатов (%)	Предел обнаружения с 95 %-ной вероятностью, определенный пробит-анализом (95 % доверительный интервал)
1b	45	24	24	100 %	23 МЕ/мл (95 % ДИ: 18–32 МЕ/мл)
	30	24	23	96 %	
	15	24	19	79 %	
	10	24	18	75 %	
	5	24	13	54 %	
	2,5	24	11	46 %	
2b	45	24	24	100 %	13 МЕ/мл (95 % ДИ: 10–16 МЕ/мл)
	30	24	24	100 %	
	15	24	24	100 %	
	10	24	18	75 %	
	5	24	12	50 %	
	2,5	24	9	38 %	
3a	45	24	24	100 %	28 МЕ/мл (95 % ДИ: 21–34 МЕ/мл)
	30	24	22	92 %	
	15	24	17	71 %	
	10	24	14	58 %	
	5	24	12	50 %	
	2,5	24	4	17 %	
4	45	24	24	100 %	15 МЕ/мл (95 % ДИ: 13–20 МЕ/мл)
	30	24	24	100 %	
	15	24	20	83 %	
	10	24	21	88 %	
	5	24	16	67 %	
	2,5	24	8	33 %	
5	45	24	24	100 %	28 МЕ/мл (95 % ДИ: 21–36 МЕ/мл)
	30	23	21	91 %	
	15	24	17	71 %	
	10	24	15	63 %	
	5	24	11	46 %	
	2,5	24	9	38 %	
6e	60	24	24	100 %	35 МЕ/мл (95 % ДИ: 28–42 МЕ/мл)
	45	24	23	96 %	
	30	24	22	92 %	
	15	24	14	58 %	
	10	24	11	46 %	
	5	24	10	42 %	
	2,5	24	3	13 %	

а. Наибольшая оценка LOD генотипа 1a на основании исследования и анализа каждой из трех партий реактивов.

18.2 Предел количественного определения

Нижний предел количественного определения (lower limit of quantitation LLOQ) — это наименьшая концентрация РНК ВГС, которая может быть количественно определена с приемлемой прецизионностью и правильностью, и устанавливаемая путем оценки общей аналитической ошибки (total analytical error, TAE) и подхода, основанного на разности двух измерений. Оценка LLOQ была выполнена с применением четырех независимых низкотитровых образцов, исследованных с тремя партиями реактивов, по 22–24 повторности на партию. Оценка TAE была получена в модели Westgard в соответствии с рекомендациями CLSI EP17-A2¹² с критерием, $[(\text{Absolute Bias}) + 2 \text{ SD} \leq 1 \log_{10} \text{ МЕ/мл}]$. Подход с разностью двух измерений использовал критерий $[(2 \times \text{SQRT}(2) \times \text{SD}) \leq 1 \log_{10} \text{ МЕ/мл}]$. Результаты определения LLOQ для каждого образца представлены в Таблица 3. Эти результаты показывают, что тест HCV VL FS позволяет определять РНК ВГС в концентрации 100 МЕ/мл с приемлемыми правильностью и прецизионностью.

Таблица 3. Определение LLOQ теста Xpert HCV VL FS

Образец	Партия	N	Концентрация ВГС (Log10 МЕ/мл)		Систематическая ошибка	Общее СО	Общая аналитическая ошибка ^a	Подход с двумя измерениями ^b
			Ожидаемая	Наблюдаемая				
ВГС Gt1a (Клинический образец №1)	1	24	2,00	2,16	0,16	0,23	0,61	0,64
	2	24	2,00	2,13	0,13	0,20	0,53	0,56
	3	23	2,00	2,30	0,30	0,20	0,70	0,56
	1	24	1,65	1,70	0,04	0,30	0,64	0,85
	2	24	1,65	1,62	0,03	0,26	0,55	0,74
	3	24	1,65	1,77	0,12	0,18	0,48	0,51
ВГС Gt1a (Клинический образец №2)	2	24	2,00	1,90	0,10	0,23	0,56	0,65
	3	22	2,00	2,11	0,11	0,27	0,65	0,76
	4	24	2,00	1,96	0,04	0,24	0,52	0,68
ВГС Gt3a (Клинический образец №3)	1	24	1,65	1,52	0,13	0,27	0,66	0,75
	2	23	1,65	1,58	0,07	0,29	0,66	0,83
	3	23	1,65	1,64	0,02	0,25	0,52	0,71

- a. Значения общей аналитической ошибки, вычисленные в модели Westgard, были: $[TAE = (| \text{Систематическая ошибка} | + (2 \times \text{SD})) \leq 1 \log_{10} \text{ МЕ/мл}]$, что обеспечивает 95 %-ную вероятность того, что измерение будет отличаться от истинного значения менее чем на $1 \log_{10} \text{ МЕ/мл}$.
- b. Подход с двумя измерениями, где $[(2 \times \text{SQRT}(2) \times \text{SD}) \leq 1 \log_{10} \text{ МЕ/мл}]$, показывает, что разность менее чем $1 \log_{10} \text{ МЕ/мл}$ может быть объяснена случайной ошибкой измерения

18.3 Линейный диапазон и инклюзивность

Линейность теста HCV VL FS была определена для ВГС генотипов от 1 до 6 с применением панелей образцов, приготовленных путем добавления ВГС-положительных клинических образцов или защищенной РНК к образцам ВГС-отрицательной цельной крови человека в ЭДТА. Концентрации клинических образцов и защищенной РНК были определены в тестах количественного определения РНК ВГС с применением имеющих маркировку CE тестов нуклеиновых кислот. Каждый компонент панели анализировался в шести повторностях, кроме низшего уровня каждого (50 МЕ/мл), который был исследован в двенадцати повторностях. Генотипы ВГС 1 и 3 были исследованы с двумя партиями реактивов, а другие генотипы ВГС (2, 4, 5 и 6) были исследованы с одной партией реактивов.

Для всех генотипов была продемонстрирована линейность в соответствии с рекомендациями CLSI EP06-A¹³. Результаты исследования ВГС генотипов от 1 до 6 показаны в Рисунок 5, причем результаты ВГС генотипов 1 и 3 объединены.

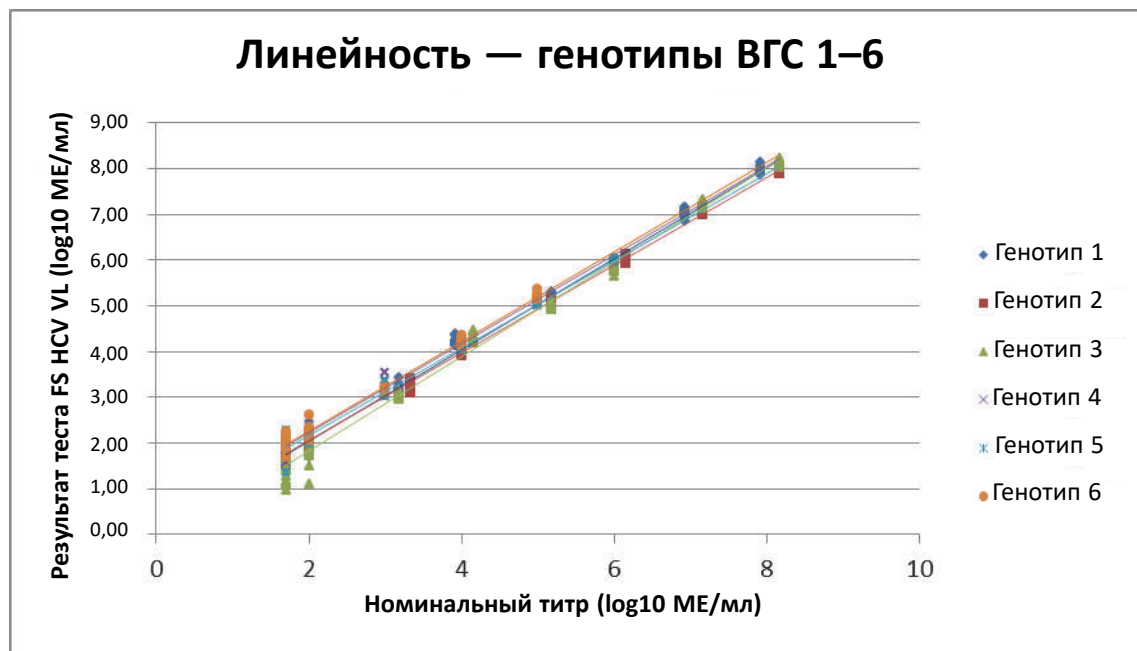


Рисунок 5. Линейность теста Xpert HCV VL FS

Тест HCV VL FS дает линейные результаты в диапазоне $100-1 \times 10^8$ МЕ/мл со значением $R^2 > 0,99$ для генотипов ВГС от 1 до 3 и во всем исследованном динамическом диапазоне для генотипов ВГС от 4 до 6 со значением $R^2 > 0,98$ (Таблица 4).

Таблица 4. Линейная регрессия теста HCV VL FS с указанием диапазона исследованных титров по генотипам

Генотип	Уравнение линейной регрессии	R^2	Исследованный диапазон титров $\log_{10}$ МЕ/мл
1	$y = 0,9975x + 0,0603$	0,995	1,70 - 8,00
2	$y = 0,9564x + 0,1547$	0,997	1,70 - 8,00
3	$y = 1,0312x - 0,2348$	0,993	1,70 - 8,00
4	$y = 0,9683x + 0,3056$	0,986	1,70 - 5,00
5	$y = 0,9553x + 0,2645$	0,990	1,70 - 6,00
6	$y = 0,9798x + 0,2995$	0,989	1,70 - 5,00

18.4 Прецизионность и воспроизводимость

Прецизионность и воспроизводимость теста HCV VL FS была определена в цельной крови с ЭДТА с применением дисперсионного анализа (ANOVA) для определения общей дисперсии.

Было проведено многоцентровое (3 центра; 2 внешних и 1 внутренний) слепое исследование с целью определения основных компонентов дисперсии теста HCV VL FS с применением восьмикомпонентной панели, состоящей из семи ВГС-положительных и одного ВГС-отрицательного образцов цельной крови в ЭДТА. Компоненты с низкими титрами были приготовлены из хорошо охарактеризованного образца ВГС генотипа 1, а компоненты с высокими титрами были приготовлены с применением препарата защищенной РНК ВГС генотипа 1. Два оператора (один с опытом выполнения ПЦР, другой без такого опыта) в каждом из трех исследовательских центров исследовали одну панель в трех повторностях два раза в день (что равноценно двенадцати повторностям в день) на протяжении шести дней. Были использованы три партии теста HCV VL FS, каждая на протяжении двух дней исследований. Были исследованы в общей сложности 216 повторностей каждого компонента панели. Прецизионность и воспроизводимость определяли в соответствии с CLSI EP5-A3¹⁴ и CLSI EP15-A3¹⁵.

Прецизионность и воспроизводимость теста HCV VL FS оценивали методом иерархического дисперсионного анализа, где в качестве факторов использованы следующие: центр/прибор, партия, день, оператор/серия, в пределах серии. Рассчитывали стандартное отклонение и процент варибельности концентрации ВГС, представленной в виде log₁₀, под влиянием каждого фактора, как показано в Таблица 5.

Таблица 5. Прецизионность и воспроизводимость теста Xpert HCV VL FS

Концентрация РНК ВГС (log10 МЕ/мл)			Влияние на СО общей вариабельности (КВ%)										Общая прецизион- ность	
			Центр/ прибор		Партия		День		Оператор/ серия		В пределах серии			
Ожидаемая	Действи- тельная	N	СО	(%) ^a	СО	(%) ^a	СО	(%) ^a	СО	(%) ^a	СО	(%) ^a	СО	КВ ^b
8,00	7,73	216	0,09	30,2	0,06	16,5	<0,01	<0,1	0,04	7,2	0,11	46,1	0,15	36,8
7,00	6,77	216	0,08	36,8	0,05	15,5	0,04	8,7	0,03	5,1	0,08	33,9	0,14	32,8
5,70	5,68	216	<0,01	<0,1	0,06	27,0	0,02	5,3	0,01	0,7	0,09	66,9	0,11	25,1
4,00	3,88	216	0,09	35,9	0,04	5,9	<0,01	<0,1	0,01	0,8	0,11	57,3	0,15	35,1
3,00	3,00	213 ^c	0,04	11,8	<0,01	<0,1	0,02	3,5	0,01	1,0	0,10	83,7	0,11	26,4
2,00	1,97	216	0,03	2,2	<0,01	<0,1	0,03	2,5	<0,01	<0,1	0,20	95,3	0,20	49,2

- a. (%) представляет собой влияние компонента дисперсии на общую дисперсию.
b. «КВ» является логнормальным КВ, полученным по формуле: Логнормальный КВ(%) = $\sqrt{10^4[\text{CO}^2 * \ln(10)] - 1} * 100$
КВ(%) = процентное значение коэффициента вариации; СО = стандартное отклонение; sqrt = квадратный корень
c. Были исключены три образца: один как **ОШИБКА (ERROR)**, один как **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)**, а третий как **ВГС НЕ ОБНАРУЖЕН (HCV NOT DETECTED)**.

В Таблица 6 показан процент совпадения положительных результатов (positive percent agreement, PPA) и процент совпадения отрицательных результатов (negative percent agreement, NPA) компонента панели с целевой концентрацией РНК ВГС ниже предела количественного определения (т. е. 1,60 log₁₀ МЕ/мл или 40 МЕ/мл) и компонента панели с ВГС-отрицательным образцом цельной крови в ЭДТА.

Таблица 6. Проценты совпадения положительных и отрицательных результатов для компонента панели ниже предела количественного определения

Ожидаемая концентрация РНК ВГС	Количество тестов с действительными результатами	Положи- тельные результаты	Отрица- тельные результаты	Процент совпадений положи- тельных результатов ^a	Процент совпадений отрица- тельных результатов ^b	95 % ДИ ^c
1,60 Log ₁₀ МЕ/мл	215	214	1	99,5		(97,4, 99,9)
Отрицательные	216	1	215		99,5	(97,4, 99,9)

- a. Процент совпадений положительных результатов = (число положительных результатов/общее число действительных тестов для положительного компонента панели) x 100
b. Процент совпадений отрицательных результатов = (число отрицательных результатов/общее число действительных тестов для отрицательного компонента панели) x 100
c. Доверительный интервал вычислен в модели Wilson-Score

18.5 Аналитическая специфичность (эксклюзивность)

Аналитическая специфичность теста HCV VL FS была оценена путем внесения микроорганизмов, способных дать перекрестные реакции, в исходной концентрации 1 x 10⁵ КОЕ/мл, копий/мл или TCID₅₀/мл в ВГС-отрицательную цельную кровь с ЭДТА, содержащую 300 МЕ/мл референсного материала ВГС1 (ВГС генотипа 1b, калиброванный относительно 4^{го} Международного стандарта ВОЗ, код NIBSC 06/102)⁶. Исследованные микроорганизмы перечислены в Таблица 7. Ни один из исследованных микроорганизмов не дал перекрестной реакции и не препятствовал количественному определению в тесте HCV VL FS.

Таблица 7. Аналитическая специфичность, микроорганизмы

Вирусы		Бактерии	Дрожжи
Вирус Банзи	Вирус папилломы человека 16	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Candida albicans</i>
Вирус полиомы человека	Вирус папилломы человека 18	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Цитомегаловирус	Т-лимфотропный вирус человека типов 1 и 2		
Вирус Денге	Вирус энцефалита Сент-Луис		
Вирус Эпштейна — Барр	Вирус ветряной оспы		
Вирус гепатита А	Вирус осповакцины		
Вирус гепатита В	Вирус Ильеус		
Вирус простого герпеса 1	Вирус западного Нила		
Вирус простого герпеса 2	Вирус желтой лихорадки		
Вирус герпеса человека 6	Вирус Зика		
Вирус герпеса человека 8			
Вирус иммунодефицита человека 1			
Вирус иммунодефицита человека 2			

18.6 Субстанции, вероятно препятствующие проведению анализа

Оценивали подверженность теста HCV VL FS влиянию повышенных уровней эндогенных веществ, маркеров аутоиммунных заболеваний и назначаемых ВГС-инфицированным пациентам лекарств. Ингибирующие эффекты оценивали в присутствии и в отсутствие референсного материала РНК ВГС 300 МЕ/мл ВГС генотипа 1b, калиброванного относительно 4-го Международного стандарта ВЗ, код NIBSC 06/102)⁶.

Установлено, что повышенное содержание указанных в Таблица 8 эндогенных веществ не влияет на количественные результаты теста HCV VL FS или на его специфичность.

Таблица 8. Эндогенные субстанции и применявшиеся в анализе концентрации

Субстанция	Концентрация, применявшаяся в анализе
Альбумин	9 г/дл
Билирубин	20 мг/дл
Гемоглобин	500 мг/дл
ДНК человека	0,4 мг/дл
Триглицериды	3000 мг/дл

Установлено, что указанные в Таблица 9 лекарственные вещества не влияют на количественные результаты теста HCV VL FS или его специфичность при испытаниях с утроенной пиковой концентрацией в пяти пулах лекарственных веществ.

Таблица 9. Пулы препаратов, применявшиеся в анализе

Пул	Лекарственные препараты
1	Зидовудин, абакавира сульфат, саквинавир, ринонавир, интерферон-альфа 2b, омбитасвир, паритапревир, дасабувир
2	Фосампренавир, рибавирин, ледипасвир, софосбувир, даклатавир, симепревир, пэгинтерферон-альфа 2a, пэгинтерферон-альфа 2b

Таблица 9. Пулы препаратов, применявшиеся в анализе (Продолжение)

Пул	Лекарственные препараты
3	Тенофовира дизопроксила фумарат, ламивудин, индинавира сульфат, ганцикловир, ацикловир, валганцикловира гидрохлорид
4	Ставудин, эфавиренз, лопинавир, энфувиртид, ципрофлоксацин, кларитромицин, маравирик
5	Невипапин, нелфинавир, азитромицин, валацикловир

Исследование образцов, взятых у двенадцати пациентов, имеющих положительный результат исследования на маркер системной красной волчанки (СКВ), из которых у семи был также положительный результат исследования на антинуклеарные антитела (АНА), а также исследование образцов, полученных у восьми пациентов с положительным результатом теста на ревматоидный фактор (РФ), не выявило влияния на количественное определение или специфичность в тесте HCV VL FS.

18.7 Чувствительность к сероконверсии

Для оценки чувствительности теста HCV VL FS исследовали последовательные образцы плазмы из десяти панелей сероконверсии. Поскольку в тесте HCV VL FS используются образцы цельной крови с ЭДТА, каждый образец плазмы был перед тестом разбавлен (в соотношении 1:3) цельной кровью с ЭДТА. Тест HCV VL FS обнаружил РНК ВГС в 53 из 59 образцов по сравнению с 22 из 59 образцов, обнаруженных не менее чем одним из тестов на антитела к ВГС (Abbott ARCHITECT HCV Ab, Abbott PRISM HCV Ab, Ortho® Ver. 3.0 ELISA HCV Ab, Ortho HCV 3.0 ELISA Test System with Enhanced SAvе, Ortho Vitros Eci, Siemens ADIVA Centaur). Ранее положительные результаты теста на ВГС были получены в тесте HCV VL FS во всех десяти исследованных панелях по сравнению со скрининговым исследованием на антитела против ВГС. Чувствительность к сероконверсии представлена в Таблица 10.

Таблица 10. Чувствительность к сероконверсии теста HCV VL FS

Номер панели	Число образцов в панели	Продолжительность в днях	Число реактивных компонентов панели		Число дней до получения первого положительного результата		Титр первого положительного результата в HCV VL FS (МЕ/мл) ^а	Число дней между первым положительным результатом в тесте Xpert и любым тесте на антитела
			HCV VL FS	Тест на антитела ^б	HCV VL FS	Тест на антитела ^б		
PHV913	4	9	4	2	0 ^с	7	1,18E+03	7
PHV915	4	14	4	2	0 ^с	12	5,10E+01	12
PHV920M	10	35	10	9	0 ^с	7	1,19E+06	7
PHV922	6	17	6	5	0 ^с	3	1,57E+06	3
PHV924	6	88	6	3	0 ^с	59	3,81E+06	59
PHV925	5	27	5	1	0 ^с	27	1,33E+06	27
PHV926	5	14	5	1	0 ^с	14	1,13E+05	14
PHV927	5	17	4	0	4	17 ^д	6,66E+02	13
PHV928	9	50	7	0	29	50 ^д	5,40E+01	21
PHV929	6	22	3	0	14	22 ^д	2,36E+03	8

- Титр, полученный в исходных данных, был умножен на коэффициент три (3) для компенсации разведения цельной кровью.
- Тест на антитела по данным поставщика: Abbott ARCHITECT HCV Ab, Abbott PRISM HCV Ab, Ortho Version 3.0 ELISA HCV Ab, Ortho HCV 3.0 ELISA Test System with Enhanced SAvе, Ortho Vitros Eci, Siemens ADVIDA Centaur.
- Обнаружение во всех образцах выполнено в тесте HCV VL FS.
- Все образцы не давали реакции в тестах на антитела к ВГС (по информации поставщика). Для определения «дня до первого положительного результата» использован день последнего образца.

19 Функциональные характеристики — клинические

19.1 Специфичность у здоровых доноров крови

Специфичность теста Xpert HCV VL FS оценивали с использованием 500 образцов цельной крови с ЭДТА, полученных от ВГС-отрицательных доноров крови. При использовании теста Xpert HCV VL FS ни в одном из этих 500 образцов не обнаружена РНК ВГС, что указывает на 100 % специфичность теста (95 % ДИ = 99,2–100). Частота неопределенных результатов теста Xpert HCV VL FS при исследовании крови, полученной от здоровых доноров, составила 1,0 % (5/505).

19.2 Клинические функциональные характеристики

Проведено многоцентровое исследование для оценки функциональных характеристик теста Xpert HCV VL FS с образцами цельной капиллярной и венозной крови лиц с высоким риском инфекции ВГС или инфицированных ВГС. В качестве метода сравнения использовано количественное определение РНК ВГС в плазме с ЭДТА.

Из 930 пригодных к анализу пациентов 621 (66,8 %) были мужского пола и 309 (33,2 %) были женского пола. Средний возраст составил $48,8 \pm 12,6$ года, диапазон возраста — от 18 до 84 лет.

Функциональные характеристики в популяции высокого риска

Чувствительность и специфичность теста Xpert HCV VL FS были определены при исследовании образцов, полученных у лиц, имеющих установленный риск инфекции ВГС. На Таблица 11 показаны характеристики теста Xpert HCV VL FS с образцами цельной капиллярной и венозной крови. В качестве метода сравнения использовано количественное определение РНК ВГС в полученной из тех же образцов плазме с добавлением ЭДТА. В этой таблице также показаны характеристики теста Xpert HCV VL FS с образцами цельной капиллярной и венозной крови по сравнению с тестом Xpert HCV VL с полученной из тех же образцов плазмой с добавлением ЭДТА.

Таблица 11. Характеристики теста Xpert HCV VL FS по сравнению с двумя методами определения РНК ВГС в популяции с высоким риском инфекции ВГС

	N	ип ^а	лп ^б	ио ^с	ло ^д	Чувстви- тельность (%)	95 % ДИ чувстви- тельности (%)	Специфи- чность (%)	95 % ДИ специфи- чности (%)
HCV VL FS с капиллярной кровью по сравнению с другим методом (плазма)	339	54	0	283	2	96,4	87,9 – 99,0	100	98,7 – 100
HCV VL FS с венозной кровью по сравнению с другим методом (плазма)	352	55	0	295	2	96,5	88,1 – 99,0	100	98,7 – 100
HCV VL FS с капиллярной кровью по сравнению с HCV VL (плазма)	339	54	0	278	7	88,5	78,2 – 94,3	100	98,6 – 100
HCV VL FS с венозной кровью по сравнению с HCV VL (плазма)	352	55	0	290	7	88,7	78,5 – 94,4	100	98,7 – 100

- a. Истинно положительные
- b. ложноположительные
- c. Истинно отрицательные
- d. ложноотрицательные

Корреляция между методами

Из образцов, полученных в общей сложности у 930 пациентов, 881 дали действительные результаты в тесте Xpert HCV VL FS с цельной капиллярной кровью и методе сравнения для определения РНК ВГС при общем совпадении 97,8 % (862/881). Из этих 881 образцов 429 находились в диапазоне количественного определения обоих тестов. Результат анализа методом регрессии Деминга показан ниже в Рисунок 6.

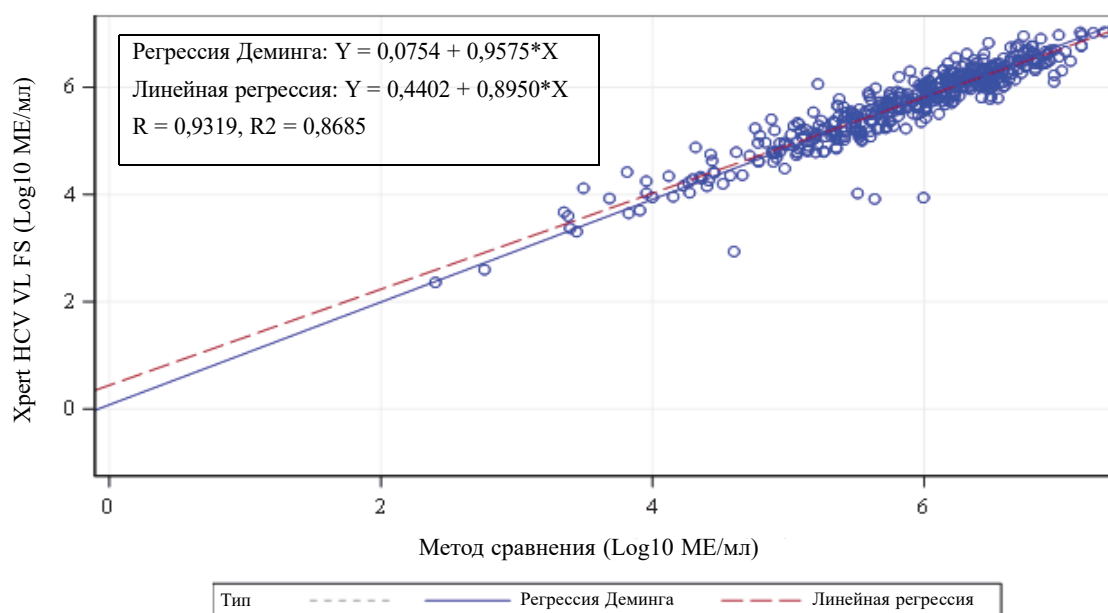


Рисунок 6. Тест Xpert HCV VL FS (цельная капиллярная кровь) и метод сравнения для определения РНК ВГС (плазма+ЭДТА)

Из образцов, полученных в общей сложности у 930 пациентов, 920 дали действительные результаты в тесте Xpert HCV VL FS с цельной венозной кровью и методе сравнения при общем совпадении 97,7 % (899/920). Из этих 920 образцов 447 находились в диапазоне количественного определения обоих тестов. Результат анализа методом регрессии Деминга показан ниже в Рисунок 7.

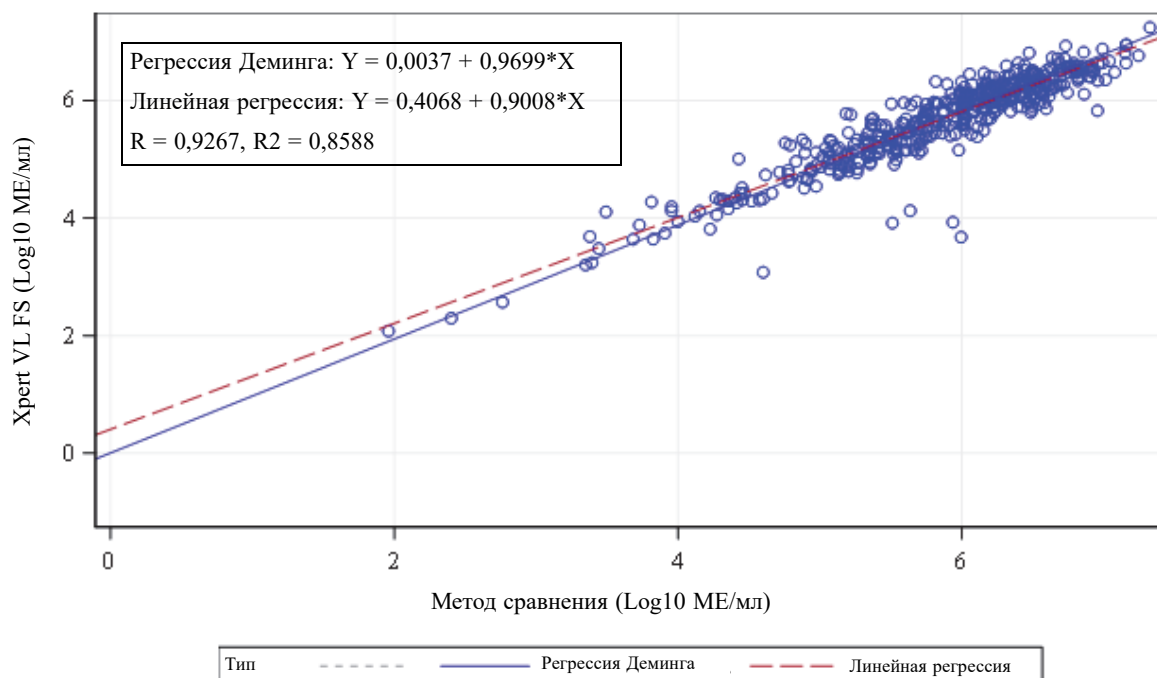


Рисунок 7. Тест Xpert HCV VL FS (цельная венозная кровь) и метод сравнения для определения РНК ВГС (плазма+ЭДТА)

Из образцов, полученных в общей сложности у 930 пациентов, 885 дали действительные результаты в тесте Xpert HCV VL FS с цельной капиллярной кровью и тесте Xpert HCV VL с плазмой+ЭДТА при общем совпадении 97,4 % (862/885). Из этих 885 образцов 433 находились в диапазоне количественного определения обоих тестов. Результат анализа методом регрессии Деминга показан ниже в Рисунок 8.

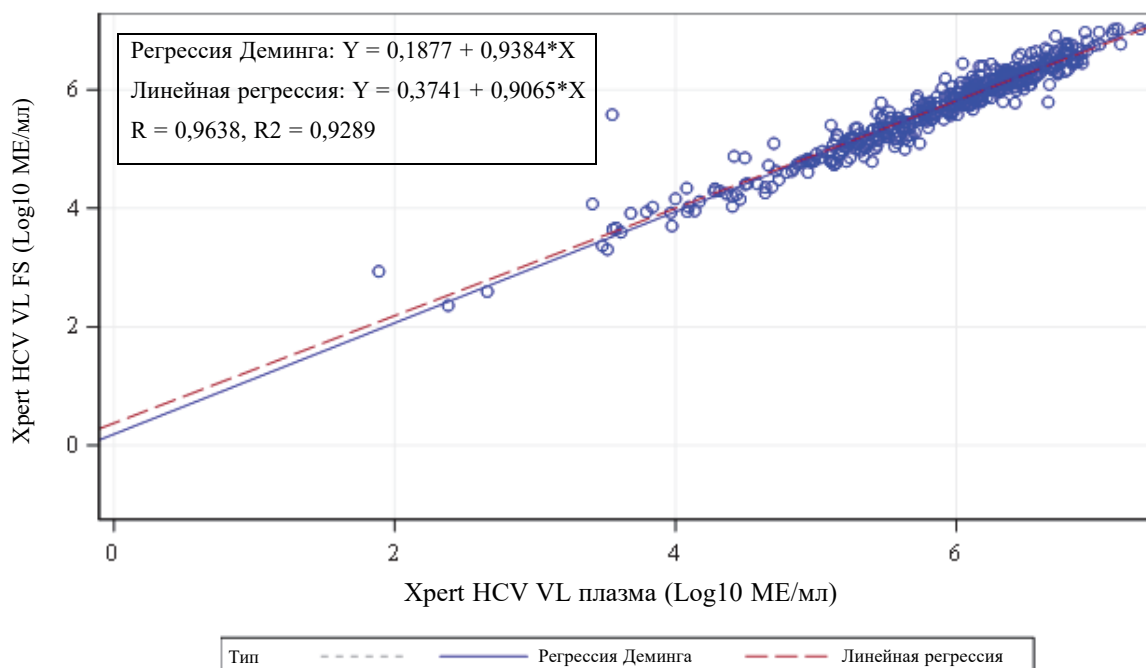


Рисунок 8. Тест Xpert HCV VL FS (цельная капиллярная кровь) и метод сравнения Xpert HCV VL (плазма+ЭДТА)

Из образцов, полученных в общей сложности у 930 пациентов, 927 дали действительные результаты в тесте Xpert HCV VL FS с цельной венозной кровью и тесте Xpert HCV VL с плазмой+ЭДТА при общем совпадении 97,6 % (905/927). Из этих 927 образцов 453 находились в диапазоне количественного определения обоих тестов. Результат анализа методом регрессии Деминга показан ниже в Рисунок 9.

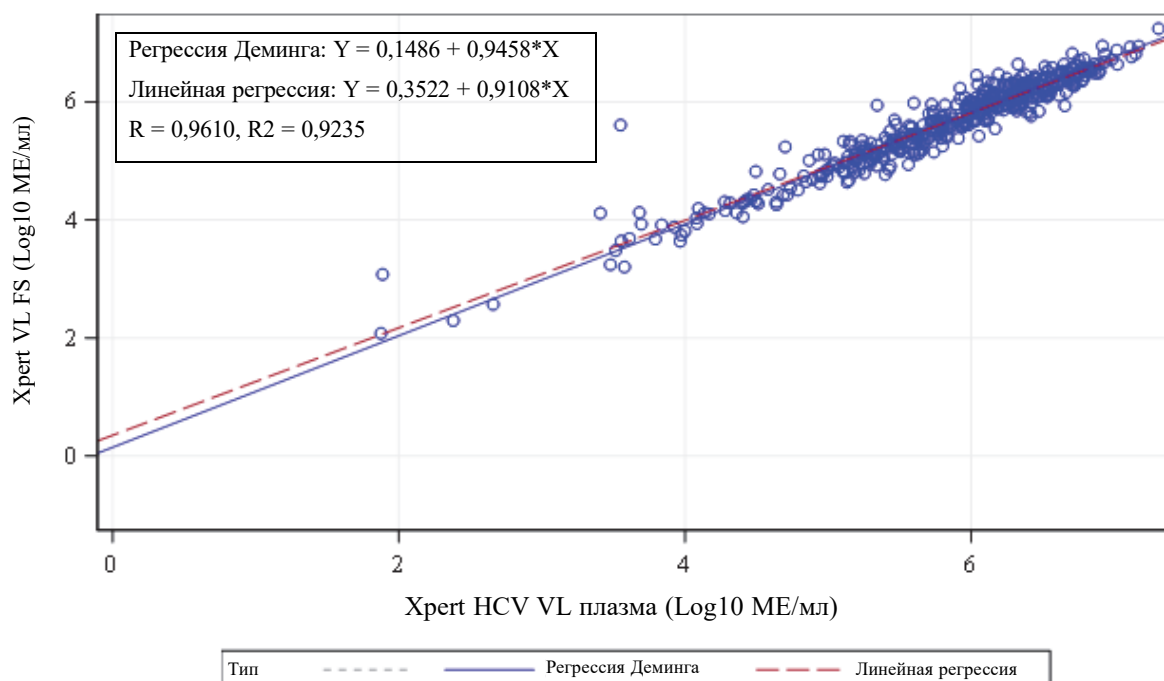


Рисунок 9. Тест Xpert HCV VL FS (цельная венозная кровь) и метод сравнения Xpert HCV VL (плазма+ЭДТА)

20 Литература

1. Di Bisceglie AM. *Natural history of Hepatitis C: its impact on clinical management*. Hepatology 2000; 31:1014-1018.
2. World Health Organisation. Global hepatitis report, 2017. WHO. April 2017.
3. Hepatitis C FAQs for Health Professionals, accessed March 5, 2018 at <http://www.cdc.gov/hepatitis/hcv/hcvfaq.htm>.
4. Hepatitis C Fact Sheet No 164 Updated October 2017, accessed March 5, 2018 at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>.
5. EASL Recommendation on Treatment of Hepatitis C. J. Hepatology 2017; vol. 66:153- 194.
6. The 4th WHO International Standard for Hepatitis C Virus for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC code: 06/102). National Institute for Biological Standards and Control; 2014.
7. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (5th edition), accessed March 5, 2018 at <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline*. Document M29 (refer to latest edition).
9. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. Accessed April 20, 2018 at http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/.
10. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006.
11. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 CFR, part 1910, subpart Z).
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures*; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2012.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach*. Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2003.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures*; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. *User Verification of Precision and Estimation of Bias*; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP15-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.

21 Расположение штаб-квартиры корпорации Cepheid

Головной офис

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Соединенные Штаты Америки
Телефон: + 1 408 541 4191
Факс: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Европейский офис

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Франция
Телефон: + 33 563 825 300
Факс: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

22 Техническая поддержка

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

Контактная информация

Соединенные Штаты Америки
Телефон: + 1 888 838 3222
Адрес электронной почты:
techsupport@cepheid.com

Франция
Телефон: + 33 563 825 319
Адрес электронной почты:
support@cepheideurope.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Cepheid доступна на нашем веб-сайте: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

23 Условные обозначения

Символ	Значение
	Каталожный номер
	Маркировка CE – соответствие европейским стандартам
	Медицинское устройство для диагностики <i>in vitro</i>
	Не использовать повторно
	Код партии
	Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно!
	Производитель
	Страна-изготовитель
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов
	Контроль
	Срок годности
	Температурные ограничения
	Биологическая опасность
	Предостережение



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden (Швеция)



Xpert[®] HIV-1 Qual XC

REF GXHIV-QA-XC-CE-10

Инструкция по эксплуатации

CE 2797 **IVD**



Медицинское устройство для диагностики
in vitro

302-3767-RU, Rev. B август 2021

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, and Xpert® are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2021 Cepheid.

Cepheid®, логотип Cepheid, GeneXpert® и Xpert® являются товарными знаками компании Cepheid, зарегистрированными в США и других странах.

Все другие товарные знаки являются собственностью их соответствующих владельцев.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩЕЙ ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

© 2021 Cepheid.

Изменения описаны в разделе раздела 26 История изменений .

Xpert® HIV-1 Qual XC

Только для диагностических тестов *in vitro*.

1 Патентованное название

Xpert® HIV-1 Qual XC

2 Общепринятое или распространенное наименование

HIV-1 Qual XC

3 Назначение

Xpert® HIV-1 Qual XC (Extended Coverage) — это тест *in vitro* на основе амплификации нуклеиновых кислот для качественного обнаружения общих нуклеиновых кислот вируса иммунодефицита человека типа 1 (ВИЧ-1) в автоматизированной системе GeneXpert®. Этот тест используется для обнаружения ВИЧ-1 в образцах сухой капли крови (СКК) человека и цельной венозной крови (ЦК) с ЭДТА, взятых у лиц с подозрением на инфекцию ВИЧ-1.

Xpert® HIV-1 Qual XC предназначен для помощи в диагностике инфекции ВИЧ-1 в сочетании с клинической картиной и другими лабораторными маркерами в популяциях детей раннего возраста, подростков и взрослых.

Xpert® HIV-1 Qual XC предназначен для использования лабораторными специалистами, обученными медицинскими работниками или другими медицинскими работниками, прошедшими соответствующее обучение по использованию устройства. Этот тест может быть использован в лабораторных условиях или расположенных рядом с пациентами местах выполнения тестов.

Этот тест не предназначен для скрининга доноров крови, органов или тканей на ВИЧ-1.

4 Краткие сведения и разъяснения

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) является возбудителем синдрома приобретенного иммунодефицита человека (СПИД)^{1,2,3}. Передача вируса возможна при половом контакте, при контакте с инфицированной кровью, биологическими жидкостями или препаратами крови, в результате инфицирования плода во внутриутробном периоде, а также инфицирования новорожденного во время родов или в постнатальном периоде^{4,5,6}. Для нелеченной ВИЧ-1 инфекции характерны высокая интенсивность образования вирусов и разрушения CD4 Т-лимфоцитов, несмотря на зачастую длительный латентный период без клинических проявлений, вплоть до значительного снижения количества CD4 Т-лимфоцитов и развития СПИДа.

В мире около 38 миллионов человек живут с ВИЧ. Из этих инфицированных 1,7 миллиона — это новые инфекции, а 150 000 — дети. Две трети всех людей, живущих с ВИЧ, проживают в Африке к югу от Сахары⁷. Без своевременного исследования на ВИЧ и начала терапии приблизительно половина всех детей с ВИЧ умирает до достижения двухлетнего возраста⁸. Ранняя диагностика ВИЧ-инфекции у детей раннего возраста является необходимостью, а исследование на нуклеиновые кислоты ВИЧ-1 является основным методом выявления инфекции у детей в возрасте не старше 18 месяцев⁹.

У инфицированных лиц обычно через несколько суток или недель после первого контакта с вирусом развивается острая инфекция с гриппоподобными симптомами¹⁰. Острая фаза ВИЧ-инфекции обычно длится менее 14 суток¹¹ и сопровождается высокими уровнями вирусии до развития поддающегося обнаружению иммунного ответа^{12,13}. Поэтому в ситуации острой инфекции тест на нуклеиновые кислоты ВИЧ-1 может оказаться значительно более чувствительным, чем стандартные серологические тесты¹⁰.

В тесте HIV-1 Qual XC используется технология полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) с целью достижения высокой чувствительности для качественного обнаружения общих нуклеиновых кислот ВИЧ-1 в образцах ЦК или СКК.

5 Принципы проведения процедуры

В системе приборов GeneXpert (GX) объединены и автоматически выполняются: подготовка образцов, экстракция и амплификация нуклеиновых кислот и выявление целевой последовательности в простых и сложных образцах с использованием ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в реальном времени. Система состоит из прибора и персонального компьютера с предустановленным программным обеспечением для выполнения тестов и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи GeneXpert, которые содержат реагенты для ОТ-ПЦР и в которых происходят процессы ОТ-ПЦР. Поскольку картриджи представляют собой замкнутые системы, вероятность перекрестной контаминации между образцами сводится к минимуму. Полное описание системы см. в , или .

Тест HIV-1 Qual XC содержит реагенты для обнаружения общих нуклеиновых кислот ВИЧ-1 в образцах, а также внутренний контроль для обеспечения правильности обработки мишени и мониторинга присутствия ингибиторов в реакциях ОТ и ПЦР. Амплификация и обнаружение общих нуклеиновых кислот ВИЧ-1 выполняются с применением праймеров и зондов, нацеленных на высококонсервативную последовательность длинного концевой повтора (LTR) и ген полимеразы (двойная целевая последовательность) генома ВИЧ-1. Тест HIV-1 Qual XC также контролирует валидность образца путем обнаружения гена гидроксиметилбилиансинтазы человека (HMBS). Контроль зондов (Probe Check Control, PCC) предназначен для проверки регидратации реагентов, заполнения пробирки для ПЦР в картридже, целостности зондов и стабильности красителя.

Тест HIV-1 Qual XC стандартизован по 4-му международному стандарту для ВИЧ-1 Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) (код NIBSC: 16/194).¹⁴

6 Комплект поставки

Набор теста HIV-1 Qual XC содержит реагенты в количестве, достаточном для анализа 10 образцов. В набор входят:

Картриджи HIV-1 Qual XC со встроенными реакционными пробирками	10
Гранулы 1, 2 и 3 (лиофилизированные)	по 1 каждого типа в одном картридже
Лизирующий реагент (гуанидина гидрохлорид)	1,2 мл в каждом картридже
Ополаскивающий реагент	0,5 мл в каждом картридже
Элюирующий реагент	1,5 мл в каждом картридже
Отмывочный реагент (гуанидина гидрохлорид)	3,2 мл в каждом картридже
Реагент протеиназы К	0,48 мл в каждом картридже
Одноразовые пипетки для переноса вместимостью 100 мкл	1 пакет с 10 шт. в каждом наборе
Компакт-диск	1 в каждом наборе
<ul style="list-style-type: none"> • Файл описания теста (ADF) • Инструкции по импорту файла ADF в программное обеспечение • Инструкция по применению (вкладыш-инструкция) 	

Прим.

Паспорта безопасности (Safety Data Sheets, SDS) можно найти на www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com на вкладке **SUPPORT (ПОДДЕРЖКА)**.

Прим. Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма бычьей крови животных, выращенных в США. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время производства не происходило смешивания сырья с другими материалами животного происхождения.

7 Хранение и обращение

- Храните картриджи теста HIV-1 Qual XC при температуре 2–28 °C.
- Если картриджи теста HIV-1 Qual XC хранятся на холоде, доведите их до температуры 15–30 °C перед применением.
- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение теста.
- Используйте картридж в течение 4 часов после открывания крышки и добавления образца.
- Не используйте картриджи с признаками утечки.
- Не используйте ранее замороженные картриджи.
- Не используйте картриджи после даты истечения срока годности.
- Храните картриджи в коробках с наборами до момента использования и избегайте воздействия прямых солнечных лучей.

8 Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Система GeneXpert Dx, GeneXpert Infinity или GeneXpert Edge (номер по каталогу зависит от конфигурации): Прибор GeneXpert, компьютер с патентованным программным обеспечением GeneXpert версии 4.7b (система GeneXpert Dx), Xpertise™ 6.4b или выше (система Infinity), программное обеспечение GeneXpert Edge версии 1.0 (система GeneXpert Edge), сканер штрихкодов и руководство оператора
- Принтер: если необходим принтер, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.
- Свежеприготовленный 10 % отбеливатель/типохлорит натрия.
- Этанол или денатурированный этанол.
- При использовании СКК:
 - карточки для СКК 12 мм из фильтровальной бумаги, например Whatman™ 903, Munktell или аналоги
 - Ланцеты, впитыватели, пластиковые герметизируемые пакеты
 - Пинцеты/щипцы (прямые, металлические, с тупыми концами; см. Рис. 1), стерилизованные отбеливателем или гипохлоритом натрия
 - Ножницы стерильные (требуются только в том случае, если не используется перфорированная карта СКК, для вырезания СКК из фильтровальной бумаги)
 - Салфетка
 - Антисептик
- При использовании капиллярной крови:
 - Ланцеты, салфетки
 - Антисептик



Рис. 1. Прямые металлические пинцеты с тупыми концами

9 Предупреждения и меры предосторожности

- Только для диагностических тестов *in vitro*.
- При работе со всеми биологическими образцами, в том числе и с использованными картриджами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются Центрами по контролю и профилактике заболеваний США (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)¹⁵ и Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute).¹⁶
- При работе с образцами и реагентами необходимо надевать одноразовые защитные перчатки, лабораторную одежду и средства индивидуальной защиты глаз. После работы с образцами и реагентами теста необходимо тщательно вымыть руки.
- Принимайте достаточные меры безопасности в случае пролива, который может произойти при использовании хлорной извести. В таких случаях следует применять достаточные средства промывки глаз или кожи.
- Следуйте принятым в учреждении процедурам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.
- При одновременной работе с несколькими образцами следует открыть только один картридж, ввести образец и закрыть картридж, и только после этого переходить к обработке следующего образца.
- Во избежание контаминации образцов и реагентов рекомендуется следовать принципам надлежащей лабораторной практики, включая правило смены перчаток перед началом работы с образцом каждого следующего пациента.
- Не заменяйте реагенты теста HIV-1 Qual XC другими реагентами.
- Открывайте крышку картриджа теста HIV-1 Qual XC только для введения образца ЦК или СКК.
- Во избежание утечки всегда держите картридж теста HIV-1 Qual XC в вертикальном положении.
- Не используйте картридж с влажной поверхностью или с предположительно нарушенной герметичностью крышки.
- Не используйте картридж, если он упал после извлечения из упаковки.
- Не встряхивайте картридж. Встряхивание или падение картриджа после вскрытия его крышки может привести к получению недействительных результатов.
- Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.
- Не размещайте этикетку с идентификационным номером образца на крышке картриджа или на этикетке со штрихкодом.
- Каждый одноразовый картридж теста HIV-1 Qual XC используется для обработки только одного образца. Не используйте уже применявшиеся картриджи повторно.
- Одноразовая пипетка используется для переноса только одного образца. Не используйте одноразовые пипетки повторно.
- Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, при обращении с ними необходимо соблюдать стандартные меры предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реагентов следуйте принятым в вашем учреждении правилам защиты окружающей среды при обращении с отходами. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе правила не дают ясных указаний по правильному удалению в отходы, биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их удаления¹⁷.
- В случае загрязнения рабочей зоны или оборудования образцами тщательно протрите контаминированный участок свежеприготовленным 0,5 % раствором гипохлорита натрия (или разбавленным в соотношении 1:10 хлорсодержащим хозяйственным отбеливателем). Затем протрите поверхность 70 % этиловым спиртом. Перед продолжением работы дайте рабочим поверхностям полностью высохнуть.
- Инструкции по очистке и дезинфекции системы приборов см. в соответствующих разделах , или .

10 Опасные химические факторы^{18, 19}

- Символ опасности СГС ООН: 
- Сигнальное слово: ОПАСНО
- Заявления об опасности СГС ООН

- Может быть вредно при проглатывании.
- Вызывает раздражение кожи.
- Вызывает раздражение глаз.
- При вдыхании может вызывать аллергические или астматические симптомы или затруднение дыхания.
- **Предостерегающие заявления СГС ООН**
 - Профилактика
 - После использования тщательно вымыть.
 - Пользоваться защитными перчатками, защитной одеждой, средствами защиты глаз/лица.
 - Избегать вдыхания пыли, дыма, газа, тумана, паров, вещества в распыленном состоянии.
 - Реагирование
 - **ДЕЙСТВИЯ ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ:** Промыть большим количеством воды с мылом.
 - Особое обращение, см. дополнительную информацию по первой помощи в паспортах безопасности веществ (Safety Data Sheet, SDS), которые можно найти по адресам www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com на вкладке **ПОДДЕРЖКА (SUPPORT)**.
 - Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед повторным использованием.
 - При раздражении кожи: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
 - **ДЕЙСТВИЯ ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА.** Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь, и если это легко сделать. Продолжить промывание.
 - Если раздражение глаз не проходит: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
 - **ПРИ ВДЫХАНИИ:** Переместить пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему покой в удобном для дыхания положении.
 - Действия при возникновении респираторных симптомов: Обратиться в **ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР** или к врачу-специалисту/терапевту.

11 Взятие, транспортировка и хранение образцов

11.1 Взятие цельной венозной крови

Соберите венозную кровь в стерильные пробирки, используя К2 ЭДТА (с лиловой крышкой) в качестве антикоагулянта в соответствии с инструкциями изготовителя. Для теста HIV-1 Qual XC требуется не менее 100 мкл ЦК.

Транспортировка и хранение образца

Цельную венозную кровь с антикоагулянтом К2 ЭДТА можно хранить при температуре 2–8 °С в течение до 96 часов или при температуре 2–35 °С в течение до 24 часов перед приготовлением и анализом образца.

11.2 Взятие цельной капиллярной крови

Для взятия образцов цельной крови используйте специально предназначенную пробирку с покрытием К2 ЭДТА для небольших объемов в соответствии с инструкциями производителя по применению. Возьмите более 100 мкл (например, 150 мкл), чтобы компенсировать потерю объема на поверхностях пробирок. Если возможно, возьмите достаточное для повторных тестов количество цельной крови в одну и ту же пробирку для взятия образцов или в отдельную пробирку, в зависимости от объема пробирки.

Транспортировка и хранение образца

Капиллярную цельную кровь с антикоагулянтом К2 ЭДТА можно хранить при температуре 2–35 °С не более 60 минут перед приготовлением и исследованием образца.

11.2.1 Взятие образцов из пятки

Важное замечание

Место для взятия образцов крови у детей зависит от возраста и массы тела ребенка. Взятие крови из прокола пятки может быть непригодным для детей, которые уже способны ходить. В таком случае взятие крови из прокола пальца может быть более целесообразным.

1. Рекомендуется, чтобы ребенок чувствовал себя комфортно и, по возможности, был спокойным и в надежном положении, чтобы пятка могла быть стабилизирована.
2. Используйте новую пару перчаток для каждого пациента.
3. Определите место прокола кожи на пятке и очистите место прокола стерилизующей салфеткой. Перед проколом место взятия крови должно быть сухим. Боковые поверхности нижней части пятки могут лучше всего подходить для взятия крови.
4. Проколите кожу стерильным ланцетом, подходящим для детей раннего возраста, и дождитесь достаточного истечения крови. Не сжимайте место прокола и не нажимайте на него многократно, но осторожное нажатие на пятку может способствовать более свободному истечению крови.
5. Первые капли крови могут быть небольшими и иметь недостаточный объем, поэтому их можно удалять до тех пор, пока не появятся более крупные капли крови.
6. Дайте крови свободно течь из места прокола непосредственно в пробирку для взятия образца, покрытую K2 ЭДТА. Не допускайте свертывания или коагуляции крови, так как это может помешать выполнению теста.
7. После взятия крови накройте место прокола пятки повязкой.

11.2.2 Взятие образцов из пальца

1. Используйте новую пару перчаток для каждого пациента.
2. Найдите подходящее место для прокола. Обычно подходят боковые стороны третьего или четвертого пальца с достаточным количеством мягких тканей. Избегайте кончика пальца и центра подушечки пальца.
3. Разогрев кистей рук и пальцев и опускание их вниз могут способствовать нормальному кровотоку.
4. Перед проколом протрите место прокола дезинфицирующей салфеткой и убедитесь, что оно высохло.
5. Стерильным ланцетом проколите палец немного в стороне от центра подушечки пальца. Рекомендуется использовать ланцет, который обеспечит свободное истечение крови. Не сжимайте место прокола и не нажимайте на него многократно, но осторожное нажатие на кончик пальца может способствовать более свободному истечению крови.
6. Первые капли крови могут быть небольшими и иметь недостаточный объем, поэтому их можно удалять до тех пор, пока не появятся более крупные капли крови.
7. Дайте крови свободно течь из места прокола непосредственно в пробирку для взятия образца, покрытую K2 ЭДТА. После взятия крови накройте место прокола пластырем или клеевой повязкой.

11.3 Взятие сухой капли крови (СКК)

При взятии образцов СКК выполняйте соответствующие клинические процедуры.

1. Для приготовления образца капиллярной крови, взятой непосредственно из прокола пятки, пальца руки или пальца ноги, либо крови, собранной в пробирку с K2 ЭДТА, используйте карточки из фильтровальной бумаги Whatman 903, Munktell или аналоги в соответствии с инструкциями изготовителя бумаги. Вы также можете приготовить СКК из цельной венозной крови, собранной в стерильные пробирки, используя K2 ЭДТА (с лиловой крышечкой) в качестве антикоагулянта.
2. Нанесите кровь в пределы каждого очерченного 12-миллиметрового кружка на карточке из фильтровальной бумаги.
3. Обязательно покрывайте кровью весь кружок (примерно 60–70 мкл).
4. Из каждого образца крови необходимо приготовить не менее двух кружков, чтобы обеспечить возможность повторного теста.
5. Если в пробирку с ЭДТА была собрана ЦК (венозная или капиллярная), перемешайте содержимое пробирки, перевернув ее не менее 7 раз, прежде чем наносить ЦК на фильтр.
6. Высушите карточку на воздухе, оставив ее при комнатной температуре не менее чем на четыре часа.
7. Каждую карточку следует упаковывать в отдельный повторно запечатываемый пакет, содержащий пакетик влагопоглотителя.

Транспортировка и хранение образца

Карточки фильтровальной бумаги с образцами СКК отправляют в лабораторию для дальнейшей обработки, поместив каждую карточку в отдельный повторно запечатываемый пакет с пакетиком влагопоглотителя. Карточки можно хранить при температуре 2–25 °C или замороженными при температуре -15 °C или ниже до 16 недель. Карточки также можно хранить при температуре 2–35 °C не более 8 недель.

12 Процедура

12.1 Подготовка картриджа

Важное замечание

Анализ следует начать не позднее чем через 4 часа после того, как образец был помещен в картридж.

1. Пользуйтесь одноразовыми защитными перчатками.
2. Дождитесь уравнивания температуры картриджей теста HIV-1 Qual XC и образцов до 15–30 °C перед внесением образца в картридж.
 - Не вносите образец в холодный (ниже 15 °C) картридж.
3. Осмотрите подлежащий использованию картридж для выявления повреждений. В случае повреждения не используйте его.
4. Нанесите на картридж этикетку с идентификатором образца.
5. Откройте крышку картриджа.
6. Внесите образец в картридж теста.
 - Сведения об образце *цельной крови* (венозной или капиллярной) см. в раздела 12.2.
 - Сведения об образце *сухой капли крови* см. в раздела 12.3.

12.2 Образец цельной крови (венозной или капиллярной)

1. Переверните образец ЦК [пробирку с ЭДТА (с сиреневой крышкой) или для взятия капиллярной крови с ЭДТА] не менее семи раз, чтобы перемешать кровь.
2. Немедленно перенесите 100 мкл ЦК с помощью предоставленной микропипетки (Рис. 2), сжав верхнюю грушу, а затем осторожно освобождая ее, чтобы втянуть кровь в микропипетку. Избыток крови будет переливаться в нижнюю грушу.

Важное замечание

Не допускайте аспирации воздуха в пипетку после того, как пипетка будет снята с поверхности крови в сосуде для взятия крови с ЭДТА, так как это может привести к недостаточному объему крови (см. Рис. 2). НЕ заливайте образец в камеру! После использования пипетку следует удалить в отходы.

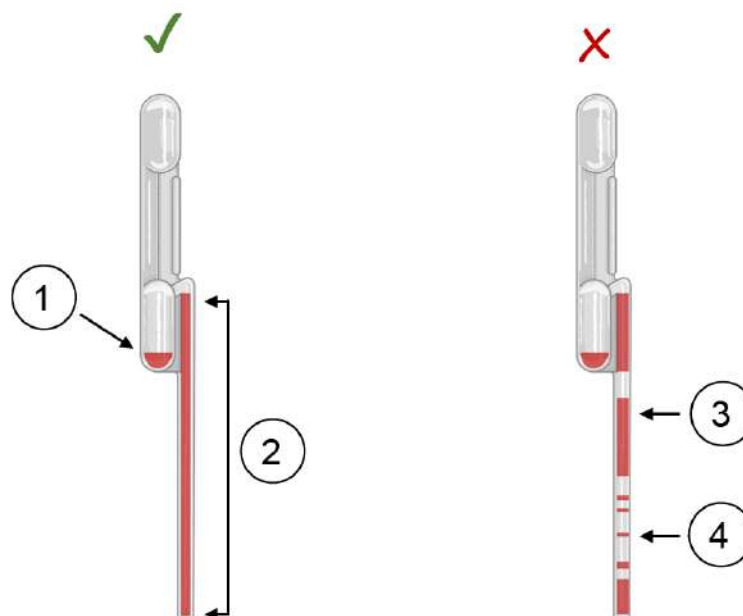


Рис. 2. HIV-1 Qual XC Микропипетка для переноса объемом 100 мкл для теста (правильное и неправильное использование)

Количество	Описание
1	Избыток образца (избегайте переноса пипеткой в картридж!)
2	100 мкл крови (образец)
3	Быстрый перенос образца пипеткой может привести к неточностям в объеме!
4	Воздушный карман

3. Снова сожмите, чтобы ввести кровь в камеру картриджа для образца (Рис. 3). Визуально убедитесь, что кровь была внесена.



Рис. 3. HIV-1 Qual XC Картридж (вид сверху)

4. Закройте крышку картриджа и начните тест.
- Сведения о системе *GeneXpert Dx* или *GeneXpert Infinity* см. в разделе раздела 13.
 - Сведения о системе *GeneXpert Edge* см. в разделе раздела 14.

12.3 Образец сухой капли крови

Важное замечание Чтобы предотвратить перекрестную контаминацию, между исследованиями образцов очистите и протрите пинцеты и ножницы (ножницы используются только в том случае, если карта СКК не перфорирована) салфеткой, используя 10%-й гипохлорит натрия. Убедитесь в том, что поверхности захвата СКК контактируют с гипохлоритом натрия. После каждой деконтаминации высушите пинцет и ножницы сухой салфеткой или дайте им высохнуть на воздухе. Следуйте этой процедуре, чтобы подготовить пинцет к использованию и после каждого образца.

1. Вырезая кружок СКК, следуйте линиям, обозначающим его границы. Для отсоединения образца СКК и обращения с ним пользуйтесь стерилизованными пинцетами (Рис. 4). При использовании неперфорированных СКК вырежьте стерильными ножницами одну целую СКК, находящуюся на карточке из фильтровальной бумаги, и используйте в качестве образца.



Рис. 4. Вырезание СКК

2. Удерживая СКК пинцетом, вставьте ее в камеру для образца картриджа, выровняв с прорезью, выходящей из отверстия камеры для образца (помечены стрелками на Рис. 3 и Рис. 5). Крепко держите образец, осторожно вдавливая его в камеру. При первом контакте СКК со стенками камеры будет ощущаться некоторое сопротивление.



Рис. 5. Введение СКК в камеру для образца

3. Давление на стенки камеры будет сгибать СКК так, чтобы образец вошел в камеру. Продолжайте проталкивать его вниз до нижней части камеры до упора (Рис. 6). Перед тем как извлечь пинцет, отпустите СКК, чтобы случайно не вытянуть образец обратно вверх.



Рис. 6. Образец СКК сложен на дне камеры для образца

Важное замечание

Осмотрите картридж и убедитесь, что СКК теперь находится на дне камеры для образца.

4. Закройте крышку картриджа и начните тест.

- Сведения о системе *GeneXpert Dx* или *GeneXpert Infinity* см. в разделе раздела 13.
- Сведения о системе *GeneXpert Edge* см. в разделе раздела 14.

13 Запуск теста с использованием системы GeneXpert Dx или GeneXpert Infinity

13.1 Импорт файла описания теста

Перед запуском теста убедитесь, что файл описания теста (Assay Definition File, ADF) импортирован в программное обеспечение.

- Для образца *цельной крови*: **Xpert HIV-1 Qual XC WB**.
- Для образца *сухой капли крови*: **Xpert HIV-1 Qual XC DBS**.

Если в компьютер загружен только один из двух HIV-1 Qual XC ADF, поле **Выбрать тест (Select Assay)** будет автоматически заполнено после шага 6, описанного ниже в разделе 13.2. Если доступны оба ADF (для СКК и ЦК), выберите ADF, соответствующий типу использованного образца, в раскрывающемся меню **Выбрать тест (Select Assay)**, как показано на Рис. 7 для системы GeneXpert Dx и на Рис. 8 для системы GeneXpert Infinity.

Создать анализ

ID пациента: HIV 1

ID образца:

Название: <Нет> Версия: <Нет>

Выбрать тест: <Нет>

Выбрать модуль: Xpert HIV-1 Qual XC WB 1

ID партии реактива: Xpert HIV-1 Qual XC DBS 1

Тип анализа: Образец

Тип образца: Другой тип образца

Примечания:

Начать анализ Сканировать штрих-код картриджа Отменить

Рис. 7. Выберите ADF, соответствующий типу использованного образца для GeneXpert Dx

Module Status

Module Name	Status
A1	Available
A2	Available
A3	Available
A4	Available
B1	Available
B2	Available
B3	Available
B4	Available

Order Test - Assay Selection

Assay	Version
Xpert HIV-1 Qual XC WB	1
Xpert HIV-1 Qual XC DBS	1

CONTINUE

CLEAR ORDER

Рис. 8. Выберите ADF, соответствующий типу использованного образца для системы GeneXpert Infinity

13.2 Запуск теста

Важное замечание

При использовании системы *GeneXpert Dx* перед началом анализа убедитесь, что в системе работает программное обеспечение GeneXpert Dx версии 4.7b или выше, и что правильный файл описания теста импортирован в программное обеспечение.

Важное замечание

При использовании системы *GeneXpert Infinity* перед началом анализа убедитесь, что в системе работает программное обеспечение Xpertise версии 6.4b или выше, и что правильный файл описания теста импортирован в программное обеспечение.

В данном разделе перечислены основные действия при выполнении теста. Подробные инструкции приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемой модели.

Прим.

Выполняемые вами действия могут быть другими, если системный администратор изменил установленную по умолчанию рабочую последовательность.

1. Включите прибор GeneXpert:

- При использовании прибора *GeneXpert Dx* следует сначала включить прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически. Если это не происходит, дважды щелкните по ярлыку программного обеспечения GeneXpert Dx, который находится на рабочем столе Windows®.

или

- При использовании прибора *GeneXpert Infinity* следует включить прибор. Программное обеспечение Xpertise запустится автоматически. Если это не происходит, дважды щелкните по ярлыку программного обеспечения Xpertise, который находится на рабочем столе Windows®.
2. Войдите в программное обеспечение системы приборов GeneXpert, используя свои имя пользователя и пароль.
 3. В окне системы GeneXpert щелкните **Создать анализ (Create Test)** (для GeneXpert Dx) или **Заказы (Orders)**, а затем **Заказать анализ (Order Test)** (для Infinity). Откроется окно **Создать анализ (Create Test)**. Появится окно **Scan Patient ID barcode (Сканировать штрихкод ID пациента)**.
 4. Отсканируйте или введите вручную «ID пациента» (Patient ID). Если вводится «ID пациента» (Patient ID), то проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID пациента» (Patient ID) связывается с результатами теста; он указывается в окне **Просмотреть результаты (View Results)** и во всех отчетах. Появится диалоговое окно **Сканировать штрихкод ID образца (Scan Sample ID Barcode)**.
 5. Отсканируйте или введите вручную «ID образца» (Sample ID). Если вводится «ID образца» (Sample ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. ID образца (Sample ID) связывается с результатами теста; он указывается в окне **Просмотреть результаты (View Results)** и во всех отчетах. Появится диалоговое окно **Сканировать штрихкод картриджа (Scan Cartridge Barcode)**.
 6. Отсканируйте штрихкод на картридже. На основе информации, считанной со штрихкода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «Выбрать тест» (Select Assay), «ID партии реагента» (Reagent Lot ID), «С/Н картриджа» (Cartridge SN) и «Срок годности» (Expiration Date).

Прим.

Если штрихкод картриджа не сканируется, повторите анализ с новым картриджем. Если вы отсканировали штрихкод картриджа в программном обеспечении и файл описания теста недоступен, появится экран, показывающий, что файл описания теста не загружен в систему. Если появится этот экран, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid.

7. Щелкните **Начать анализ (Start Test)** (для GeneXpert Dx) или **Отправить (Submit)** (для Infinity). В появляющемся диалоговом окне введите пароль, если это необходимо.
8. При использовании системы *GeneXpert Infinity* поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, будет выполнен тест, а использованный картридж будет удален в контейнер для отходов.

или

Для прибора *GeneXpert Dx*:

- a) Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
- b) Закройте дверцу. После этого начинается тест, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса теста индикаторная лампа выключается.
- c) Прежде чем открывать дверцу модуля, дождитесь разблокирования системой замка дверцы. Затем извлеките картридж.
- d) Удаляйте в отходы использованные картриджи в подходящие контейнеры для сбора отходов образцов согласно стандартным правилам, принятым в вашем учреждении.

13.3 Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечислены основные действия по просмотру и печати результатов. Более подробные инструкции по просмотру и печати результатов представлены в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, что зависит от используемой модели.

1. Для просмотра результатов выберите ярлык **Просмотреть результаты (View Results)**.
2. По завершении теста нажмите кнопку **Отчет (Report)** в окне Просмотреть результаты (View Results) для просмотра и (или) получения отчета в формате PDF.

14 Запуск теста с использованием системы GeneXpert Edge

Перед запуском теста убедитесь, что файл описания теста (Assay Definition File, ADF) импортирован в программное обеспечение.

Прим.

- Для образца *цельной крови*: Xpert HIV-1 Qual XC ЦК.
- Для образца *сухой капли крови*: Xpert HIV-1 Qual XC СКК.

В данном разделе перечислены основные действия при выполнении теста. Подробные инструкции см. в *руководстве пользователя системы GeneXpert Edge*.

14.1 Запуск теста

1. Наденьте чистую пару перчаток.
2. Включите прибор GeneXpert Edge. Выключатель питания расположен в нижней части задней панели устройства.
3. Включите планшетный компьютер:
 - *Windows 7*: Появится экран **учетной записи Windows 7**. Коснитесь значка **Cepheid-Admin**, чтобы продолжить.
 - *Windows 10*: Появится экран **блокировки Windows**. Проведите пальцем по экрану вверх, чтобы продолжить.
 Появится экран **ввода пароля Windows**.
4. Коснитесь клавиши **Пароль (Password)**, чтобы отобразить клавиатуру, затем введите свой пароль.
5. Коснитесь кнопки со **стрелкой** справа от области ввода пароля.
Программное обеспечение GeneXpert Edge загрузится автоматически, и вскоре после этого появится экран **приветствия**.
6. Коснитесь кнопки **КОСНИТЕСЬ ЗДЕСЬ, ЧТОБЫ НАЧАТЬ (TOUCH HERE TO BEGIN)**.
Сначала появится кнопка **ПРОСМОТР ПРЕДЫДУЩИХ ТЕСТОВ (VIEW PREVIOUS TESTS)**. Кнопка **НОВЫЙ ТЕСТ (NEW TEST)** появится на **начальном** экране в течение 3 минут, когда прибор будет готов к работе.
7. Коснитесь кнопки **ЗАПУСК НОВОГО ТЕСТА (RUN NEW TEST)** на **главном** экране.
8. Следуйте инструкциям, появляющимся на экране.
 - а) **Этап 1. Отсканируйте идентификатор пациента/образца** с помощью сканера штрихкода или вручную введите идентификатор пациента/образца.
 - б) **Этап 2. Подтвердите идентификатор пациента/образца.**
 - в) **Этап 3. Выполните сканирование штрихкода картриджа.**
Если в компьютер загружен только один из двух файлов описания теста, поле **Выбрать тест (Select Assay)** будет заполнено автоматически. Коснитесь **ДА (YES)**, если отображаемая информация верна. Если доступны файлы описания теста для СКК и для ЦК, то файл описания теста, соответствующий типу использованного образца, необходимо выбрать в раскрывающемся меню **Выбрать анализ (Select Assay)**, как показано на Рис. 9.

Прим.

Если штрихкод картриджа не сканируется или его сканирование приводит к сообщению об ошибке, повторите анализ с новым картриджем. Если вы отсканировали штрихкод картриджа в программном обеспечении и файл описания теста недоступен, появится экран, показывающий, что файл описания теста не загружен в систему. Если появится этот экран, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid.

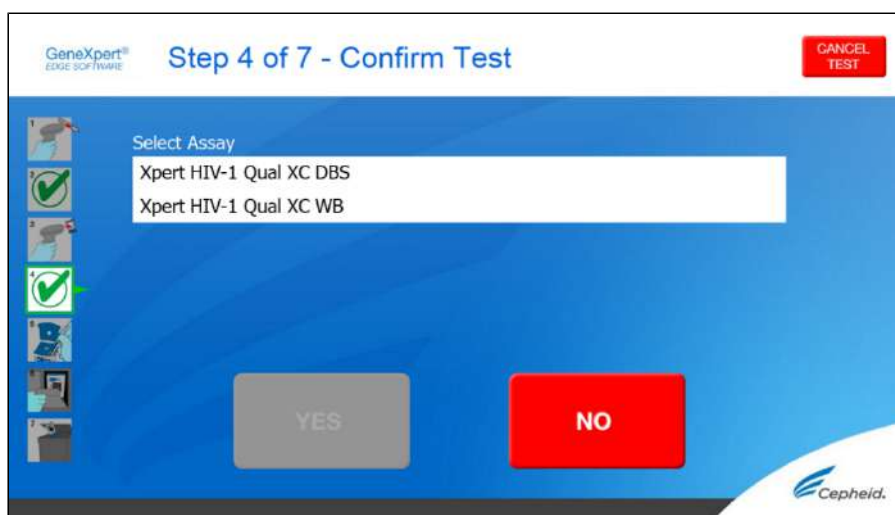


Рис. 9. Выберите файл описания теста, соответствующий типу использованного образца для GeneXpert Edge

- d) **Этап 4. Подтвердите тест** После выбора файла описания теста подтвердите тест.
- e) **Этап 5. Подготовка картриджа** Подготовка картриджа также описана в разделе 12.1. Следуйте видео или инструкциям по подготовке образца:
- *Образец цельной крови:* см. раздела 12.2.
 - *Образец сухой крови:* см. раздела 12.3.
- f) **Этап 6. Загрузите картридж** Откройте дверцу модуля с мигающим зеленым индикатором.
- Загрузите картридж штрихкодом к оператору.
- Закройте дверцу. Зеленый индикатор перестанет мигать, и тест начнется. На экране появится сообщение **Тест выполняется (Test in Progress)**.
- g) **Этап 7. Удалите картридж.**
- После завершения теста (зеленый индикатор погаснет) дверца автоматически разблокируется. Для удаления картриджа следуйте выводимым на экран инструкциям. Удалите в отходы использованные картридж и перчатки в подходящий контейнер для сбора отходов образцов согласно стандартной практике, принятой в вашем учреждении. Закройте дверцу модуля.
- Коснитесь **ПРОДОЛЖИТЬ (CONTINUE)**, чтобы просмотреть результат теста, который только что завершился. Нажмите кнопку **ПРОДОЛЖИТЬ (CONTINUE)** еще раз, чтобы вернуться на **главный экран**. На этом процедура выполнения теста завершена.

Важное замечание Не выключайте и не отсоединяйте приборы во время выполнения теста. Выключение или отсоединение прибора GeneXpert или планшетного компьютера приведет к остановке теста.

14.2 Начало нового теста

Дополнительный тест может быть начат после начала выполнения первого теста.

1. Коснитесь кнопки **ГЛАВНАЯ (HOME)**.
На **главном** экране модуль будет отображаться как светло-серый, а также будет указано, что выполняется сбор данных.
2. Коснитесь кнопки **ЗАПУСК НОВОГО ТЕСТА (RUN NEW TEST)** и приступайте к новому тесту, выполнив действия, описанные в разделе 14.1.
3. После начала выполнения второго теста коснитесь кнопки **ГЛАВНАЯ (HOME)**. Отображается состояние обоих тестов.
Когда тест будет завершен, текст значка изменится на **Сбор данных завершен (Data collection complete)**, и на значке появится флажок.

4. Коснитесь значка **Сбор данных завершен (Data collection complete)**, чтобы отобразить экран **Удалить картридж (Remove Cartridge)**. Для удаления картриджа следуйте выводимым на экран инструкциям.

14.3 Просмотр результатов

В данном разделе перечислены основные действия по просмотру и печати результатов. Подробные инструкции о просмотре и печати результатов приведены в *руководстве оператора системы GeneXpert Edge*.

Прим. При представлении отчетов результатов через ЛИС удостоверьтесь, что результаты ЛИС и системы совпадают в отношении поля ID пациента; если результаты не совпадают, представляйте отчет только по результатам системы.

1. Коснитесь кнопки **ПРОСМОТР ПРЕДЫДУЩИХ ТЕСТОВ (VIEW PREVIOUS TESTS)** на **главном** экране.
2. На экране **Выбрать тест (Select Test)** выберите тест, коснувшись его имени или используя стрелки для выбора теста.

15 Контроль качества

В каждый тест входят контроль правильности образца (Sample Adequacy Control, SAC), контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC), и контроль зондов (Probe Check Control, PCC).

- **Контроль правильности образца (SAC):** гарантирует, что добавленный образец является образцом человека. Если был добавлен образец, не являющийся образцом человека, недостаточный объем или в картридж был вставлен пустой образец СКК, после запуска будет отображаться результат **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)**. Результат для SAC должен быть положительным для отрицательного образца и может быть как отрицательным, так и положительным для положительного образца. Если SAC не соответствует валидированным критериям приемлемости, результат теста будет отображен как **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)**.
- **Контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC):** позволяет удостовериться в правильности обработки образца в процессе анализа. SPC представляет собой контроль Armored RNA®, не связанный с ВИЧ, включенный в каждый картридж и полностью проходящий весь процесс теста. SPC позволяет убедиться в правильности обработки образца. Кроме того, этот контроль позволяет выявить связанное с образцом ингибирование реакции ОТ-ПЦР в реальном времени. SPC должен соответствовать валидированным критериям приемлемости в ВИЧ-1-отрицательном образце. Если SPC не соответствует валидированным критериям приемлемости, результат теста будет отображаться как **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)**. Если в образце обнаружен ВИЧ-1, SPC не требуется для соответствия валидированным критериям приемлемости.
- **Контроль зондов (PCC):** Перед началом ПЦР система приборов GeneXpert измеряет флуоресцентный сигнал зондов для проверки регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль PCC считается пройденным, если флуоресцентные сигналы соответствуют валидированным критериям приемлемости.
- **Внешние контроли.** Внешние контроли могут использоваться в порядке, установленном применимыми требованиями местных, региональных и федеральных уполномоченных организаций.

16 Интерпретация результатов

Результаты автоматически интерпретируются системой приборов GeneXpert на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета, и они четко отображаются в окне **Просмотреть результаты (View Results)** (от Рис. 10 до Рис. 14). Возможные результаты показаны в Табл. 1.

Табл. 1. Результаты тестов и их интерпретация

Результат	Интерпретация
ВИЧ-1 ОБНАРУЖЕН (HIV-1 DETECTED) См. Рис. 10.	Целевые нуклеиновые кислоты ВИЧ-1 обнаружены. <ul style="list-style-type: none"> Ст целевых нуклеиновых кислот ВИЧ-1 находится в действительном диапазоне. Контроль обработки образца (SPC): Неприменимо (NA); контроль обработки образца игнорируется, так как имела место амплификация целевой последовательности ВИЧ-1. Контроль правильности образца (SAC): Неприменимо (NA); контроль правильности образца игнорируется, так как имела место амплификация целевой последовательности ВИЧ-1. Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.
ВИЧ-1 НЕ ОБНАРУЖЕН (HIV-1 NOT DETECTED) См. Рис. 11.	Целевые нуклеиновые кислоты ВИЧ-1 не обнаружены. <ul style="list-style-type: none"> Контроль обработки образца (SPC): ПРОЙДЕН (PASS); пороговый цикл контроля обработки образца находится в действительном диапазоне. Контроль правильности образца (SAC): ПРОЙДЕН (PASS); обнаружен образец человека. Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)^a См. Рис. 12.	Невозможно установить наличие или отсутствие целевых нуклеиновых кислот ВИЧ-1. <ul style="list-style-type: none"> Контроль обработки образца (SPC): НЕ ПРОЙДЕН (FAIL); пороговый цикл контроля обработки образца находится вне действительного диапазона. Контроль правильности образца (SAC): НЕ ПРОЙДЕН (FAIL); пороговый цикл контроля обработки образца находится вне действительного диапазона. Контроль зондов: ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.
ОШИБКА (ERROR)^a См. Рис. 13.	Невозможно установить наличие или отсутствие целевых нуклеиновых кислот ВИЧ-1. <ul style="list-style-type: none"> ВИЧ-1: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) Контроль обработки образца (SPC): НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) Контроль зондов^b: НЕ ПРОЙДЕН (FAIL); все или один из контролей зондов не пройдены.
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)^a НЕТ РЕЗУЛЬТАТА — ПОВТОРИТЕ АНАЛИЗ (NO RESULT - REPEAT TEST)^c См. Рис. 14.	Невозможно установить наличие или отсутствие целевых нуклеиновых кислот ВИЧ-1. Сообщение НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если лаборант прервал текущий процесс анализа. <ul style="list-style-type: none"> ВИЧ-1: НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) Контроль обработки образца (SPC): НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) Контроль зондов: Н/П (неприменимо).

^a При получении сообщения **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)**, **ОШИБКА (ERROR)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** повторите тест согласно инструкции в раздела 17.2.

^b Если контроль зондов пройден, ошибка вызвана выходом предельного максимального давления за границы приемлемого диапазона или отказом компонента системы.

^c Только для GeneXpert Edge

Прим. Снимки с экранов тестов даны только в качестве примеров. Наименование и номер версии теста могут отличаться от изображенных на снимках с экрана, показанных в этой инструкции по применению.

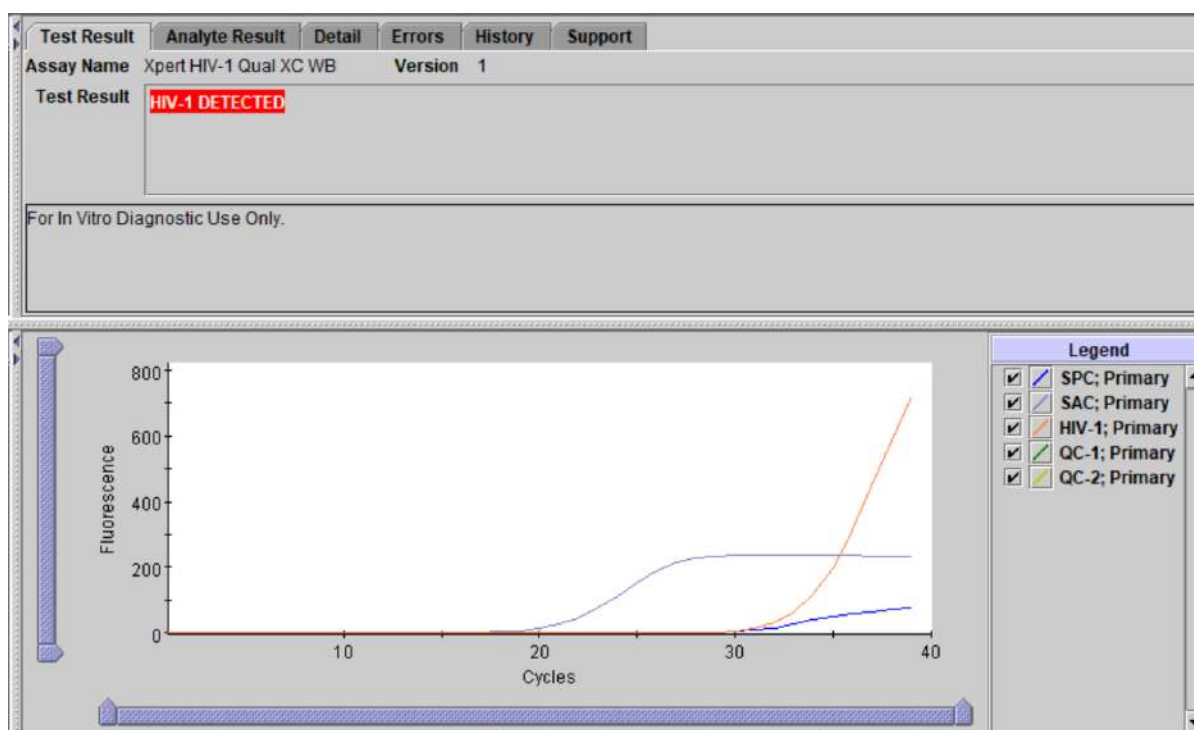


Рис. 10. ВИЧ-1 обнаружен (HIV-1 Detected), как отображено на дисплее системы GeneXpert Dx и системы GeneXpert Infinity

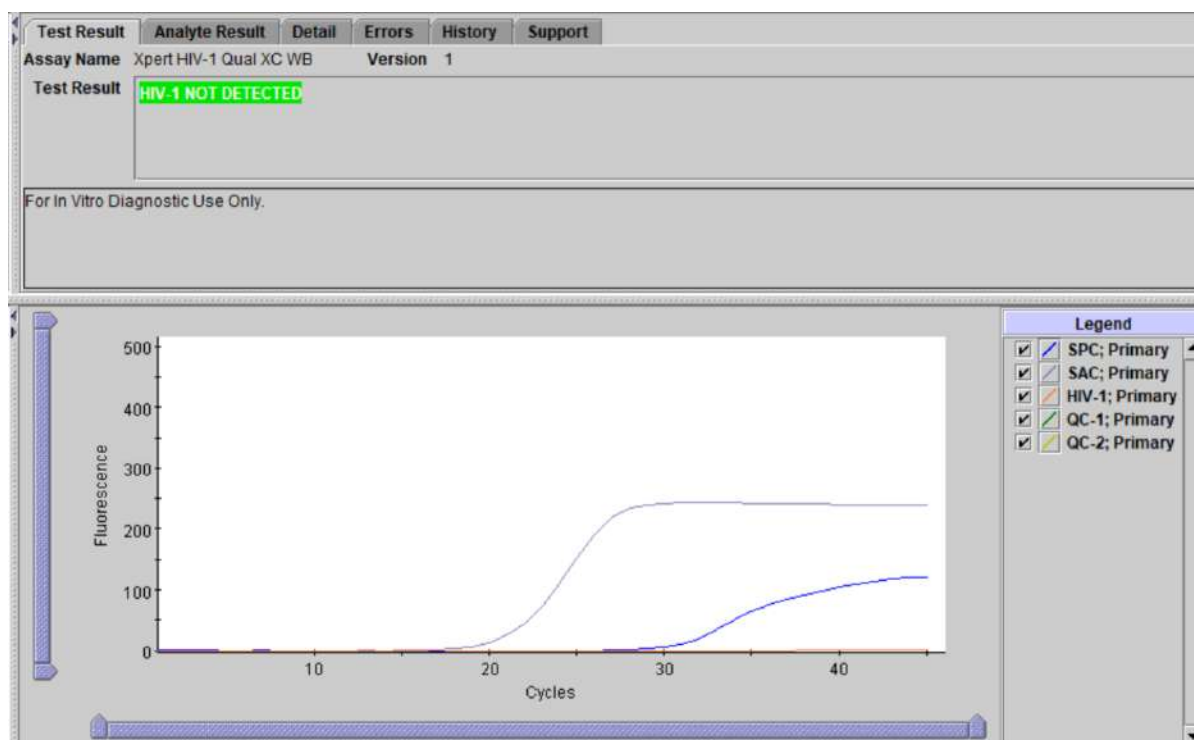


Рис. 11. ВИЧ-1 не обнаружен (HIV-1 Not Detected), как отображено на дисплее системы GeneXpert Dx и системы GeneXpert Infinity

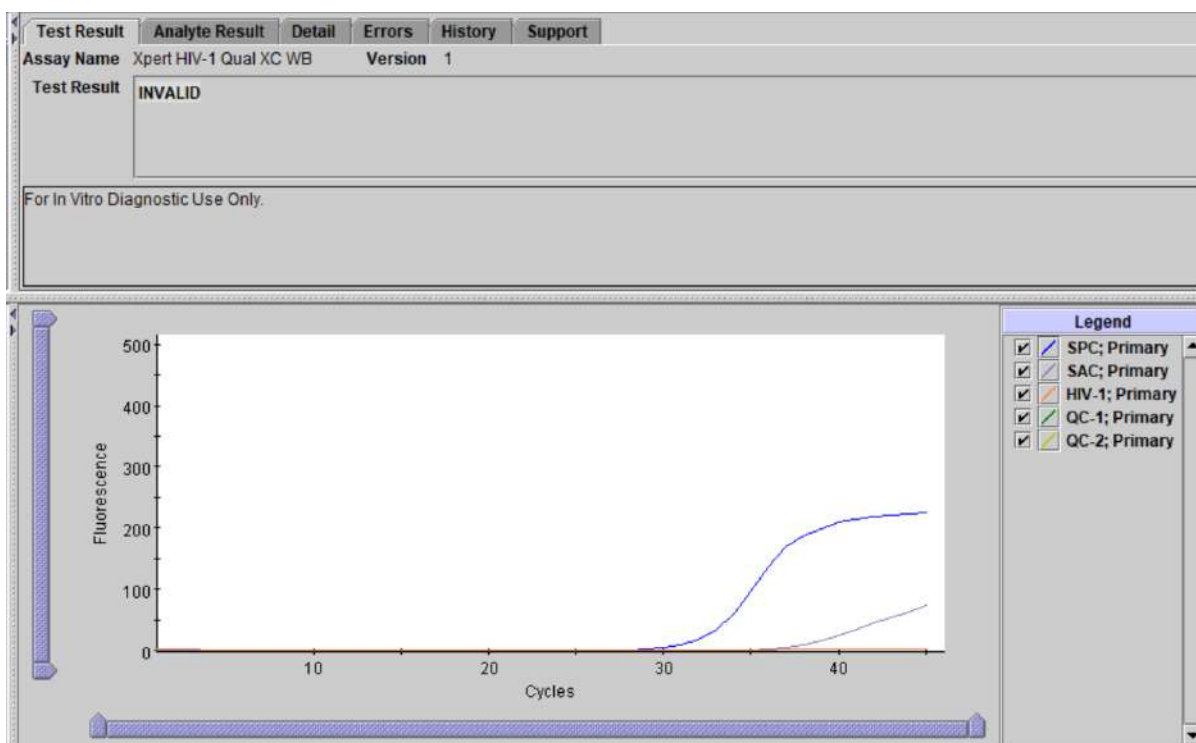


Рис. 12. Недействительный результат (Invalid Result), как отображено на дисплее системы GeneXpert Dx и системы GeneXpert Infinity

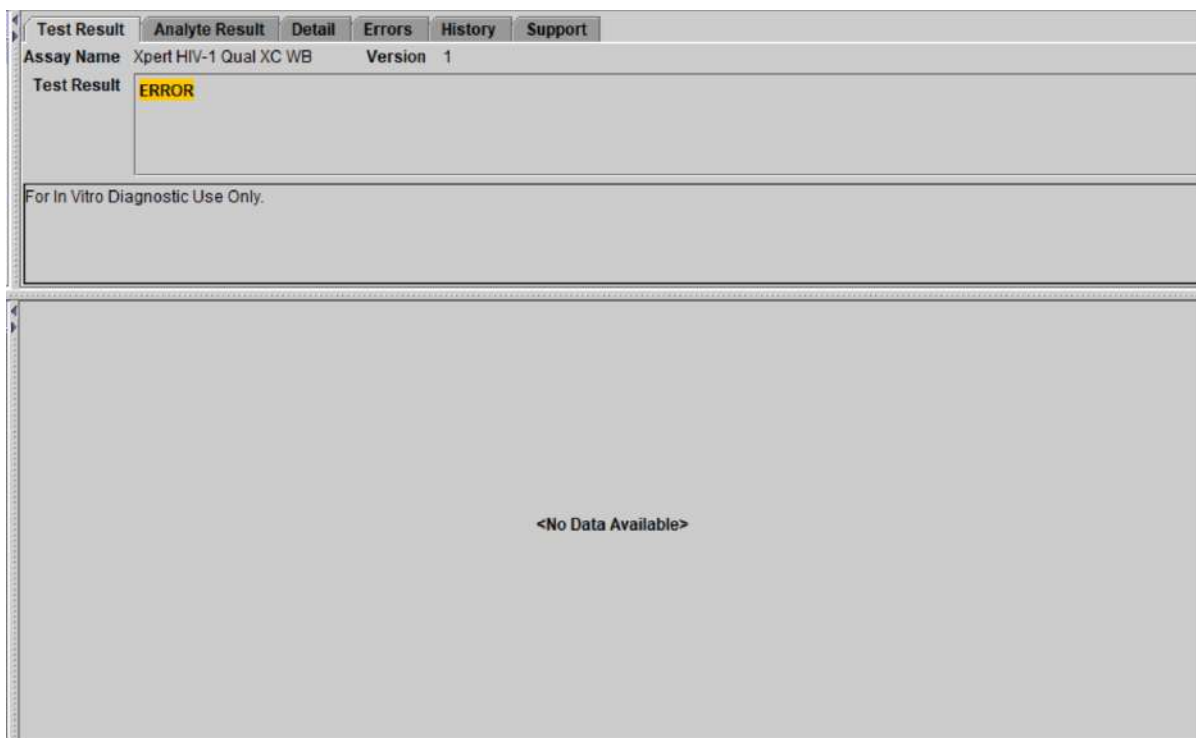


Рис. 13. Ошибка (Error), как отображено на дисплее системы GeneXpert Dx и системы GeneXpert Infinity

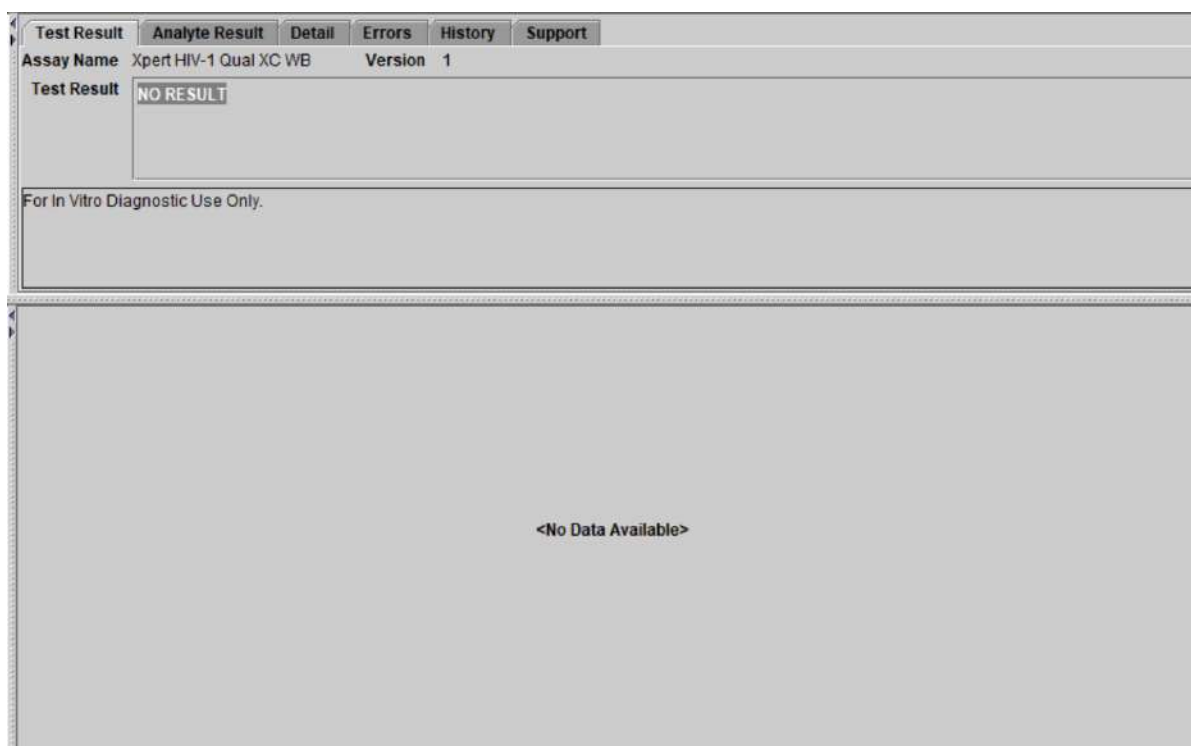


Рис. 14. Нет результата (No Result), как отображено на дисплее системы GeneXpert Dx и системы GeneXpert Infinity

17 Повторный тест

17.1 Причины повторного выполнения теста

При получении любого из следующих результатов анализа повторите анализ в соответствии с указаниями, изложенными в разделе 17.2.

- **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** результат может быть связан с одной или более следующих причин:
 - Не пройден контроль SPC. Процесс обработки образца прошел ненадлежащим образом или ПЦР была ингибирована. Картридж мог храниться дольше срока годности или при повышенных температурах.
 - Не пройден контроль SAC. Добавлен неправильный образец или образец не был добавлен, или для СКК мог быть использован неправильный файл описания теста.
- Результат **ОШИБКА (ERROR)** показывает, что тест был прерван. Возможные причины: неправильное заполнение реакционной пробирки, обнаружена проблема целостности зонда образца или превышен максимальный предел давления.
- Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Например, оператор прервал выполняющийся процесс анализа или произошел перебой в подаче электроэнергии.

17.2 Процедура повторного теста

При получении результата **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)**, **ОШИБКА (ERROR)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** повторите тест соответствующего образца с использованием нового картриджа (не используйте картридж повторно).

1. Извлеките новый картридж из набора.
2. Начать другой тест:
 - Сведения о системе *GeneXpert Dx* или *GeneXpert Infinity* см. в разделе раздела 13.
 - Сведения о системе *GeneXpert Edge* см. в разделе раздела 14.

18 Ограничения

- С целью избежать контаминации образцов и реагентов рекомендуется следовать принципам надлежащей лабораторной практики и менять перчатки перед началом работы с каждым новым образцом.
- Функциональные характеристики теста HIV-1 Qual XC прошли валидацию только с использованием процедур, описанных в данном листке-вкладыше. Внесение изменений в эти процедуры может нарушить функциональные характеристики теста.
- Редкие мутации, делеции или вставки в целевых регионах теста HIV-1 Qual XC могут влиять на связывание праймера и (или) зонда, в результате чего вирус не будет обнаружен.
- Тест HIV-1 Qual XC был валидирован только для использования с капиллярной и венозной цельной кровью и образцами СКК. Исследование образцов других типов при помощи данного теста может привести к получению неточных результатов.
- Тест HIV-1 Qual XC был валидирован только с применением пробирок с К2 ЭДТА. Использование пробирок, отличных от пробирок с К2 ЭДТА, может привести к неточным результатам.
- Для надлежащего выполнения этого теста требуются правильные процедуры взятия, хранения образцов, обращения с ними и транспортировки в место выполнения теста.
- Отрицательные результаты теста HIV-1 Qual XC не исключают наличия инфекции ВИЧ-1. Результаты теста HIV-1 Qual XC следует интерпретировать в совокупности с клиническими признаками и другими лабораторными маркерами.
- Тест HIV-1 Qual XC не предназначен для скрининга на ВИЧ-1 донорских образцов крови, плазмы, сыворотки или тканей.
- Если уровень содержания вируса ниже аналитического порога обнаружения, то возможны ложноотрицательные результаты.
- Оценка влияния субстанций, препятствующих проведению анализа, проведена только для веществ, перечисленных в инструкции по применению. Мешающее влияние субстанций, отличных от описанных, может приводить к ошибочным результатам.
- Обнаружение ВИЧ-1 зависит от количества присутствующих в образце вирусных частиц и может зависеть от методов получения образцов, связанных с пациентом факторов (например, возраста и наличия симптомов) и (или) стадии инфекции.
- Образец, для которого дважды получен результат НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID), может содержать ингибитор; повторное исследование не рекомендуется.
- Цельная кровь, которая свернулась или коагулирована, может привести к ошибкам или неправильным результатам.
- Тест HIV-1 Qual XC не оценивался у пациентов, получавших доконтактную профилактику (ДКП).
- ВИЧ может быть не обнаружен тестом HIV-1 Qual XC у пациентов, получающих антиретровирусную терапию (АРТ).
- Тест HIV-1 Qual XC предназначен для облегчения диагностики инфекции ВИЧ-1 и должен использоваться не отдельно, а в сочетании с клинической картиной и другими лабораторными маркерами.

19 Функциональные характеристики

19.1 Клинические функциональные характеристики

Функциональные характеристики теста Xpert HIV-1 Qual XC оценивали в шести лабораториях или расположенных рядом с пациентами местах выполнения тестов в ЮАР, Лесото, Италии и США. Среди участников исследования были новорожденные (28,1 %; > 28 дней), дети раннего возраста (28,4 %; от 28 дней до 18 месяцев), дети (0,7 %; от > 18 месяцев до 9 лет), подростки (1,3 %; от 10 лет до < 18 лет) и взрослые (41,4 %; ≥ 18 лет) с подозреваемыми клиническими признаками инфекции ВИЧ-1, которые были отнесены к группе высокого риска заражения ВИЧ-1, и (или) для которых клиницист назначил тест на ВИЧ-1. Типы образцов включали архивные или свежесобранные сухие капли крови (СКК), оставшиеся после входящих в стандарт медицинской помощи тестов; проспективно собранные в пробирки с ЭДТА образцы венозной и капиллярной цельной крови (ЦК); а также образцы СКК из проспективно свежесобранных образцов венозной и капиллярной ЦК с ЭДТА (из прокола пальца или пятки).

Функциональные характеристики теста Xpert HIV-1 Qual XC сравнивали с результатами теста на основе амплификации нуклеиновых кислот (NAAT) с маркировкой CE.

Всего с использованием теста Xpert HIV-1 Qual XC и теста сравнения было исследовано 675 образцов СКК, 286 образцов цельной венозной крови и 259 образцов цельной капиллярной крови. Тест Xpert HIV-1 Qual XC продемонстрировал процент совпадений положительных результатов (Positive Percent Agreement, PPA) 97,8 % (95 % ДИ: 93,7–99,2), 100,0 % (95 % ДИ: 74,1–100,0) и 100,0 % (95 % ДИ: 70,1–100,0) для образцов СКК, венозной и капиллярной ЦК соответственно. Тест Xpert HIV-1 Qual XC продемонстрировал процент совпадений отрицательных результатов (Negative percent agreement, NPA) 99,4 % (95 % ДИ: 98,4–99,8), 98,9 % (95 % ДИ: 96,8–99,6) и 99,2 % (97,1–99,8) для образцов СКК, венозной и капиллярной ЦК соответственно. Результаты показаны в Табл. 2.

Табл. 2. Сопоставление теста Xpert HIV-1 Qual XC и теста сравнения на основе амплификации нуклеиновых кислот

Тест Xpert HIV-1 Qual XC по сравнению с тестом сравнения на основе амплификации нуклеиновых кислот	Отриц.	ИП	ЛО	ИО	ЛП	PPA (95 % ДИ)	NPA (95 % ДИ)
СКК	675	133	3 ^a	536	3 ^b	97,8 % (93,7–99,2)	99,4 % (98,4–99,8)
Цельная венозная кровь	286	11	0	272	3 ^c	100,0 % (74,1–100,0)	98,9 % (96,8–99,6)
Цельная капиллярная кровь	259	9	0	248	2 ^d	100,0 % (70,1–100,0)	99,2 % (97,1–99,8)

- ^a 3 из 3 объем недостаточен для проведения повторного анализа методом сравнения на основе амплификации нуклеиновых кислот; 1 из 3 отрицательный результат повторного теста сравнения на основе амплификации нуклеиновых кислот XpertHIV-1 Qual XC.
- ^b 2 из 3 объем недостаточен для проведения повторного анализа методом сравнения на основе амплификации нуклеиновых кислот; 1 из 3 результатов повторного теста сравнения на основе амплификации нуклеиновых кислот отрицательный.
- ^c 3 из 3 отрицательные результаты повторных тестов сравнения на основе амплификации нуклеиновых кислот.
- ^d 2 из 2 отрицательные результаты повторных тестов сравнения на основе амплификации нуклеиновых кислот.

19.2 Специфичность у серонегативных взрослых доноров крови

Всего с применением теста Xpert HIV-1 Qual XC на ВИЧ-1 было исследовано 500 парных образцов СКК и венозной цельной крови у серонегативной популяции взрослых доноров крови. Результаты сравнивали со стандартными скрининговыми тестами на ВИЧ, которые включали тесты на антитела к ВИЧ и антигены, а также тесты на основе амплификации нуклеиновых кислот. Тест Xpert HIV-1 Qual XC дал результаты **ВИЧ-1 НЕ ОБНАРУЖЕН (HIV-1 NOT DETECTED)** во всех 500 образцах СКК и всех 500 парных образцах венозной ЦК. Специфичность для каждого типа образца составила 100,0 % (95 % ДИ: 99,2–100,0).

19.3 Показатель неопределенности

В общей сложности 1242 образца были исследованы с помощью теста Xpert HIV-1 Qual XC (680 образцов СКК, 288 образцов венозной ЦК и 274 образцов капиллярной ЦК), из которых 1183 были действительными при первоначальном исследовании (95,2 %) и 59 (4,8 %) были неопределенными. Из 59 образцов с неопределенными результатами 58 дали действительные результаты при повторном исследовании. Окончательный показатель неопределенности теста Xpert HIV-1 Qual XC составил 0,1 % (1/1242).

20 Аналитические функциональные характеристики

20.1 Порог обнаружения

Порог обнаружения (LoD) теста HIV-1 Qual XC был определен пробит-анализом для группы М подтипа В для обоих типов образцов (цельная кровь и СКК) путем исследования серийных разведений, приготовленных из 4-го международного стандарта ВОЗ для ВИЧ-1 (WHO 4th International Standard for HIV-1, код NIBSC16/194) с использованием ВИЧ-1-отрицательной цельной крови с К2 ЭДТА. Каждая панель серийного разведения состояла

в общей сложности из восьми различных уровней концентрации международного стандарта ВОЗ и одного отрицательного. Каждый уровень концентрации каждой панели серийного разведения тестировался в течение трех дней в общей сложности 24 повторами с использованием одной партии набора теста HIV-1 Qual XC. Для каждой из двух серийных панелей разведения использовались разные партии наборов. Результаты LoD для группы М подтипа В показаны в Табл. 3 и Табл. 4.

Переводной коэффициент в случае 4-го международного стандарта ВОЗ (4th HIV-1 International Standard) для ВИЧ-1 (код NIBSC 16/194) для теста HIV-1 Qual XC равен 1 копия = 2,06 международной единицы (МО).

Табл. 3. Порог обнаружения теста HIV-1 Qual XC с применением 4-го международного стандарта ВОЗ для ВИЧ-1

Группа/ подтип	Номинальная концентрация ВИЧ-1 (копий/мл)	Количество действительных повторов	Количество положительных повторов	Доля положительных результатов (%)	Порог обнаружения, определенный пробит- анализом с 95 % вероятностью (доверительный интервал 95 %)
Группа М/ подтип В (панель 1)	300	24	24	100,0	135,7 копий/мл (110,2–161,1)
	200	24	23	95,8	
	135	24	23	95,8	
	90	24	19	79,2	
	60	24	18	75,0	
	40	24	10	41,7	
	25	24	6	25,0	
	15	24	6	25,0	
Группа М/ подтип В (панель 2)	300	24	24	100,0	161,6 копий/мл (135,0–188,2)
	200	24	22	91,7	
	135	24	22	91,7	
	90	24	17	70,8	
	60	24	14	58,3	
	40	24	6	25,0	
	25	24	2	8,3	
	15	24	2	8,3	

Табл. 4. Порог обнаружения в сухой капле крови для теста HIV-1 Qual XC с применением 4-го международного стандарта ВОЗ для ВИЧ-1

Группа/ подтип	Номинальная концентрация ВИЧ-1 (копий/мл)	Количество действительных повторов	Количество положительных повторов	Доля положительных результатов (%)	Порог обнаружения, определенный пробит- анализом с 95 % вероятностью (доверительный интервал 95 %)
Группа М/ подтип В (панель 1)	1000	24	24	100,0	450,4 копий/мл (354,2–546,6)
	650	24	24	100,0	
	400	24	21	87,5	
	250	24	15	62,5	
	150	24	10	41,7	
	100	24	14	58,3	
	60	24	6	25,0	
	40	24	4	16,7	
Группа М/ подтип В (панель 2)	1000	24	23	95,8	706,4 копий/мл (571,8–841,1)
	650	24	23	95,8	
	400	24	16	66,7	
	250	24	12	50,0	
	150	24	11	45,8	
	100	24	6	25,0	
	60	24	4	16,7	
	40	24	1	4,2	

Порог обнаружения в цельной крови для ВИЧ-1 группы М подтипов А, С, D, F, G, H, J, K, CRF-A/B, CRF-A/E, CRF-A/G, CRF-B/C и CRF-06, группы N, группы О и группы Р был определен путем исследования серийных разведений сохраненных клеточных культур или клинических образцов, представляющих каждую группу и подтип ВИЧ-1, в ВИЧ-1-отрицательной цельной крови с К2 ЭДТА. В общей сложности были исследованы восемь уровней концентрации каждой группы и каждого подтипа ВИЧ-1 с одной партией набора на протяжении трех дней, что дало общее число 24 повтора на уровень концентрации.

Оценку номинальной концентрации сохраненных клеточных культур и клинических образцов выполняли с применением тестов на вирусную нагрузку ВИЧ-1, имеющих маркировку CE.

Концентрация РНК ВИЧ-1, которая может быть обнаружена с долей положительных результатов 95 %, была определена методом регрессионного пробит-анализа. Результаты исследований каждого из подтипов ВИЧ-1 группы М (А, С, D, F, G, H, J, K, CRF-A/B, CRF-A/E, CRF-A/G, CRF-B/C), группы N, группы О и группы Р показаны в Табл. 5.

Табл. 5. Порог обнаружения в цельной крови для теста HIV-1 Qual XC с использованием сохраненных клеточных культур и клинических образцов

Группа	Подтип	LoD по результатам пробит-анализа (копий/мл)	доверительный интервал 95 % (копий/мл)
Группа М	A	98,1	84,4–111,7
	C	70,1	55,4–84,9
	D	69,1	54,4–83,9
	F	96,8	74,2–119,4
	G	90,7	72,5–108,8
	B	150,9	114,6–187,3
	J	124,6	91,7–157,6
	K	151,7	114,3–189,1
	CRF A/B	147,8	115,1–180,6
	CRF A/E	128,2	94,8–161,6
	CRF A/G	108,4	81,1–135,7
	CRF B/C	141,8	133,1–170,5
Группа N	Неприменимо	121,2	93,3–149,1
Группа О	Неприменимо	191,5	150,2–232,9
Группа Р	Неприменимо	101,7	80,6–122,7

20.2 Проверка порога обнаружения

Порог обнаружения для обоих типов образцов (цельная кровь и СКК) был проверен на ВИЧ-1 группы М, подтипы А, В, С, D, F, G, H, J, K, циркулирующих рекомбинантных форм CRF-A/B, CRF-A/E, CRF-A/G, CRF-B/C, ВИЧ-1 группы N, ВИЧ-1 группы и ВИЧ-1 группы Р путем исследования разведений, полученных из не более чем 13 сохраненных культур клеток или клинических образцов, представляющих каждую группу и подтип ВИЧ-1, в ВИЧ-1- отрицательной цельной крови с К2 ЭДТА. Каждый образец сохраненной клеточной культуры или клинический образец исследовали не менее чем в 10 повторях с использованием одной партии набора теста HIV-1 Qual XC.

Оценку номинальной концентрации сохраненной клеточной культуры и клинических образцов выполняли с применением тестов на вирусную нагрузку ВИЧ-1, имеющих маркировку CE.

Порог обнаружения теста HIV-1 Qual XC проверяли при концентрации 200 копий/мл или ниже для цельной крови и 900 копий/мл или ниже для СКК, в зависимости от группы и подтипа ВИЧ-1. Результаты представлены в Табл. 6 и Табл. 7.

Порог обнаружения HIV-1 Qual XC определяли при концентрации до 200 копий/мл для цельной крови и до 900 копий/мл для СКК.

Табл. 6. Проверка LoD в цельной крови

Подтип/ группа ВИЧ-1	Количество сохраненных клеточных культур/ клинических образцов	Количество действительных повторов	Количество реактивных повторов	Концентрация (копий/мл)	Процент положительных	Критерии приемлемости, основанные на CLSI EP17-A2
B	13	140	132	200	94,3	92
C	13	130	121	200	93,1	92
A	4	40	37	200	90,0	88
D	4	40	38	160	95,0	88
F	4	40	36	200	90,0	88
G	4	40	37	160	92,5	88
H	4	40	39	155	97,5	88
J ^a	3	40	39	200	97,5	88
K	4	40	36	152	90,0	88
AB ^a	0	Н/П	Н/П	148	Н/П	85 ^b
AE	4	40	37	200	92,5	88
AG	4	40	38	173	95,0	88
BC	4	40	37	142	92,5	88
Na	1	10	10	200	100,0	85 ^b
O	4	40	40	192	100,0	88
pa	1	10	10	102	100,0	85 ^b

^a LoD проверен с использованием менее 5 образцов. Для рекомбинантных A/B не было дополнительных образцов для проверки.

^b В случае 20 или менее измерений использовался критерий 85 % совпадений.

Табл. 7. Проверка LoD в сухой капле крови

Подтип/ группа ВИЧ-1	Количество сохраненных клеточных культур/ клинических образцов	Количество действительных повторов	Количество реактивных повторов	Концентрация (копий/мл)	Процент положительных	Критерии приемлемости, основанные на CLSI EP17-A2
B	13	140	139	900	99,3	92
C	14	140	131	900	93,6	92
A	5	50	45	900	90,0	88
D	5	50	46	900	92,0	88
F	5	50	45	900	90,0	88
G	5	50	46	699	92,0	88
H	5	50	49	678	98,0	88
Ja ^a	3	40	39	900	97,5	88
K	5	50	48	900	96,0	88
AB ^a	1	10	9	646	90,0	85 ^b
AE	5	50	45	560	90,0	88
AG	5	50	45	758	90,0	88
BC	5	50	45	621	90,0	88
Na	2	20	17	900	85,0	85 ^b
O	5	50	49	837	98,0	88
pa	1	20	19	445	95,0	85 ^b

^a LoD проверен с использованием менее 5 образцов.

^b В случае 20 или менее измерений использовался критерий 85 % совпадений.

20.3 Аналитическая реактивность (инклюзивность)

Помимо проверки порога обнаружения (LoD), способность теста HIV-1 Qual XC обнаруживать группы и подтипы ВИЧ-1 была продемонстрирована исследованием дополнительных сохраненных уникальных клеточных культур и клинических образцов, представляющих ВИЧ-1 группы M, подтипы A, D, F, G, H, K, циркулирующие рекомбинантные формы (CRF), CRF-A/E, CRF-A/G, CRF-B/C, CRF-06 и ВИЧ-1 группы O.

Каждый образец сохраненной клеточной культуры и клинический образец разбавляли до концентрации 600 копий/мл (3xLoD) в цельной крови с K2 ЭДТА и один повтор исследовали с использованием одной партии набора теста HIV-1 Qual XC. Результаты показаны в Табл. 8.

Табл. 8. Аналитическая реактивность (инклюзивность)

Подтип/группа	Количество сохраненных клеточных культур/ клинических образцов	Количество действительных повторов	Количество реагирующих повторов
A	5	5	5
D	5	5	5
F	5	5	5
G	5	5	5
H	5	5	5
K	3	3	3
CRF-A/E	5	5	5
CRF-A/G	5	5	5
CFR-B/C	1	1	1
CRF-06	1	1	1
O	5	5	5

20.4 Диапазон измерения

Диапазон измерения теста HIV-1 Qual XC определяли с помощью анализа пятикомпонентной панели для образцов цельной крови обоих типов (цельной крови и ССК) в диапазоне от 600 до 1×10^7 копий/мл и от 2700 до 1×10^7 копий/мл соответственно.

Две пятикомпонентные панели (цельная кровь и ССК) готовили путем параллельных разведений референсного материала ВИЧ-1 (ВИЧ-1 подтипа В) в ВИЧ-1-отрицательной цельной крови с К2 ЭДТА. Используемый референсный материал был откалиброван по 4-му международному стандарту ВОЗ для ВИЧ-1 (WHO 4th International standard for HIV-1, код NIBSC: 16/194). Каждая из двух пятикомпонентных панелей (цельная кровь и ССК) была исследована с использованием одной партии набора теста HIV-1 Qual XC с 6 повторами на каждый элемент панели.

Результаты анализа цельной крови и панели ССК представлены в Рис. 15 и Рис. 16. Тест HIV-1 Qual XC линейен в диапазоне от 600 копий/мл до 1×10^7 копий/мл с R^2 0,998 для ЦК и в диапазоне от 2700 копий/мл до 1×10^7 копий/мл с R^2 0,967 для ССК.

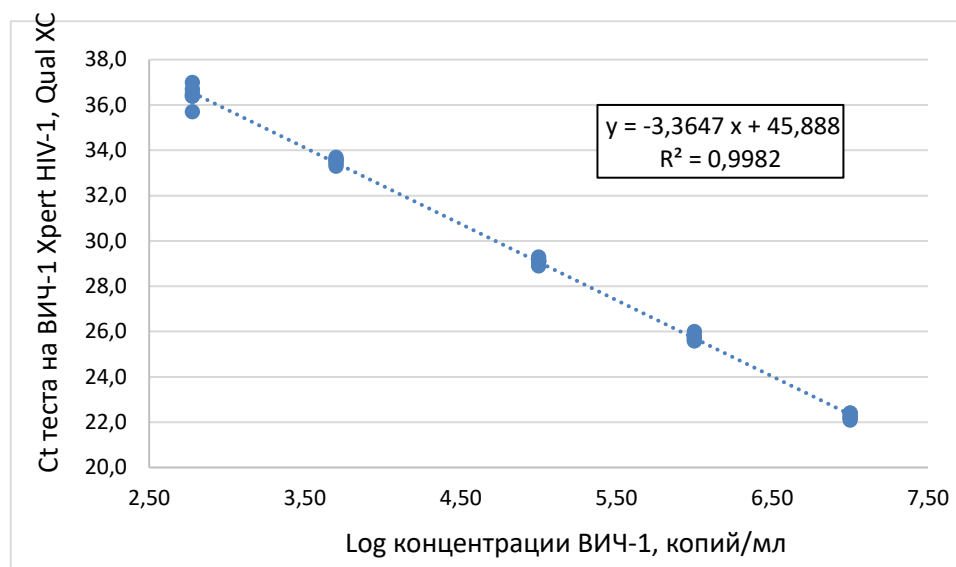


Рис. 15. Линейность теста HIV-1 Qual XC в цельной крови

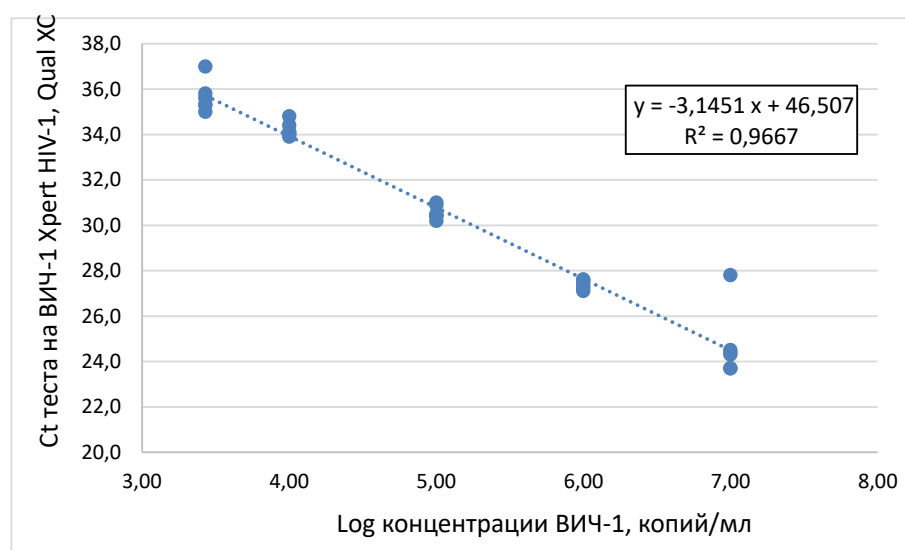


Рис. 16. Линейность теста HIV-1 Qual XC в сухой капле крови

20.5 Аналитическая специфичность (эксклюзивность)

Аналитическую специфичность теста HIV-1 Qual XC оценивали добавлением микроорганизмов, способных дать перекрестные реакции или препятствующих проведению теста, в концентрации 1×10^6 КОЕ/мл для микроорганизмов или 1×10^5 копий/мл или TCID₅₀ для вирусов в ВИЧ-1-отрицательную цельную кровь с К2 ЭДТА и цельную кровь с К2 ЭДТА, содержащую референсный материал ВИЧ-1 в концентрации 600 копий/мл (3xLoD). Использованный референсный материал ВИЧ-1 был откалиброван по 4-му международному стандарту ВОЗ для ВИЧ-1 (WHO 4th International standard for HIV-1, код NIBSC: 16/194). Исследованные организмы перечислены в Табл. 9. Ни один из исследованных организмов не дал перекрестной реакции и не препятствовал обнаружению ВИЧ-1.

Табл. 9. Аналитическая специфичность, микроорганизмы

Вирус	Бактерии	Грибы и дрожжи	Паразиты
Вирус лихорадки чикунгунья	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Candida Albicans</i>	Leishmania Major
Цитомегаловирус	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida glabrata</i>	Plasmodium falciparum
Вирус Эпштейна-Барр	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida tropicalis</i>	Trypanosoma brucei
Вирус гепатита А	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Pneumocystis jirovecii	Trypanosoma cruzi
Вирус гепатита В	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>		
вирус гепатита С			
Вирус простого герпеса, тип 1			
Вирус простого герпеса, тип 2			
Вирус герпеса человека, тип 6			
Вирус иммунодефицита человека 2			
Вирус папилломы человека			
Т-лимфотропный вирус человека, тип 1			
Т-лимфотропный вирус человека, тип 2			
Вирус гриппа, тип А			

20.6 Субстанции, вероятно препятствующие проведению анализа

Была проведена оценка подверженности теста HIV-1 Qual XC влиянию препятствующих факторов эндогенных веществ в повышающихся концентрациях, назначаемых ВИЧ-1-инфицированным пациентам или пациентам с сопутствующими инфекциями или сопутствующими заболеваниями лекарственных препаратов, а также маркеров аутоиммунных заболеваний. Ингибиторные эффекты оценивали с применением референсного материала ВИЧ-1 в концентрации приблизительно 3xLoD, а также без его применения. Использованный референсный материал ВИЧ-1 был откалиброван по 4-му международному стандарту ВОЗ для ВИЧ-1 (WHO 4th International standard for HIV-1, код NIBSC: 16/194).

Повышенные уровни эндогенных веществ, указанных в Табл. 10, не препятствовали количественному определению ВИЧ-1 и не влияли на специфичность теста HIV-1 Qual XC, выполняемого при наличии ВИЧ-1 и в его отсутствие.

Табл. 10. Эндогенные субстанции и применявшиеся в анализе концентрации

Субстанция	Концентрация, применявшаяся в анализе
Альбумин	9,6 г/дл
Билирубин	62 мг/дл
Гемоглобин	20 г/л
ДНК человека	0,4 мг/дл

Субстанция	Концентрация, применявшаяся в анализе
Триглицериды	3200 мг/дл
Лейкоциты	1,70E+09 клеток/дл

Установлено, что перечисленные в Табл. 11 компоненты лекарственных препаратов не влияли на определение ВИЧ-1 или специфичность теста HIV-1 Qual XC, выполненного при утроенном пиковом уровне концентрации (C_{max}) при наличии ВИЧ-1 и в его отсутствие.

Табл. 11. Пулы препаратов, применявшиеся в анализе

Пул	Лекарственные препараты
1	атазанавир, абакавира сульфат, биктегравир, цидофовир
2	дарунавир, долутегравир, доравирин, эфавиренз
3	эмтрицитабин, ламивудин, ЗТС, лопинавир, маравирик
4	невирапин, ралтегравир, тенофовира дизопроксила фумарат, зидовудин
5	даклатасвир, дасабувир, АВТ-333, grazoprevir, пибрентасвир, софосбувир
6	омбитасвир, паритапревир, рибавирин, симпревир, велпатасвир
7	интерферон альфа-2b, пэгинтерферон 2a, адефовира дипивоксил, энтекавир, телбивудин
8	ацикловир, фоскарнет, ганцикловир, валганцикловира гидрохлорид
9	азитромицин, ципрофлоксацин, кларитромицин
10	ацетаминофен, ацетилсалициловая кислота, аторвастатин, лоратидин
11	надолол, аскорбиновая кислота, фенилэфрин, ибупрофен
12	артемизинин, дезэтиламодиолин, мефлохин, хинин
13	Примахин, хлорохин, доксоциклин
14	Рифампин, изониазид, этамбутол, пиразинамид
15	моксифлоксацин, левофлоксацин, амикацин, бедаквилин ^a
16	триметоприм/сульфаметоксазол, гентамицин, метронидазол, цефтриаксон

^a исследован отдельно

Исследование образцов цельной крови, положительных в отношении каждого из маркеров аутоиммунных нарушений — системной красной волчанки (СКВ), противолечарственные антитела (ПЛА) или ревматоидный фактор (РФ) — выявило, что они не препятствуют обнаружению ВИЧ-1 в тесте HIV-1 Qual XC или не влияют на специфичность теста при наличии или отсутствии ВИЧ-1.

20.7 Чувствительность к сероконверсии

Для оценки чувствительности теста HIV-1 Qual XC исследовали последовательные образцы плазмы из двенадцати панелей сероконверсии. Тест HIV-1 Qual XC выявил РНК ВИЧ-1 в 44 из 61 образца по сравнению с 11 из 61, которые были обнаружены по крайней мере одним тестом на антитела к ВИЧ-1 (Abbott HIV 1/2 EIA, Abbott PRISM HIV-1/2, Abbott Murex HIV 1.2.O HIV, Bio-Rad GS HIV-1/HIV-2 Plus O EIA, Siemens HIV 1/O/2 Enhanced ADVIA Centaur). Ранее положительные результаты на ВИЧ-1 при использовании теста Xpert HIV-1 Qual XC были получены на компонентах всех двенадцати панелей по сравнению со скрининговым исследованием на антитела против ВИЧ-1. Чувствительность к сероконверсии представлена в Табл. 12.

Табл. 12. Чувствительность к сероконверсии

Номер панели	Количество компонентов панели	Продолжительность в днях	Число реагирующих компонентов панели			Число дней до получения первого положительного результата			Число дней между первым положительным результатом в тесте HIV-1 Qual XC и любом тесте на антитела
			HIV-1 Qual XC	Тест на антитела ^a	Тест на антиген p24 ^b	HIV-1 Qual XC	Тест на антитела ^a	Тест на антиген p24 ^b	
PRB945	6	20	4	3	4	7	13	7	6
PRB950	4	28	3	1	3	18	28	18	10
PRB955	5	14	5	2	4	0 ^c	12	3	12
PRB956	5	50	4	1	2	40	50	47	10
PRB962	6	17	4	0	2	7	17 ^d	14	>10
PRB963	7	21	3	0	2	14	21 ^d	17	>7
PRB973	4	11	4	1	2	0 ^c	11	7	11
PRB974	4	16	3	1	2	7	16	9	9
PRB975	5	14	3	0	1	7	14 ^d	14	>7
PRB976	4	9	4	0	2	0 ^c	9 ^d	7	>9
PRB977	4	15	4	2	2	0 ^c	13	13	13
PRB978	7	33	3	0	1	26	33 ^d	33	>7

^a Тест на антитела по данным поставщика: Abbott HIV 1/2 EIA, Abbott PRISM HIV-1/2, Abbott Murex HIV 1.2.O HIV, Bio-Rad GS HIV-1/HIV-2 Plus O EIA, Siemens HIV 1/O/2 Enhanced ADVIA Centaur

^b Тест на антиген p24 по данным поставщика: Coulter HIV-1 p24 Antigen, Perkin Elmer Alliance HIV-1 p24 ELISA

^c Обнаружение во всех образцах выполнено в тесте HIV-1 Qual XC.

^d Все образцы не давали реакции в тестах на антитела к ВИЧ (по информации поставщика). Для определения «дня до первого положительного результата» использован день последнего образца.

20.8 Частота отказа всей системы

Частоту отказа всей системы теста HIV-1 Qual XC определяли путем исследования 10 уникальных образцов цельной крови с К2 ЭДТА, в которые был внесен образец ВИЧ-1 подтипа В, калиброванный по 4му Международному стандарту ВИЧ-1 (код NIBSC 16/194). Добавление в каждый из 10 образцов цельной крови с К2 ЭДТА было выполнено до целевой концентрации 600 копий/мл (3xLoD), и они были исследованы в 2 повторях одним пользователем на протяжении пяти дней подряд (всего 20 повторов в день) с применением одной партии набора теста HIV-1 Qual XC.

Результаты этого исследования показали, что все 100 повторов были действительными с положительным результатом в отношении ВИЧ-1, а частота отказа всей системы составила 0 %.

20.9 Контаминация продуктами предыдущей реакции

Исследование ВИЧ-1-положительного образца с высоким титром ($>1 \times 10^7$ копий/мл) выполняли сразу после исследования ВИЧ-1-отрицательного образца в том же модуле прибора GeneXpert. Процедуру повторяли двадцать (20) раз в двух различных модулях с образцами как цельной крови, так и сухой капли крови. Частота контаминации продуктами предыдущей реакции в тесте HIV-1 Qual XC составила 0 %.

21 Воспроизводимость и прецизионность

Воспроизводимость и прецизионность теста Xpert HIV-1 Qual XC определяли с образцами СКК и ЦК с использованием 15 элементов панели. Тесты были выполнены в 3 исследовательских центрах. Положительные компоненты панели получали с использованием материала ВИЧ-1, добавленного в ВИЧ-1-отрицательную цельную кровь с К2-ЭДТА до целевых концентраций ~1xLoD, ~3xLoD и ~5-7xLoD. Отрицательные компоненты панели получали из ВИЧ-1-отрицательной цельной крови с К2-ЭДТА. Каждый элемент панели исследовали в двух повторах два раза в день двумя операторами в течение 6 дней. Были использованы шесть различных партий наборов.

Данные анализировали путем расчета качественного процентного совпадения для каждого компонента панели. Результаты компонентов панели СКК показаны в Табл. 13, а результаты компонентов панели ЦК показаны в Табл. 14. Проверка возможности объединения не выявила существенных различий в результатах в разных исследовательских центрах или партиях наборов. Процент совпадения и отсутствие статистически значимых различий демонстрируют приемлемые параметры воспроизводимости и прецизионности.

Табл. 13. Процент совпадения качественных результатов для обнаружения ВИЧ-1 — компоненты панели СКК

Компонент панели	Центр 1			Центр 2			Центр 3			Общее совпадение по компонентам панели (n/N) и 95 % ДИ
	Оп. 1	Оп. 2	Центр	Оп. 1	Оп. 2	Центр	Оп. 1	Оп. 2	Центр	
Умеренно положительный образец СКК ~5-7xLoD 1	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (144/144) 97,4–100,0
Умеренно положительный образец СКК ~5-7xLoD 2	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (144/144) 97,4–100,0
Слабоположительный образец СКК ~3xLoD 1	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (144/144) 97,4–100,0
Слабоположительный образец СКК ~3xLoD 2	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (144/144) 97,4–100,0
Отрицательный образец СКК 1	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (144/144) 97,4–100,0
Слабоположительный образец СКК ~1xLoD 1	100,0 % (24/24)	95,8 % (23/24)	97,9 % (47/48)	83,3 % (20/24)	91,7 % (22/24)	87,5 % (42/48)	95,8 % (23/24)	91,7 % (22/24)	93,8 % (45/48)	93,1% (134/144) 87,7–96,2
Отрицательный образец СКК 2	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	95,8 % (23/24)	100,0 % (24/24)	97,9 % (47/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	99,3 % (143/144) 96,2–99,9

Табл. 14. Процент совпадения качественных результатов для обнаружения ВИЧ-1 — компоненты панели ЦК

Компонент панели	Центр 1			Центр 2			Центр 3			Общее совпадение по компонентам панели (n/N) и 95 % ДИ
	Оп. 1	Оп. 2	Центр	Оп. 1	Оп. 2	Центр	Оп. 1	Оп. 2	Центр	
Умеренно положительный образец ЦК ~5-7xLoD 1	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (144/144) 97,4–100,0
Умеренно положительный образец ЦК ~5-7xLoD 2	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (23/23)	100,0 % (47/47)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (143/143) 97,4–100,0
Слабоположительный образец ЦК ~3xLoD 1	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (144/144) 97,4–100,0

Компонент панели	Центр 1			Центр 2			Центр 3			Общее совпадение по компонентам панели (п/Н) и 95 % ДИ
	Оп. 1	Оп. 2	Центр	Оп. 1	Оп. 2	Центр	Оп. 1	Оп. 2	Центр	
Отрицательный образец ЦК 1	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (144/144) 97,4–100,0
Слабоположительный образец ЦК ~3xLoD	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	96,0 % (23/24)	98,0 % (47/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	99,3 % (143/144) 96,2–99,9
Отрицательный образец ЦК 2	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (144/144) 97,4–100,0
Слабоположительный образец ЦК ~1xLoD 3	100,0 % (24/24)	95,8 % (23/24)	97,9 % (47/48)	91,7 % (22/24)	83,3 % (20/24)	87,5 % (42/48)	100,0 % (24/24)	95,8 % (23/24)	97,9 % (47/48)	94,4 % (136/144) 89,4–97,2
Отрицательный образец ЦК 3	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (24/24)	100,0 % (24/24)	100,0 % (48/48)	100,0 % (144/144) 97,4–100,0

22 Литература

- Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Science 1983;220:868–871.
- Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, et al. Detection, isolation and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-I) from patients with AIDS and pre-AIDS. Science 1984;224:497–500.
- Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-1 from patients with AIDS and at risk for AIDS. Science 1984;224:500–503.
- Curran JW, Jaffe HW, Hardy AM, et al. Epidemiology of HIV infection and AIDS in the United States. Science 1988;239:610–616.
- Schochetman G, George JR, editors. AIDS testing: a comprehensive guide to technical, medical, social, legal, and management issues. 2nd ed. New York: NY Springer-Verlag; 1994.
- Nduati R, John G, Mbori-Ngacha D, et al. Effect of breastfeeding and formula feeding on transmission of HIV-1: randomized clinical trial. Journal of the American Medical Association 2000;283:1167–1174.
- Данные Совместной программы Организации Объединенных Наций по ВИЧ/СПИДу (UNAIDS) за 2020 г. (https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2020_aids-data-book_en.pdf)
- Luzuriaga K, Mofenson LM. Challenges in the elimination of pediatric HIV-1 infection. New England Journal of Medicine. 2016 Feb 25;374(8):761–70.
- Read JS. Committee on Pediatric AIDS, American Academy of Pediatrics. Diagnosis of HIV-1 infection in children younger than 18 months in the United States. Pediatrics 2007;120:e1547–1562.
- Aids.gov. Aids Signs and Symptoms. По состоянию на май 2015. <https://www.aids.gov/hiv-aids-basics/hiv-aids-101/signs-and-symptoms/>.
- O'Brien M, et al. Should we treat acute HIV infection? Curr HIV/AIDS Rep. 2012 Jun;9(2):101–10.
- Daar ES, Moudgil T, Meyer RD, Ho DD. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. New England Journal of Medicine 1991;324:961–964.
- Clark SJ, Saag MS, Decker WD. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. New England Journal of Medicine 1991;324:954–960.
- WHO International Standard; 4th HIV-1 International Standard (NIBSC code: 16/194). National Institute for Biological Standards and Control; 2017.
- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Документ M29 (см. последнюю редакцию).
- World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. По состоянию на 20 апреля 2018 г.: http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/
- REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2006).
- Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

23 Расположение штаб-квартиры корпорации Cepheid

Головной офис

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Европейский офис

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

24 Техническая поддержка

Прежде чем обращаться к нам

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

Франция

Телефон: + 33 563 825 319 Электронный адрес: support@cepheideurope.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Cepheid доступна на нашем веб-сайте: www.cepheid.com/en/support/contact-us

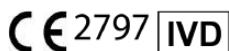
25 Условные обозначения

Символ	Значение
	Номер по каталогу
	<i>in vitro</i>
	Маркировка CE – Европейское соответствие
	Не использовать повторно
	Код партии

Символ	Значение
	См. инструкцию по применению
	Производитель
	Страна производства
	Содержит достаточное количество для <i>n</i> тестов
CONTROL	Контроль
	Срок годности
	Температурные ограничения
	Биологические риски
	Предупреждение
	Предупреждение
	Опасность для здоровья



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden



26 История изменений

Описание изменений: 302-3767, ред. А – ред. В

Цель: для стабильности образца

Раздел	Описание изменения
Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве	Удалено «Все права защищены» в соответствии с законом.
5	Добавлен недостающий пробел. Добавлен абзац о 4-м Международном стандарте Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) .
9, 10, 11.2, 11.2.1	Исправлены знаки препинания, опечатки и пропущенные пробелы.
12.2	Обновлен рисунок картриджа.
15	Изменен «объем» на «образец» в первом предложении.

Раздел	Описание изменения
20.1	Добавлено «Переводной коэффициент в случае 4-го международного стандарта ВОЗ (4 th HIV-1 International Standard) для ВИЧ-1 (код NIBSC 16/194) для теста HIV-1 Qual XC равен 1 копия = 2,06 международной единицы (МО)».
22	Добавлена ссылка «14. Международный стандарт ВОЗ».
24	Исправлен номер телефона.

Xpert[®] HIV-1 Viral Load XC

REF GXHIV-VL-XC-CE-10

CE 2797 IVD



Медицинское устройство для диагностики
in vitro

302-4124-RU, Rev. B Апрель 2021

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert®, and Xpert® are trademarks of Cepheid.

Windows® is a trademark of Microsoft Corporation.

Armored RNA® is a registered trademark of Asuragen, Inc.

BD Vacutainer® PPT™ is a trademark of Becton, Dickinson and Company.

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

© 2020–2021 Cepheid. All rights reserved.

Cepheid®, логотип Cepheid, GeneXpert® и Xpert® являются товарными знаками компании Cepheid.

Windows® является товарным знаком корпорации Microsoft Corporation.

Armored RNA® является зарегистрированным товарным знаком компании Asuragen, Inc.

BD Vacutainer® PPT™ является товарным знаком компании Becton, Dickinson and Company.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩЕЙ ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

© 2020–2021 Cepheid. Все права защищены.

Xpert® HIV-1 Viral Load XC

Только для диагностического применения in vitro.

1 Фирменное название

Xpert® HIV-1 Viral Load XC

2 Общепринятое или распространенное наименование

HIV-1 VL XC

3 Назначение

Xpert® HIV-1 Viral Load XC (Extended Coverage) является выполняемой *in vitro* полимеразной цепной реакцией с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) для количественного определения РНК вируса иммунодефицита человека типа 1 (ВИЧ-1) в плазме человека с ЭДТА с применением автоматизированной системы GeneXpert®.

Этот тест предназначен для применения в качестве вспомогательного средства при клиническом ведении ВИЧ-1-инфицированных пациентов.

Тест Xpert® HIV-1 Viral Load XC предназначен для применения в совокупности с клинической картиной и прочими лабораторными маркерами прогнозирования заболевания, а также для содействия при оценке вирусологического ответа на антиретровирусную терапию посредством определения изменений уровней РНК ВИЧ-1 в плазме ВИЧ-1-инфицированных лиц.

Тест Xpert® HIV-1 Viral Load XC предназначен для применения обученными профессионалами или обученными медицинскими работниками в лабораторных условиях.

Тест Xpert® HIV-1 Viral Load XC не предназначен для скрининга доноров крови на инфицирование ВИЧ-1.

4 Краткие сведения и разъяснения

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) вызывает синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД). Передача ВИЧ возможна при половом контакте, контакте с инфицированной кровью, биологическими жидкостями или препаратами крови, в результате инфицирования плода во внутриутробном периоде, а также инфицирования новорожденного во время родов или в постнатальном периоде.

Для нелеченной ВИЧ-1 инфекции характерны высокая интенсивность образования вирусов и разрушения CD4 Т-лимфоцитов, несмотря на зачастую длительный латентный период без клинических проявлений, вплоть до выраженного снижения количества CD4 Т-лимфоцитов и развития СПИДа.

Диагностика ВИЧ сохраняет значение для организации лечения и помощи ВИЧ-инфицированным пациентам. Измерение в плазме крови вирусной нагрузки РНК ВИЧ-1 при помощи методов молекулярной диагностики, основанных на определении нуклеиновых кислот, входит в стандарт оказания помощи для оценки прогноза у ВИЧ-инфицированных пациентов и их ответа на антиретровирусную терапию. Уровень вирусной нагрузки является важным параметром для прогнозирования скорости прогрессирования заболевания и, отдельно либо в сочетании с определением количества CD4 Т-лимфоцитов, имеет высокую прогностическую ценность^{1,2}.

В тесте HIV-1 VL XC используется метод полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), что позволяет получить высокую чувствительность количественного определения РНК ВИЧ-1 в плазме человека, полученной у ВИЧ-1-инфицированных лиц.

5 Принципы проведения процедуры

В приборах системы GeneXpert объединены и автоматически выполняются следующие процессы: подготовка проб, экстракция и амплификация нуклеиновых кислот и выявление целевой последовательности в простых или сложных образцах с использованием ОТ-ПЦР в реальном времени. Система состоит из прибора, персонального компьютера и предустановленного программного обеспечения для выполнения тестов и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи GeneXpert, которые содержат реактивы для ОТ-ПЦР и в которых происходят экстракция нуклеиновых кислот из образца и процессы ОТ-ПЦР. Поскольку картриджи представляют собой замкнутые системы, вероятность перекрестной контаминации между образцами сводится к минимуму. Полное описание систем представлено в соответствующем *руководстве оператора GeneXpert Dx* или *руководстве оператора GeneXpert Infinity*.

Тест HIV-1 VL XC содержит реактивы для обнаружения РНК ВИЧ-1 в образцах и два внутренних контроля для количественной оценки РНК ВИЧ-1. Внутренние контроли также предназначены для выявления ингибиторов в среде, где происходят реакции ОТ и ПЦР. Амплификация и обнаружение РНК ВИЧ-1 выполняются с применением праймеров и зондов, нацеленных на высококонсервативную область RTL и ген полимеразы (двойная целевая последовательность) геному ВИЧ-1. Контроль зондов (Probe Check Control, PCC) предназначен для проверки правильности регидратации реактивов, заполнения пробирки для проведения ПЦР в картридже, целостности зондов и стабильности красителя.

Тест HIV-1 VL XC стандартизован по 4-му международному стандарту для ВИЧ-1 Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) (код NIBSC: 16/194)³.

6 Комплект поставки

Набор теста HIV-1 VL XC содержит реактивы в количестве, достаточном для анализа 10 образцов. В набор входят:

Картриджи теста HIV-1 VL XC со встроенными реакционными пробирками	10
Гранулы 1, 2 и 3 (лиофилизированные)	1 каждого из типов в одном картридже
Реактив для лизирования (гуанидина тиоцианат)	2,0 мл в одном картридже
Ополаскивающий реактив	0,5 мл в одном картридже
Реактив для вымывания	1,5 мл в одном картридже
Реактив связывания	2,4 мл в одном картридже
Протеиназа K	0,48 мл в одном картридже
Одноразовые пипетки для переноса, 1 мл	10 в каждом наборе
Компакт-диск	1 в каждом наборе
Файл с описанием теста (ADF)	
Инструкции по импорту файла ADF в программное обеспечение GeneXpert	
Инструкция по применению (вкладыш-инструкция)	

Прим. Паспорта безопасности (Safety Data Sheets, SDS) можно найти на www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com на вкладке **SUPPORT (ПОДДЕРЖКА)**.

Прим. Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма бычьей крови животных, выращенных в США. В пищу быков не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время производства не происходило смешивания сырья с другими материалами животного происхождения.

7 Хранение и обращение

- Храните картриджи теста HIV-1 VL XC при температуре 2–28 °C.
- Если картриджи теста HIV-1 VL XC хранятся на холоде, доведите их до температуры 15–30 °C перед применением.
- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение анализа.
- Используйте картридж в течение 4 часов после открывания крышки и добавления образца.
- Не используйте картриджи с вытекшими реактивами.
- Не используйте ранее замороженные картриджи.
- Не используйте картриджи после даты истечения срока годности.

8 Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- Система GeneXpert Dx или GeneXpert Infinity (каталожный номер зависит от конфигурации): прибор GeneXpert, компьютер с патентованным программным обеспечением GeneXpert версии 4.7b или выше (система GeneXpert Dx), Xpertise™ 6.4b или выше (система Infinity), сканер штрих-кодов и соответствующее руководство оператора системы GeneXpert
- Принтер: если необходим принтер, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.
- Отбеливатель или гипохлорит натрия
- Этиловый спирт или денатурированный этиловый спирт

9 Предупреждения и меры предосторожности

- Только для диагностического применения *in vitro*.
- При работе со всеми биологическими пробами, в том числе и с использованными картриджами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими пробами требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Методические рекомендации по обращению с образцами предоставляются агентством «Центры по контролю и профилактике заболеваний США» (U.S. Centers for Disease Control and Prevention) и Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute)^{4,5}.
- Следуйте принятым в учреждении процедурам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.
- Принимайте достаточные меры безопасности в случае пролива, который может произойти при использовании хлорной извести. В таких случаях следует применять достаточные средства промывки глаз или кожи.
- Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, и при обращении с ними необходимо соблюдать стандартные меры предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реактивов следуйте принятым в вашем учреждении правилам защиты окружающей среды при обращении с отходами. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе правила не дают ясных указаний по правильному удалению в отходы, биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их удаления⁶.
- Не заменяйте реактивы теста HIV-1 VL XC другими реактивами.
- Не используйте картридж, если он упал после извлечения из упаковки.
- Не встряхивайте картридж. Встряхивание или падение картриджа после вскрытия его крышки может привести к получению недействительных результатов.
- Не размещайте этикетку с идентификационным номером образца на крышке картриджа или на этикетке со штрих-кодом.
- Каждый одноразовый картридж используется для выполнения только одного теста HIV-1 VL XC. Не используйте уже применявшиеся картриджи повторно.
- Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.

- Каждая одноразовая пипетка используется для переноса одного образца. Не используйте одноразовые пипетки повторно.
- В случае использования точной пипетки: Каждая одноразовая пипетка используется для переноса одного образца. Не используйте наконечники пипеток повторно.
- Пользуйтесь чистым лабораторным халатом и перчатками. Перчатки подлежат замене перед обработкой каждой следующей пробы.
- В случае загрязнения рабочей зоны или оборудования образцами тщательно протрите контаминированный участок свежеприготовленным 0,5 % раствором гипохлорита натрия (или разбавленным в соотношении 1:10 хлорсодержащим хозяйственным отбеливателем). Затем протрите поверхность 70 % этиловым спиртом. Перед продолжением работы дайте рабочим поверхностям полностью высохнуть.
- Полное описание методов очистки и дезинфекции системы представлено в соответствующем *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* и/или в *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*.

10 Опасные химические факторы^{7,8}

Сигнальное слово: ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ

Заявления об опасности СГС ООН

- Вредно при проглатывании.
- Вызывает слабое раздражение кожи.
- Вызывает раздражение глаз.

Меры предосторожности СГС ООН

Профилактика

- После использования тщательно вымыть.

Реагирование

- При плохом самочувствии обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту/терапевту.
- При раздражении кожи: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.
- ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь, и если это легко сделать. Продолжить промывание.
- Если раздражение глаз не проходит: Обратиться за медицинской консультацией/помощью.

11 Сбор, транспортировка и хранение образцов

Цельную кровь следует собирать в пробирки для отделения плазмы для анализа методами молекулярной диагностики BD Vacutainer® PPT™ или в стерильные пробирки для сбора с антикоагулянтом K2 ЭДТА. Цельную кровь следует отцентрифугировать для отделения плазмы от эритроцитов, следуя инструкциям изготовителя.

- Для теста HIV-1 VL XC требуется не менее 1 мл плазмы. В случае использования пипетки для переноса, входящей в набор, заполните эту пипетку плазмой до уровня непосредственно ниже расширения, чтобы перенести необходимый объем. Либо, при использовании прецизионной пипетки, требуется не менее 1 мл плазмы. См. раздел 12.2 «Подготовка картриджа», этап 6.
- Перед отделением плазмы цельную кровь, собранную в пробирки для отделения плазмы для анализа методами молекулярной диагностики BD Vacutainer PPT или в стерильные пробирки для сбора с антикоагулянтом K2 ЭДТА, можно хранить до 24 часов при температуре 2–30 °C.
- Из первичной пробирки для сбора образцов после центрифугирования плазму следует удалять для хранения. Плазму, отделенную от цельной крови, следует до исследования хранить во вторичных пробирках до 24 часов при температуре 2–35 °C, до 7 дней при температуре 2–8 °C или до 6 недель в замороженном состоянии (≤ -18 °C и ≥ -70 °C).
- Образцы плазмы стабильны в течение не более пяти циклов замораживания/оттаивания. Выполняйте размораживания образцов при 15–30 °C.
- При транспортировке образцов цельной крови или плазмы следует соблюдать национальные, федеральные, региональные и местные нормативные требования по транспортировке возбудителей заболеваний.

12 Процедура

12.1 Подготовка образца

1. После центрифугирования образцов цельной крови плазму можно перенести при помощи пипетки непосредственно в картридж теста. Для получения действительных результатов крайне важно использовать достаточный объем образца (см. раздел 12.2 «Подготовка картриджа»).
2. Перед исследованием полностью разморозьте образцы плазмы и доведите их температуру до 15–30 °C.
3. Извлеките из холодильника образцы плазмы, хранимые при 2–8 °C, и перед исследованием доведите их температуру до 15–30 °C.
4. Образцы плазмы, хранившиеся при температуре 2–8 °C или замороженные и оттаявшие, перед использованием необходимо обработать на вихревой мешалке в течение 15 секунд.
5. Если образцы плазмы мутные, перед использованием осветлите их кратковременным (10 секунд) центрифугированием.

12.2 Подготовка картриджа

Важное замечание

Анализ следует начать не позднее чем через 4 часа после того, как образец был помещен в картридж.

Прим.

Отсутствие внесенной плазмы или внесение в картридж пипеткой менее 1 мл плазмы приводит к ошибке недостаточного объема (соответственно ОШИБКА 2096 и ОШИБКА 2097), что не позволит прибору выполнить обработку пробы.

1. Пользуйтесь одноразовыми защитными перчатками.
2. Дождитесь уравнивания температуры картриджей теста HIV-1 VL XC и образцов до 15–30 °C перед переносом плазмы в картридж.
 - Не переносите в картридж холодную (ниже 15 °C) плазму.
3. Осмотрите подлежащий использованию картридж для выявления повреждений. В случае повреждения не используйте его.
4. Нанесите на картридж этикетку с идентификатором образца.
5. Откройте крышку картриджа.
6. Внесите образец в картридж.
 - В случае использования *пипетки для переноса*, входящей в набор (Рис. 1), заполните эту пипетку до уровня непосредственно ниже расширения, чтобы перенести из пробирки не менее 1 мл плазмы (Рис. 1). Убедитесь в том, что в кончике пипетки при ее заполнении не образовалось больших пузырьков воздуха. Выпустите содержимое пипетки в предназначенную для образца камеру картриджа (Рис. 2).
 - В случае использования *точной пипетки*, однократно смочите ее кончик, заполнив пипетку плазмой и выпустив плазму в пробирку. Затем в случае использования предварительно смоченной пипетки наберите в нее не менее чем 1 мл плазмы из пробирки. Выпустите содержимое пипетки в предназначенную для образца камеру картриджа (Рис. 2).

Прим.

Не снимайте тонкую полимерную пленку, покрывающую внутреннее кольцо картриджа.

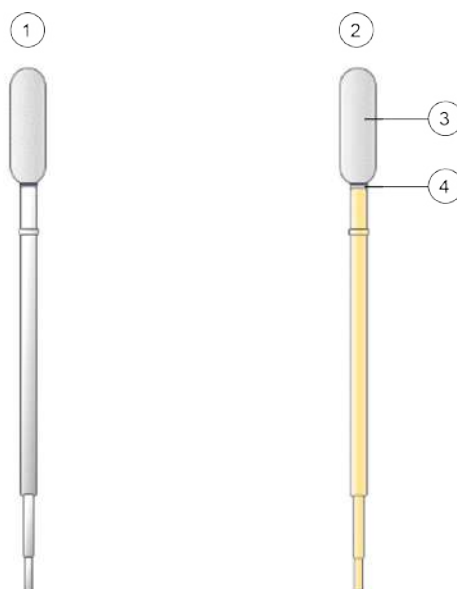


Рис. 1. Пипетка для переноса

Количество	Описание
1	Пустая пипетка
2	Заполненная пипетка
3	Расширение
4	Наберите плазму до уровня непосредственно ниже расширения.

Камера для образца
(Большое отверстие)

Рис. 2. Картридж (вид сверху)

7. Закройте крышку картриджа. Убедитесь, что крышка надежно защелкнулась на месте.

12.3 Запуск теста

Важное замечание Перед началом теста убедитесь, что в программное обеспечение импортирован правильный файл с описанием теста (Assay Definition File, ADF).

В данном разделе перечисляются основные действия при выполнении теста. Подробные инструкции приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемой модели прибора.

1. Включите прибор GeneXpert:

- При использовании прибора GeneXpert Dx следует сначала включать сам прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически. Если это не происходит, дважды щелкните по ярлыку программного обеспечения GeneXpert Dx, который находится на рабочем столе Windows®. ИЛИ

- При использовании прибора *GeneXpert Infinity* следует включить прибор. Программное обеспечение Xpertise запустится автоматически. Если это не происходит, дважды щелкните по ярлыку программного обеспечения Xpertise, который находится на рабочем столе Windows®.
- 2. Войдите в программное обеспечение системы приборов GeneXpert, используя свои имя пользователя и пароль.
- 3. В окне системы GeneXpert щелкните **«Создать тест» (Create Test)** (для GeneXpert Dx) или **«Заказы» (Orders)**, а затем **«Заказать тест» (Order Test)** (для Infinity). Откроется окно «Создать тест» (Create Test). Появляется окно Scan Patient ID Barcode (Сканировать штрих-код ID пациента).
- 4. Отсканируйте «ID пациента» (Patient ID) (не обязательно). Если вводится «ID пациента» (Patient ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «Идентификатор пациента» (Patient ID) связывается с результатом теста и указывается в окне «Просмотреть результаты» (View Results). Появится диалоговое окно «Сканировать штрих-код ID образца» (Scan Sample ID Barcode).
- 5. Отсканируйте или введите вручную «ID образца» (Sample ID). Если вводится «ID образца» (Sample ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. Идентификационный номер образца связывается с результатами теста и указывается в окне «Просмотр результатов» (View Results) и во всех отчетах. Откроется диалоговое окно «Сканировать штрих-код картриджа» (Scan Cartridge Barcode).
- 6. Отсканируйте штрихкод на картридже теста. На основе информации, считанной со штрих-кода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «Выбрать тест» (Select Assay), «ID партии реактива» (Reagent Lot ID), «C/Н картриджа» (Cartridge SN) и «Срок годности» (Expiration Date).

Прим. Если штрих-код картриджа не сканируется, повторите анализ с новым картриджем.

- 7. Щелкните **Начать тест (Start Test)** (для GeneXpert Dx) или **Отправить (Submit)** (для Infinity). При необходимости введите пароль.
- 8. Загрузите и извлеките картридж:
 - При использовании системы *GeneXpert Infinity* поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, будет выполнен тест, а использованный картридж будет удален в контейнер для отходов. ИЛИ
 - Для прибора *GeneXpert Dx*:
 - a) Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
 - b) Закройте дверцу. После этого начинается анализ, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса анализа индикаторная лампа выключается.
 - c) Перед открытием дверцы модуля и извлечением картриджа дождитесь разблокирования системой замка дверцы.
- 9. Удалите использованные картриджи в подходящий контейнер для сбора отходов согласно стандартной практике, принятой в вашем учреждении.

13 Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечисляются основные действия по просмотру и печати результатов. Более подробные инструкции по просмотру и печати результатов представлены в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемого прибора.

- 1. Для просмотра результатов выберите ярлык **Просмотр результатов (View Results)**.
- 2. По завершении анализа выберите кнопку **Отчет** в окне «Просмотреть результаты» для просмотра отчета и (или) получения отчета в формате PDF.

14 Контроль качества

Каждый тест содержит контроль достаточности объема образца (Sample Volume Adequacy, SVA), внутренние количественные стандарты (Internal Quantitative Standard, IQS) высокой и низкой концентрации (IQS-H и IQS-L), а также параметры, специфичные для партии (Lot Specific Parameters, LSP) и контроль зондов (Probe Check Control, PCC).

- **Контроль достаточности объема образца (SVA):** Обеспечивает правильность внесения пробы в картридж. Контроль SVA позволяет подтвердить, что в камеру для образца внесен надлежащий объем образца. Контроль SVA считается пройденным, если его результат соответствует критериям приемлемости. Если контроль SVA не

пройден, на дисплей выводится: ##### 2096 при отсутствии образца или ##### 2097 при недостаточном объеме образца. Система не позволит выполнить тест.

- **Внутренний количественный стандарт высокой и низкой концентрации (IQS-H и IQS-L):** IQS-H и IQS-L являются двумя контролями Armored RNA®, не связанными с ВИЧ, включенными в каждый картридж и полностью проходящими весь процесс теста. Они используются для количественного определения с использованием специфичных для партии параметров при расчете концентрации РНК ВИЧ-1 в образце. Кроме того, IQS-H и IQS-L обнаруживают связанное с образцом ингибирование ОТ-ПЦР, выполняя функцию контролей обработки образца. Контроли IQS-H и IQS-L считаются пройденными, если значения порогового цикла (Ct) находятся в действительном диапазоне.
- **Роль параметров, специфичных для партии (Lot Specific Parameters, LSP), в количественном определении** – Каждая партия набора содержит характерные для нее LSP, созданные путем анализа калибровочной панели ВИЧ-1, прослеживаемой до 4^{го} Международного стандарта ВОЗ по ВИЧ-1 (код NIBSC) 16/194), IQS-H и IQS-L. Эти LSP уникальны для каждой партии набора и используются для обеспечения правильного количественного определения.
- **Контроль целостности зондов (PCC):** Перед началом ПЦР система приборов GeneXpert измеряет флуоресцентный сигнал зондов для проверки регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль PCC считается пройденным, если флуоресцентные сигналы соответствуют заданным критериям приемлемости.

15 Интерпретация результатов

Результаты автоматически интерпретируются системой приборов GeneXpert на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета, и они четко отображаются в окне «Просмотреть результаты» (View Results) (Рис. 3 и Рис. 4). Возможные результаты показаны в Табл. 1.

Табл. 1. Результаты и их интерпретация

Результат	Интерпретация
ВИЧ-1 ОБНАРУЖЕН (HIV-1 DETECTED) XX копий/мл (log X.XX) См. Рис. 3.	РНК ВИЧ-1 обнаружена в количестве XX копий/мл (log X.XX) <ul style="list-style-type: none"> • Количественные показатели РНК ВИЧ-1 находятся в пределах диапазона количественного определения теста (40-1x10⁷ копий/мл). • IQS-H и IQS-L: ПРОЙДЕН (PASS). • Контроль зондов (Probe Check): ПРОЙДЕН (PASS); все контроли зондов пройдены.
ВИЧ-1 ОБНАРУЖЕН (HIV-1 DETECTED) > 1 × 10⁷ копий/мл См. Рис. 4.	Количество ДНК ВИЧ-1 превышает диапазон измерений анализа. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H и IQS-L: ПРОЙДЕН (PASS). • Контроль зондов (Probe Check): ПРОЙДЕН (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
ВИЧ-1 ОБНАРУЖЕН (HIV-1 DETECTED) < 40 копий/мл См. Рис. 5.	Количество РНК ВИЧ-1 ниже диапазона измерений анализа. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H и IQS-L: ПРОЙДЕН (PASS). • Контроль зондов (Probe Check): ПРОЙДЕН (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
ВИЧ-1 НЕ ОБНАРУЖЕН (HIV-1 NOT DETECTED) См. Рис. 6.	РНК ВИЧ-1 не обнаружена. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H и IQS-L: ПРОЙДЕН (PASS). • Контроль зондов (Probe Check): ПРОЙДЕН (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.

Результат	Интерпретация
НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) См. Рис. 7.	Невозможно установить наличие или отсутствие РНК ВИЧ-1. Повторите анализ в соответствии с указаниями раздела 16.2, «Процедура повторного анализа». <ul style="list-style-type: none"> IQS-H и/или IQS-L: НЕ ПРОЙДЕН (FAIL): Пороги цикла (Ct) не находятся в действительном диапазоне. Контроль зондов (Probe Check): ПРОЙДЕН (PASS). Все проверки в рамках контроля качества зондов успешно пройдены.
ОШИБКА (ERROR) См. Рис. 8.	Невозможно установить наличие или отсутствие РНК ВИЧ-1. Повторите анализ в соответствии с указаниями раздела 16.2, «Процедура повторного анализа». <ul style="list-style-type: none"> Контроль зондов (Probe Check): НЕ ПРОЙДЕН (FAIL): все или одна из процедур теста контроля зондов не пройдены.
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	Невозможно установить наличие или отсутствие РНК ВИЧ-1. Повторите анализ в соответствии с указаниями раздела 16.2, «Процедура повторного анализа». Сообщение НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если лаборант прервал текущий процесс анализа.

В программном обеспечении можно перевести результаты из копий/мл в МЕ/мл. См. *руководство оператора системы GeneXpert Dx* или *руководство оператора системы GeneXpert Infinity* для получения указаний по изменению данной настройки.

Прим.

Переводной коэффициент для теста HIV-1 VL XC составляет 1 копия = 2,06 международной единицы (МЕ).

Прим.

Снимки с экранов тестов даны только в качестве примеров. Номер версии может отличаться от показанной на снимках с экрана в этой инструкции по применению.

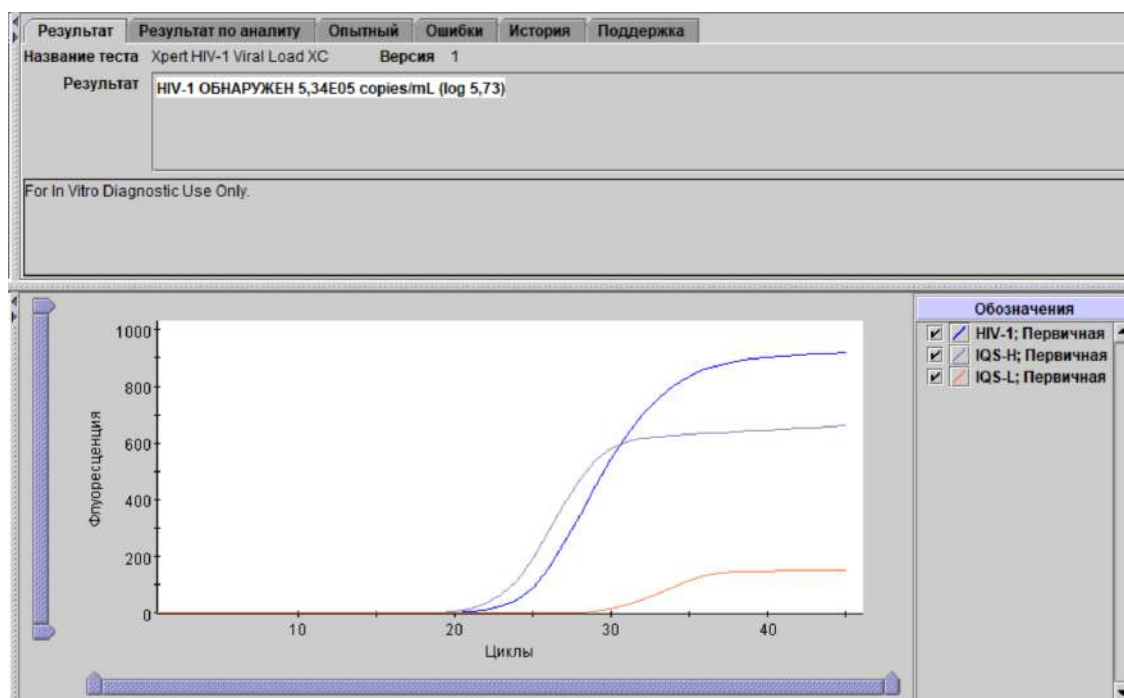


Рис. 3. ВИЧ-1 обнаружен и количество его определено

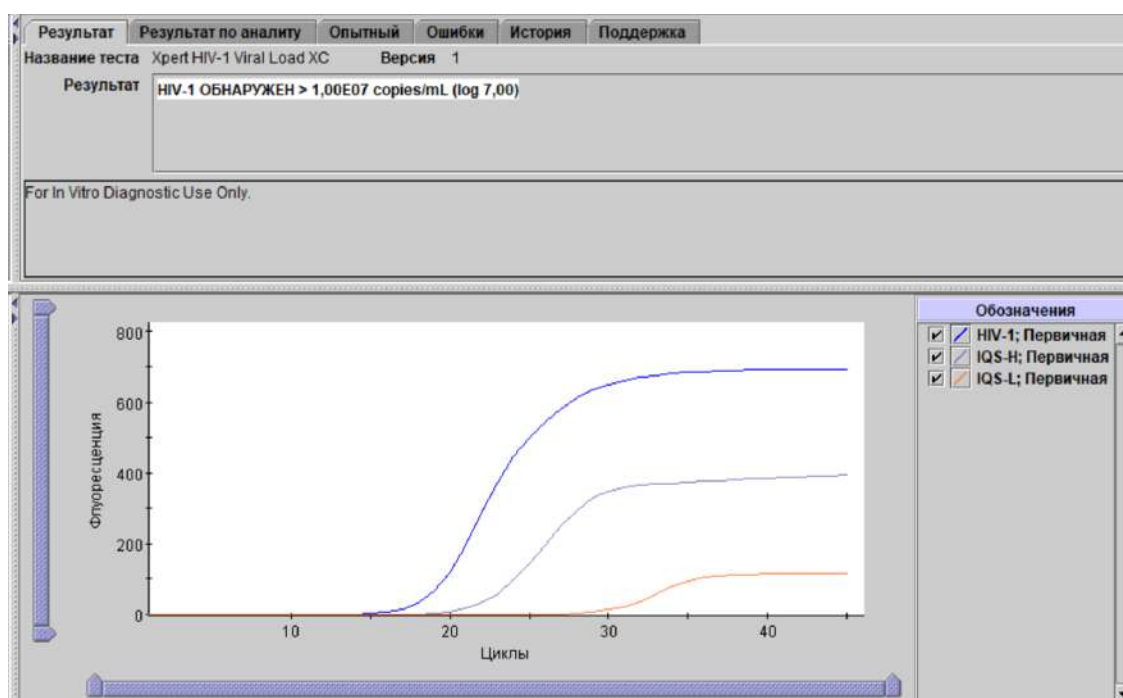


Рис. 4. ВИЧ-1 обнаружен, но его титр выше границы диапазона количественного определения теста

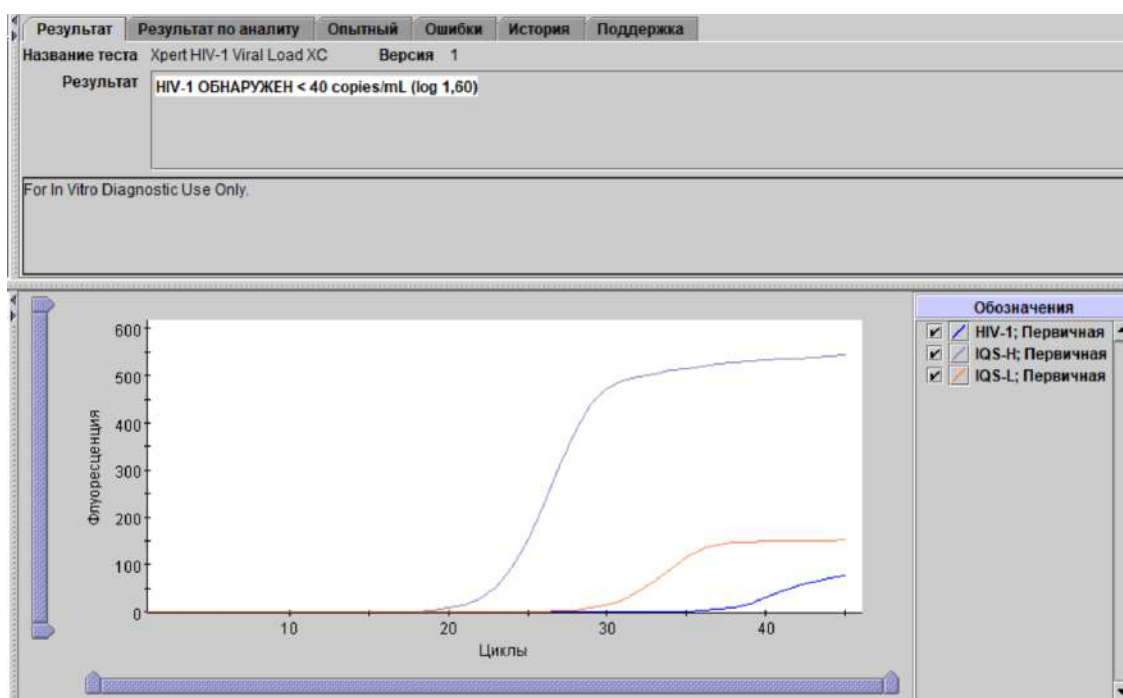


Рис. 5. ВИЧ-1 обнаружен, но его титр ниже границы диапазона количественного определения теста

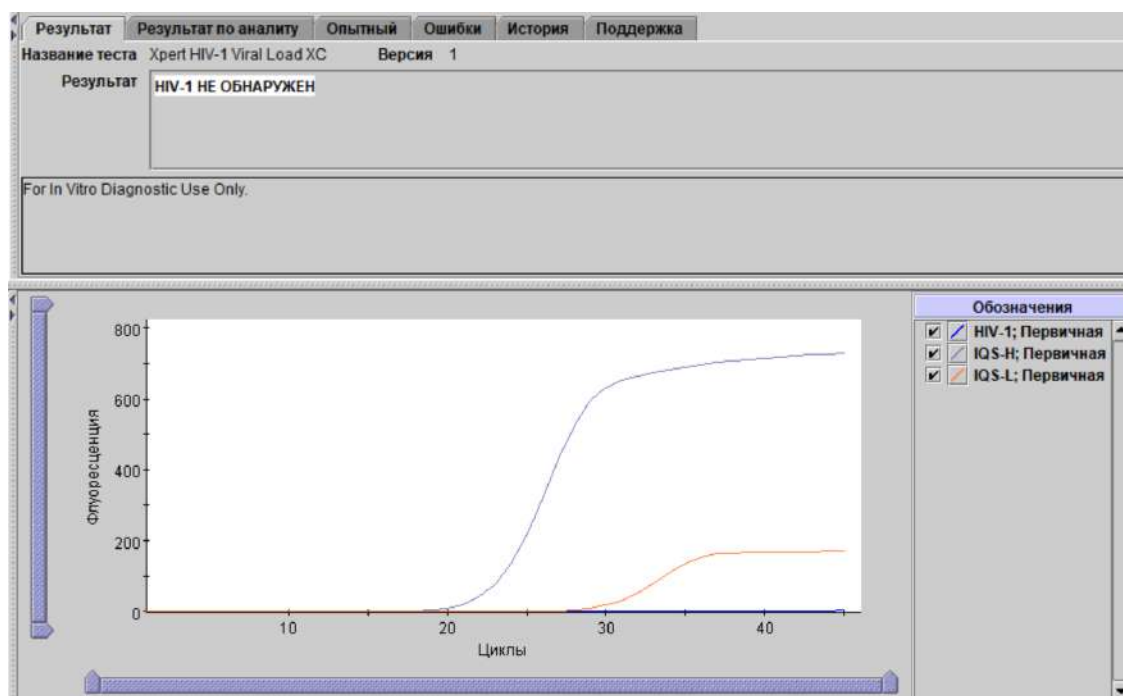


Рис. 6. ВИЧ-1 не обнаружен

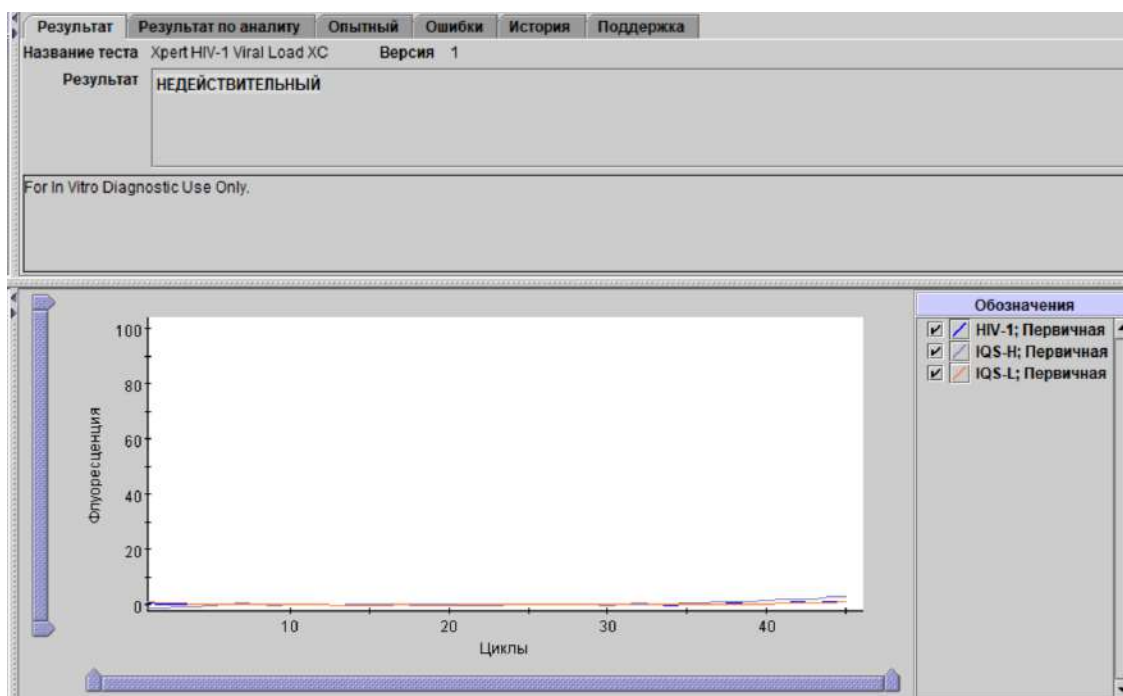


Рис. 7. Недействительный результат

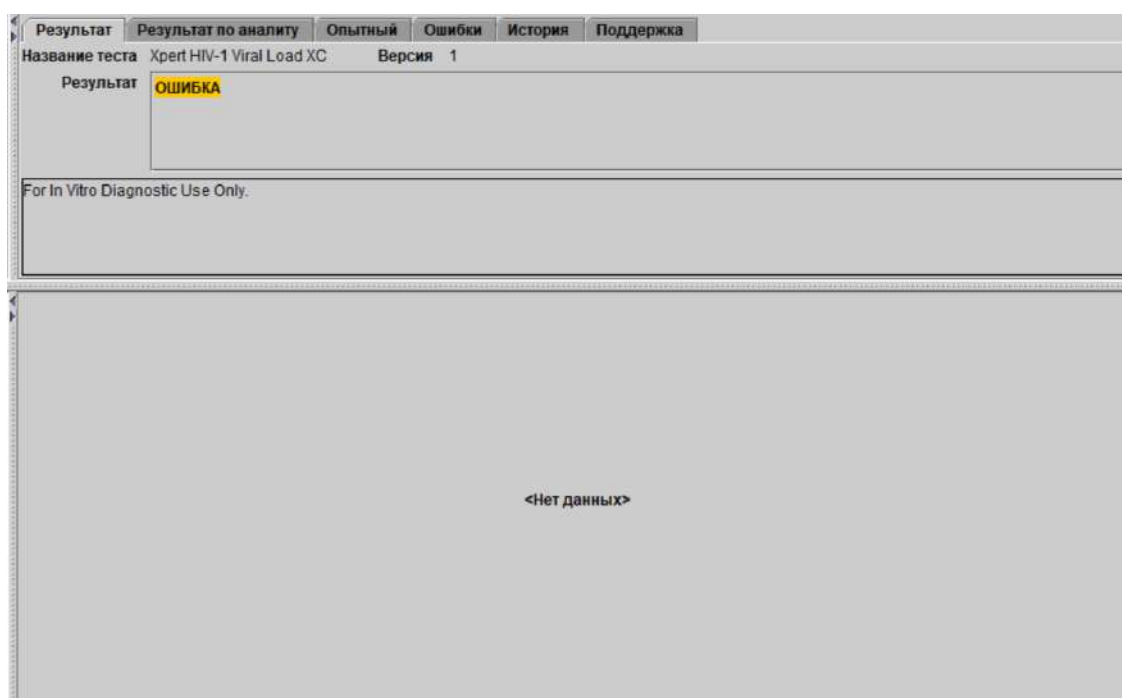


Рис. 8. Ошибка

16 Повторное выполнение теста

16.1 Причины повторного выполнения теста

При получении любого из следующих результатов анализа повторите анализ в соответствии с указаниями, изложенными в разделе 16.2.

- **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** результат связан с одной или более следующих причин:
 - Значения Ct IQS-H и (или) IQS-L не находятся в действительном диапазоне.
 - Образец был неправильно обработан или ПЦР была ингибирована.
- Результат **ОШИБКА (ERROR)** показывает, что тест был прерван. Возможные причины: внесен недостаточный объем образца, неправильное заполнение реакционной пробирки, обнаружена проблема целостности зонда образца или превышен максимальный предел давления.
- Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Например, оператор прервал выполняющийся процесс анализа или произошел перебой в подаче электроэнергии.

16.2 Процедура повторного теста

При получении результата **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)**, **ОШИБКА (ERROR)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** повторите тест соответствующего образца с использованием нового картриджа (не используйте картридж повторно).

1. Извлеките новый картридж из набора.
2. См. раздел 12 «Процедура», в том числе раздел 12.2 «Подготовка картриджа» и раздел 12.3 «Запуск теста».

17 Ограничения

- С целью избежать контаминации образцов и реактивов рекомендуется следовать принципам надлежащей лабораторной практики и менять перчатки перед началом работы с каждым новым образцом.
- Редкие мутации, делеции или вставки в целевых регионах теста HIV-1 VL XC могут влиять на связывание праймера и (или) зонда, в результате чего концентрация окажется заниженной или вирус не обнаружится.
- Тест HIV-1 VL XC был валидирован с применением плазмы с К2 ЭДТА и PPT-ЭДТА. Исследование других типов образцов может привести к получению неточных результатов.
- Отрицательные результаты теста не исключают наличия инфекции ВИЧ-1. Результаты теста HIV-1 VL XC следует интерпретировать в совокупности с клиническими признаками и другими лабораторными маркерами.
- Прежде чем переходить от использования одного метода к другому, компания Cepheid рекомендует пользователям выполнить в своей лаборатории исследования по корреляции методов для оценки разницы между технологиями.
- Надежность результатов зависит от надлежащего сбора, транспортировки, хранения и обработки образцов.
- Количественное определение РНК ВИЧ-1 зависит от количества присутствующих в образце вирусных частиц, а также методов сбора образцов, зависящих от пациента факторов (например, возраста и наличия симптомов) и (или) стадии инфекции.
- Образец, для которого дважды получен результат **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)**, может содержать ингибитор; повторное исследование не рекомендуется.

18 Функциональные характеристики

18.1 Предел обнаружения

Предел обнаружения (LoD) теста HIV-1 VL XC был определен для группы М подтипа В путем исследования серийных разведений, приготовленных из 4-го международного стандарта ВОЗ (WHO 4th International Standard for HIV-1, код NIBSC16/194) в ВИЧ-1-отрицательной плазме с К2 ЭДТА. Были исследованы в общей сложности шесть различных концентраций международного стандарта ВОЗ и один отрицательный образец с применением трех партий наборов. Каждый уровень концентрации был исследован на протяжении трех дней с 24 повторностями на каждую партию наборов, что дало в сумме 72 повторностей на каждый уровень концентрации.

Результаты показаны в Табл. 2. Исследование показало, что тест HIV-1 VL XC обнаруживает РНК ВИЧ-1 в международном стандарте ВОЗ в концентрации 13,6 копий/мл в плазме с К2 ЭДТА с вероятностью 95 %, определяемой пробит-регрессией.

Табл. 2. Порог обнаружения теста HIV-1 VL XC с применением 4^{го} международного стандарта ВОЗ для ВИЧ-1

Группа/подтип	Номинальная концентрация ВИЧ-1 (копий/мл)	Количество действительных повторностей	Количество положительных повторностей	Доля положительных результатов (%)	Предел обнаружения, определенный пробит-анализом с 95 % вероятностью (95 % доверительный интервал)
Группа М/ подтип В	0	72	0	0	13,6 копий/ мл (11,7-15,6)
	1	72	13	18	
	2,5	72	31	43	
	5	72	45	63	
	10	72	60	83	
	20	72	70	97	

Группа/подтип	Номинальная концентрация ВИЧ (копий/мл)	Количество действительных повторностей	Количество положительных повторностей	Доля положительных результатов (%)	Предел обнаружения, определенный пробит-анализом с 95 % вероятностью (95 % доверительный интервал)
	40	72	72	100	

Предел обнаружения для ВИЧ-1 группы М подтипов А, С, D, F, G, H, J, K, CRF-A/B, CRF-A/E, CRF-A/G, CRF-B/C и CRF-06, группы N, группы О и группы Р был определен путем исследования серийных разведений архивированных клеточных культур или клинических образцов, представляющих каждую группу и подтип ВИЧ-1, в ВИЧ-1-отрицательной плазме с К2 ЭДТА. В общей сложности были исследованы шесть уровней концентрации каждой группы и каждого подтипа ВИЧ-1 с одной партией набора на протяжении трех дней, что дало общее число 24 повторностей на уровень концентрации.

Оценку номинальной концентрации архивной клеточной культуры и клинических образцов выполняли с применением тестов на вирусную нагрузку ВИЧ-1, имеющих маркировку CE.

Концентрация РНК ВИЧ-1, которая может быть обнаружена с долей положительных результатов выше 95 %, была определена методом регрессионного пробит-анализа. Результаты исследований каждого из подтипов ВИЧ-1 группы М (А, С, D, F, G, H, J, K, CRF-A/B, CRF-A/E, CRF-A/G, CRF-B/C, CRF-06), группы N, группы О и группы Р показаны в Табл. 3.

Табл. 3. Предел обнаружения подтипов ВИЧ-1 группы М (А, С, D, F, G, H, J, K, CRF-A/B, CRF-A/E, CRF-A/G, CRF-B/C, CRF-06), группы N, группы О и группы Р в плазме с К2 ЭДТА

Группа	Подтип	LoD по результатам пробит-анализа (копий/мл)	95 % доверительный интервал (копий/мл)
Группа М	А	15,9	12,1–19,7
	С	13,2	10,2–16,3
	D	17,7	13,5–21,8
	F	18,1	14,5–21,6
	G	18,0	13,7–22,3
	H	7,9	6,2–9,5
	J	14,2	10,6–17,7
	K	16,9	12,7–21,0
	CRF A/B	13,1	9,9–16,3
	CRF A/E	14,2	10,7–17,6
	CRF A/G	17,4	13,2–21,6
	CRF B/C	17,0	13,3–20,8
	CRF 06	10,8	8,4–13,2
Группа N	Неприменимо	16,5	12,2–20,8
Группа О	Неприменимо	9,0	6,8–11,1
Группа Р	Неприменимо	4,9	3,9–5,9

18.2 Нижний предел количественного определения

Нижний предел количественного определения (lower limit of quantitation LLOQ) — это наименьшая концентрация РНК ВИЧ-1, которая может быть количественно определена с приемлемой прецизионностью и правильностью, и устанавливаемая путем оценки общей аналитической ошибки (total analytical error, TAE) и применения подхода, основанного на разности двух измерений. Величину TAE теста HIV-1 VL XC определяли путем анализа данных исследования LoD (Международный стандарт ВОЗ) и данных, полученных при исследовании трех клинических образцов ВИЧ-1 подтипа В в плазме с К2 ЭДТА (значение, полученное с помощью теста на вирусную нагрузку ВИЧ-1, имеющего маркировку CE) при концентрации РНК ВИЧ-1 40 копий/мл с применением двух партий наборов при 16 повторностях на каждую партию набора.

TAE оценивали с помощью модели Вестгарда в соответствии с указаниями CLSI и критерия [(абсолютная систематическая ошибка) + 2 CO] $\leq 1 \log_{10}$ копий/мл⁹. Разность между двумя подходами к измерению оценивали по критерию [(2 x SQRT(2) x CO) $\leq 1 \log_{10}$ копий/мл].

Результаты определения LLOQ для каждого образца представлены в Табл. 4. Этот результат показал, что тест HIV-1 VL XC может определить концентрацию РНК ВИЧ-1 40 копий/мл с приемлемыми параметрами правильности и прецизионности.

Табл. 4. Определение LLOQ для теста HIV-1 VL XC

Образец ВИЧ-1 подтипа В	Партия набора	N	Номинальная концентрация ВИЧ-1 ($\log_{10}$ копий/мл)	Наблюдаемая концентрация ВИЧ-1 ($\log_{10}$ копий/мл)	Систематическая ошибка	Общее СО	Значения общей аналитической ошибки ^a	Подход с двумя измерениями ^b
ВОЗ	1	24	1,60	1,51	-0,09	0,14	0,37	0,39
	2	24	1,60	1,48	-0,12	0,17	0,47	0,49
	3	24	1,60	1,56	-0,04	0,31	0,65	0,87
Клинический образец 1	1	16	1,60	1,65	0,05	0,10	0,25	0,29
	2	16	1,60	1,63	0,03	0,11	0,25	0,32
Клинический образец 2	1	16	1,60	1,80	0,20	0,12	0,44	0,35
	2	16	1,60	1,73	0,13	0,12	0,37	0,34
Клинический образец 3	1	16	1,60	1,45	-0,15	0,29	0,72	0,81
	2	16	1,60	1,62	0,02	0,16	0,33	0,45

^a TAE вычислено по модели Вестгарда, где [TAE = |систематическая ошибка| + (2×CO) $\leq 1 \log_{10}$ копий/мл], для обеспечения 95 % вероятности того, что измерение будет отличаться от истинного значения менее чем на $1 \log_{10}$ копий/мл.

^b Подход с двумя измерениями [2 × (SQRT(2) × CO) $\leq 1 \log_{10}$ копий/мл] показал, что отличие менее $1 \log_{10}$ копий/мл может объясняться случайной ошибкой измерения.

18.3 Прецизионность/воспроизводимость

Прецизионность и воспроизводимость теста HIV-1 VL XC были установлены в трехцентровом слепом исследовании с применением семикомпонентной панели референсного по ВИЧ-1 материала с добавлением ВИЧ-1-отрицательной плазмы с ЭДТА при концентрациях РНК в диапазоне, соответствующем диапазону количественного

определения теста HIV-1 VL XC. Два оператора в каждом из трех исследовательских центров исследовали одну панель, состоящую из семи образцов, два раза в день на протяжении шести дней. В двух центрах применяли приборы GeneXpert Dx, а в третьем — прибор Infinity-80. В этом исследовании были использованы три партии наборов теста HIV-1 VL XC. Оценку прецизионности и воспроизводимости выполняли согласно указаниям CLSI¹⁰.

Воспроизводимость теста HIV-1 VL XC оценивали методом иерархического дисперсионного анализа, где в качестве условий использовались следующие: центр/прибор, партия, оператор, день, серия, в пределах серии. Рассчитывали стандартное отклонение и процент дисперсии концентрации ВИЧ-1, представленной в виде $\log_{10}$, под влиянием каждого компонента (см. Табл. 5).

Табл. 5. Вклад теста HIV-1 VL XC в общую дисперсию и общую прецизионность

Ожидаемая концентрация РНК ВИЧ-1 (копий/мл)	N	Средняя ^a	Источник дисперсии													
			Центр		Партия		Оператор		День		Серия		В пределах серии		Всего	
			CO ^b	(%)	CO	(%)	CO	(%)	CO	(%)	CO	(%)	CO	(%)	CO	KB (%) ^c
40 копий/мл	143 ^d	1,59	0,01	0,55	0,03	2,15	0,04	5,97	0,05	7,80	0,00	0,00	0,16	83,53	0,17	10,69
200 копий/мл	144	2,28	0,02	5,52	0,03	9,27	0,01	2,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	83,14	0,10	4,39
1x10 ³ копий/мл	144	2,99	0,00	0,00	0,02	9,75	0,00	0,00	0,02	13,86	0,00	0,00	0,06	76,38	0,06	2,01
1x10 ⁴ копий/мл	144	3,98	0,01	4,72	0,02	15,66	0,00	0,00	0,00	1,00	0,01	6,19	0,04	72,43	0,05	1,26
1x10 ⁶ копий/мл	143 ^e	6,01	0,01	3,40	0,03	15,35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	81,25	0,07	1,16
1x10 ⁷ копий/мл	144	6,96	0,00	0,00	0,04	17,70	0,00	0,00	0,03	10,97	0,00	0,00	0,09	71,32	0,10	1,44

^a Средняя концентрация РНК ВИЧ-1 копий/мл $\log_{10}$

^b CO в $\log_{10}$

^c KB = (общее CO/среднее)*100

^d 1 образец с результатом «ВИЧ-1 не обнаружен» (HIV-1 Not Detected) был исключен

^e 1 образец с результатом «Ошибка» (Error) был исключен

18.4 Линейный диапазон

Линейный диапазон теста HIV-1 VL XC был определен анализом девятикомпонентной панели с диапазоном от 15 до 1,2x10⁷ копий/мл, приготовленной путем параллельных разведений референсного материала ВИЧ-1 (ВИЧ-1 подтипа В) в ВИЧ-1-отрицательной плазме с К2 ЭДТА. Использованный стандартный материал был откалиброван по 4-му международному стандарту ВОЗ (WHO 4th International standard for HIV-1, Код NIBSC: 16/194). Эта панель была исследована с двумя партиями наборов теста HIV-1 VL XC, что дало в общей сложности 24 или 48 повторностей на каждый элемент панели.

Анализ линейности был выполнен в соответствии с указаниями CLSI¹¹. Результаты представлены в Рис. 9. Тест HIV-1 VL XC линеен в диапазоне от 20 до 1x10⁷ копий/мл с R²>99.

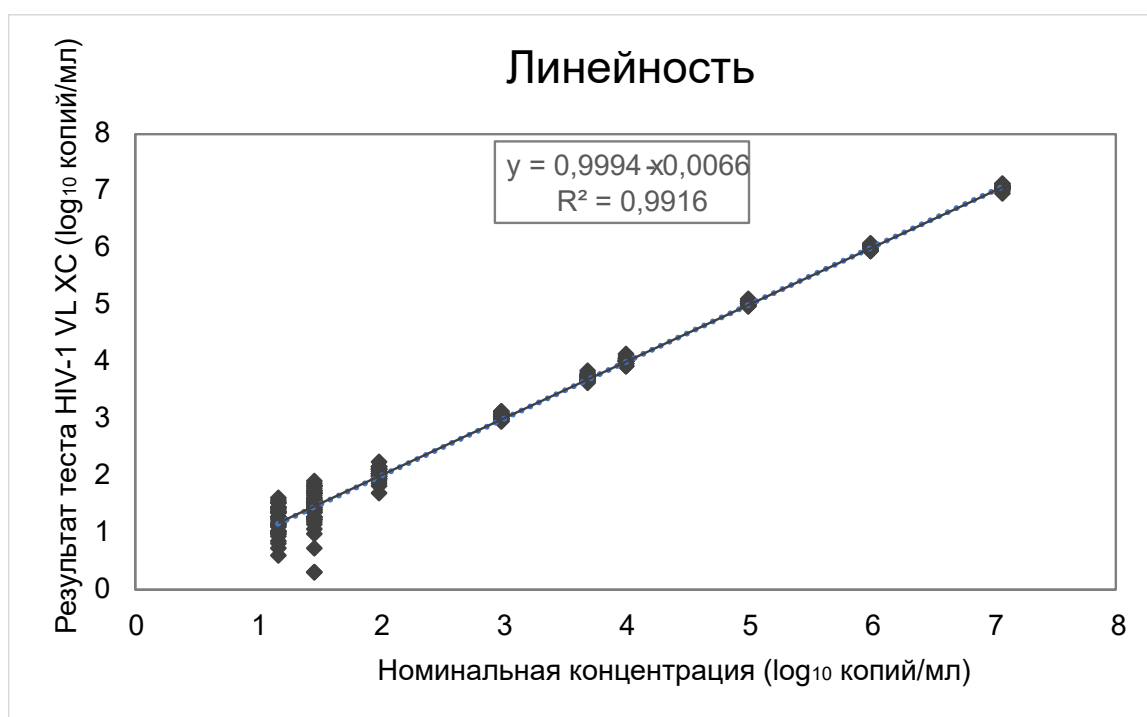


Рис. 9. Линейность теста HIV-1 VL XC

18.5 Аналитическая реактивность (инклюзивность)

Аналитическая реактивность (инклюзивность) теста HIV-1 VL XC была продемонстрирована в исследовании ВИЧ-1 группы М подтипов А, В, С, D, F, G, H, J, K, CRF-A/B, CRF-A/E, CRF-A/G, CRF-B/C, CRF-06, группы N, группы О и группы Р при нескольких уровнях концентраций в диапазоне, перекрывающем диапазон количественного определения теста $40\text{--}1 \times 10^7$ копий/мл в зависимости от подтипа и группы. Каждый уровень концентрации был исследован не менее чем в восьми повторах с применением двух партий наборов теста HIV-1 VL XC. Средняя $\log_{10}$ концентрация, полученная при исследовании каждого подтипа/каждой группы и каждого уровня концентрации была количественно определена в пределах $\pm 0,5 \log_{10}$ назначенной начальной концентрации, и каждая линейная регрессия имела $R^2 > 0,98$ (см. Табл. 6, Табл. 7, и Табл. 8).

Табл. 6. Аналитическая реактивность (инклюзивность) теста HIV-1 VL XC, подтипы ВИЧ-1 группы М

Подтип ВИЧ-1 группы М	Номинальная концентрация ($\log_{10}$ копий/мл)	HIV-1 VL XC Результат ($\log_{10}$ копий/мл)	Разность ($\log_{10}$ копий/мл)	R^2
А	6,0	5,91	0,09	0,996
	4,0	3,99	0,01	
	2,0	2,02	-0,02	
	1,3	1,37	-0,07	
В	7,0	7,02	-0,02	0,998
	5,0 %	5,12	-0,12	
	3,0 %	3,14	-0,14	
	1,3	1,34	-0,04	
С	6,0	5,89	0,11	0,994

Подтип ВИЧ-1 группы М	Номинальная концентрация (log ₁₀ копий/мл)	HIV-1 VL XC Результат (log ₁₀ копий/мл)	Разность (log ₁₀ копий/мл)	R ²
	4,0	3,99	0,01	
	2,0	2,03	-0,03	
	1,3	1,33	-0,03	
D	6,0	5,83	0,17	0,995
	4,0	3,93	0,07	
	2,0	2,00	0,00	
	1,3	1,39	-0,09	
F	6,0	5,74	0,26	0,988
	4,0	3,83	0,17	
	2,0	1,79	0,21	
	1,3	1,12	0,18	
G	6,0	5,89	0,11	0,994
	4,0	3,92	0,08	
	2,0	1,95	0,05	
	1,3	1,16	0,14	
H	5,0 %	4,92	0,08	0,988
	4,0	3,94	0,06	
	2,0	1,99	0,01	
	1,3	1,52	0,08	
J	2,3	2,36	-0,05	Н/П ^а
	2,0	2,05	-0,05	
	1,3	1,42	-0,12	
K	4,0	3,86	0,14	0,980
	3,0 %	2,84	0,16	
	2,0	1,90	0,10	
	1,3	1,11	0,19	

^а Анализ методом линейной регрессии не был выполнен для ВИЧ-1 группы М подтипов J и CRF-A/B из-за отсутствия образцов, покрывающих широкий диапазон концентраций.

Табл. 7. Аналитическая реактивность (инклюзивность) теста HIV-1 VL XC, ВИЧ-1 подтипов CRF

ВИЧ-1 CRF	Номинальная концентрация (log ₁₀ копий/мл)	HIV-1 VL XC Результат (log ₁₀ копий/мл)	Разность (log ₁₀ копий/мл)	R ²
CRF-A/B	2,3	2,39	-0,09	Н/П ^а
	2,0	1,97	0,03	
	1,3	1,32	-0,02	
CRF-A/E	6,0	5,95	0,05	0,992

ВИЧ-1 CRF	Номинальная концентрация (log ₁₀ копий/мл)	HIV-1 VL XC Результат (log ₁₀ копий/мл)	Разность (log ₁₀ копий/мл)	R ²
	4,0	3,97	0,03	
	2,0	1,96	0,04	
	1,3	1,11	0,19	
CRF-A/G	6,0	5,87	0,13	0,991
	4,0	3,90	0,10	
	2,0	1,86	0,14	
	1,3	1,13	0,17	
CRF-B/C	6,0	5,70	0,30	0,995
	4,0	3,74	0,26	
	2,0	1,81	0,19	
	1,3	1,11	0,19	
CRF-06	7,0	6,94	0,06	0,997
	5,0 %	5,04	-0,04	
	3,0 %	3,05	-0,05	
	1,3	1,24	0,06	

^a Анализ методом линейной регрессии не был выполнен для ВИЧ-1 группы М подтипов J и CRF-A/B из-за отсутствия образцов, покрывающих широкий диапазон концентраций.

Табл. 8. Аналитическая реактивность (инклюзивность) теста HIV-1 VL XC, ВИЧ-1 группы N, O и P

Группа ВИЧ-1	Номинальная концентрация (log ₁₀ копий/мл)	HIV-1 VL XC Результат (log ₁₀ копий/мл)	Разность (log ₁₀ копий/мл)	R ²
N	7,0	6,78	0,22	0,994
	5,0 %	4,84	0,16	
	3,0 %	2,88	0,12	
	1,3	1,26	0,04	
O	6,0	5,96	0,04	0,995
	4,0	4,07	-0,07	
	2,0	2,12	-0,12	
	1,3	1,54	-0,24	
P	5,0 %	5,17	-0,17	0,996
	4,0	4,21	-0,21	
	2,0	2,21	-0,21	
	1,3	1,51	-0,21	

Кроме того, аналитическую реактивность (инклюзивность) теста HIV-1 VL XC продемонстрировали исследованием образцов HIV-1, как показано в Табл. 9, где представлены ВИЧ-1 группы М подтипы А, В, С, D, F, G, H, J, K, CRF-A/E, CRF-A/G, CRF-B/C, группа N и группа О. Каждый образец был разведен до 3xLLoQ плазмой с К2 ЭДТА и исследован с одной партией набора теста HIV-1 VL XC. Во всех образцах, исследованных при 3xLLoQ, был обнаружен ВИЧ-1 (Табл. 9).

Табл. 9. Образцы ВИЧ-1, исследованные при 3xLLoQ

Группа ВИЧ-1	Подтип/CRF	Число исследованных образцов	Число образцов, в которых обнаружен ВИЧ-1
М	А	10	10
	В	10	10
	С	10	10
	D	10	10
	F	10	10
	G	10	10
	H	10	10
	J	4	4
	K	8	8
	CRF-A/E	10	10
	CRF-A/G	11	11
	CRF-B/C	5	5
N	Н/П	1	1
О	Н/П	10	10

18.6 Аналитическая специфичность (эксклюзивность)

Аналитическую специфичность теста HIV-1 VL XC оценивали добавлением организмов, дающих перекрестные реакции или препятствующих проведению теста, в концентрации 1×10^6 КОЕ/мл для микроорганизмов или 1×10^5 копий/мл или TCID₅₀ для вирусов в ВИЧ-1-отрицательную плазму с К2 ЭДТА и плазму с К2 ЭДТА, содержащую референсный материал ВИЧ-1 в концентрации приблизительно 3xLLoQ. Использованный стандартный материал ВИЧ-1 был откалиброван по 4-му международному стандарту ВИЧ-1 ВОЗ (WHO 4th International standard for HIV-1, Код NIBSC: 16/194). Исследованные организмы перечислены в Табл. 10. Ни один из исследованных организмов не дал перекрестной реакции и не препятствовал количественному определению в тесте HIV-1 VL XC.

Табл. 10. Аналитическая специфичность, микроорганизмы

Вирус	Бактерии	Грибы и дрожжи	Паразиты
Вирус лихорадки чикунгунья	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Candida Albicans</i>	Leishmania Major
Цитомегаловирус	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida glabrata</i>	Plasmodium falciparum
Вирус Эпштейна — Барра	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida tropicalis</i>	Trypanosoma brucei
Вирус гепатита А	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	Trypanosoma cruzi
Вирус гепатита В	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>		

Вирус	Бактерии	Грибы и дрожжи	Паразиты
вирус гепатита С			
Вирус простого герпеса типа 1			
Вирус простого герпеса типа 2			
Вирус герпеса человека типа 6			
Вирус иммунодефицита человека 2			
Т-лимфотропный вирус человека типа 1			
Т-лимфотропный вирус человека типа 2			
Вирус гриппа человека типа А			

18.7 Субстанции, вероятно препятствующие проведению анализа

Оценивали подверженность теста HIV-1 VL XC влиянию препятствующих факторов эндогенных веществ в повышающихся концентрациях, назначаемых ВИЧ-1-инфицированным пациентам или пациентам с сопутствующими инфекциями или сопутствующими заболеваниями лекарственных препаратов, а также маркеров аутоиммунных заболеваний. Ингибиторные эффекты оценивали в присутствии и в отсутствие референсного материала ВИЧ-1 в концентрации приблизительно 3xLLOQ. Использованный стандартный материал ВИЧ-1 был откалиброван по 4-му международному стандарту ВИЧ-1 ВОЗ (WHO 4th International standard for HIV-1, Код NIBSC: 16/194).

Повышенные уровни эндогенных веществ, указанных в Табл. 11, не препятствовали количественному определению в тесте HIV-1 VL XC и не влияли на специфичность теста, выполняемого в присутствии или в отсутствие РНК ВИЧ-1. Все образцы, исследованные в присутствии РНК ВИЧ-1 и эндогенных веществ, дали результаты в пределах $\pm 0.5 \log_{10}$ копий/мл от значений, полученных с ВИЧ-1-положительными референсными образцами. Все образцы, исследованные в отсутствие РНК ВИЧ-1, показали результат «HIV-1 Not Detected» (ВИЧ-1 не обнаружен), что продемонстрировало отсутствие влияние на специфичность теста HIV-1 VL XC.

Табл. 11. Эндогенные субстанции и применявшиеся в анализе концентрации

Субстанция	Концентрация, применявшаяся в анализе
Альбумин	9 г/дл
Билирубин	40 мг/дл
Гемоглобин	1000 мг/дл
ДНК человека	0,4 мг/дл
Триглицериды	3000 мг/дл

Установлено, что перечисленные в Табл. 12 компоненты лекарственных препаратов не влияли на количественное определение или специфичность теста HIV-1 VL XC, выполненного при утроенном пиковом уровне концентрации (C_{max}) в присутствии и в отсутствие РНК ВИЧ-1.

Табл. 12. Пулы препаратов, применявшиеся в анализе

Пул	Лекарственные препараты
1	Зидовудин, кларитромицин, интерферон альфа-2b, маравирик, рилпивириин, ганцикловир
2	Абакавира сульфат, пэгинтерферон 2a, рибавирин, эмтрицитабин, адефовира дипивоксил, энтекавир, валганцикловира гидрохлорид
3	Тенофовира дизопроксила фумарат, ламивудин, ЗТС, ралтегравир, этравирин
4	Ставудин, d4T, эфавиренз, лопинавир ципрофлоксацин, индинавира сульфат, ацикловир
5	Невирапин, азитромицин, телбивудин, фоскарнет ^a , цидофовир
6	Кальциевая соль фосампренавира, элвитегравир, дарунавир, кобицистат, атазанавир
7	Паритапревир, симепревир
8	Даклатазавир, элбасвир, ледипасвир, омбитасвир, глекапревир, велпатасвир, дасабувир
9	Долутегравир, биктегравир доравирин, маравирик
10	ацетаминофен, ацетилсалициловая кислота, аторвастатин, лоратидин
11	Надолол, аскорбиновая кислота, фенилэфрин, ибупрофен
12	Артемизинин, дезэтиламодиахин, мефлохин, хинин
13	Примахин, хлорохин, доксоциклин
14	Рифампин, изониазид, этамбутол, пиразинамид
15	Моксифлоксацин, левофлоксацин, амикацин, бедаквилин ^a
16	Триметоприм/сульфаметоксазол, гентамицин, метронидазол, цефтриаксон

^a исследованы отдельно, но не в сочетании с другими компонентами лекарственных препаратов

Исследование образцов, приготовленных в плазме с К2 ЭДТА и полученных у пяти лиц, положительных в отношении каждого из указанных ниже маркеров аутоиммунных нарушений — системной красной волчанки (СКВ), противолечивающие антитела (ПЛА) или ревматоидный фактор (РФ) — выявило отсутствие препятствования количественному определению в тесте HIV-1 VL XC или влияния на специфичность теста в присутствии или в отсутствие РНК ВИЧ-1.

18.8 Эквивалентность материалов (К2 ЭДТА и РРТ-ЭДТА)

Эквивалентность материалов для теста HIV-1 VL XC была исследована с применением попарно подобранных клинических образцов от 50 ВИЧ-1-положительных лиц и 25 ВИЧ-1-отрицательных доноров крови; образцы собирали в пробирки с К2 ЭДТА и РРТ-ЭДТА. Титры ВИЧ-1 попарно подобранных образцов (с К2 ЭДТА и РРТ-ЭДТА) ВИЧ-1-положительных лиц покрывали диапазон количественного определения теста, 40–1х10⁷ копий/мл.

Эквивалентность материалов для теста HIV-1 VL XC была продемонстрирована, как показано в Рис. 10. Все ВИЧ-1-положительные образцы, собранные в среды с РРТ-ЭДТА, имели концентрации РНК ВИЧ-1 в пределах $\pm 0.5 \log_{10}$ копий/мл от результата ВИЧ-1-положительного образца, собранного в К2 ЭДТА и исследованного в тесте HIV-1 VL XC. Во всех 25 попарно подобранных ВИЧ-1-отрицательных образцах были получены результаты «ВИЧ-1 не обнаружен».

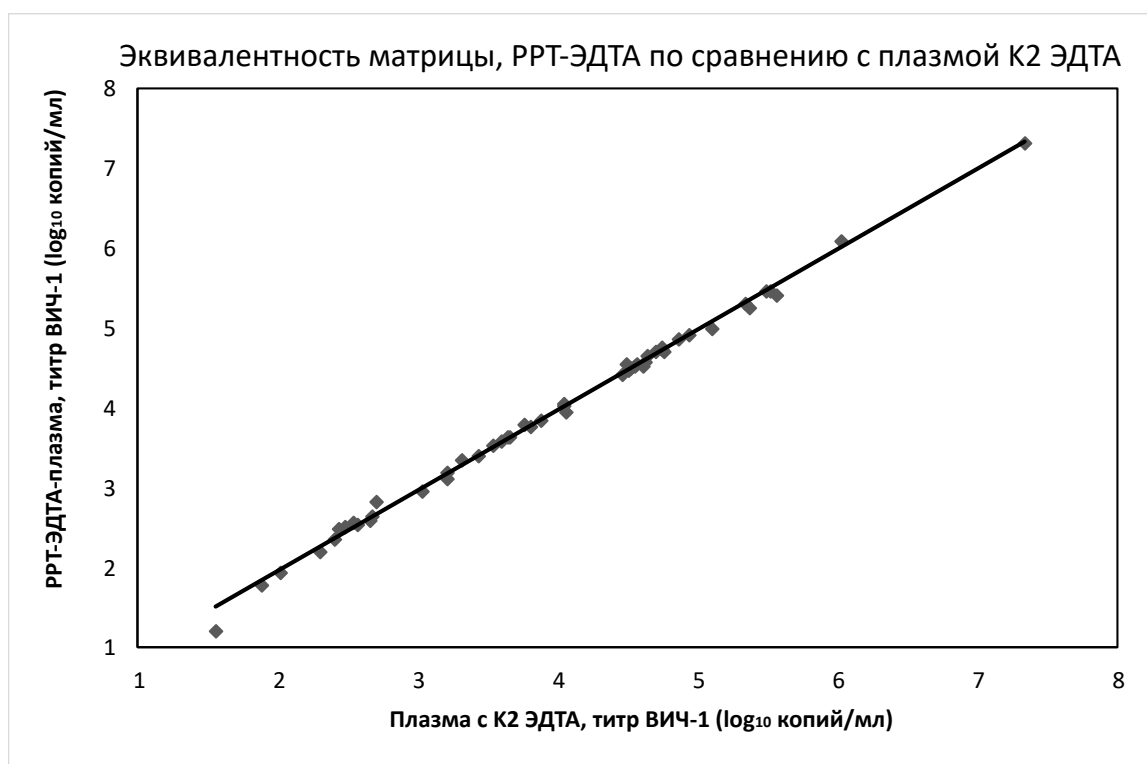


Рис. 10. Линейная регрессия титров ВИЧ-1 ($\log_{10}$ копий/мл) в плазме РРТ-ЭДТА и плазме с К2 ЭДТА

18.9 Частота отказа всей системы

Частоту отказа всей системы теста HIV-1 VL XC определяли путем исследования в 100 повторностях образца плазмы с К2 ЭДТА, в который был внесен образец ВИЧ-1 подтипа В, калиброванный по 4^{му} Международному стандарту ВИЧ-1 (код NIBSC 16/194). В плазму с К2 ЭДТА была внесена добавка с целью достижения целевой концентрации 60 копий/мл, и этот образец был исследован с одной партией набора теста HIV-1 VL XC.

Результаты этого исследования показали, что все 100 повторностей были действительными с положительным результатом в отношении ВИЧ-1, а частота отказа всей системы составила 0 %.

18.10 Контаминация продуктами предыдущей реакции

Выполняли исследование ВИЧ-1-положительного образца с высоким титром ($>1 \times 10^7$ копий/мл) сразу после исследования ВИЧ-1-отрицательного образца в том же модуле прибора GeneXpert. Процедуру повторяли двадцать (20) раз в двух различных модулях. Частота переноса в тесте HIV-1 VL XC была 0 %.

19 Функциональные характеристики — клинические

19.1 Специфичность

Специфичность теста HIV-1 VL XC оценивали с использованием 500 образцов плазмы с ЭДТА, полученных от ВИЧ-1-отрицательных доноров крови. Ни в одном из этих 500 образцов тест HIV-1 VL XC не обнаруживал ВИЧ-1, что указывает на 100 % специфичность (95 % ДИ = 99,2–100,0).

19.2 Корреляция между методами

Проведено многоцентровое исследование для сравнения функциональных характеристик теста HIV-1 VL XC относительно метода сравнения с амплификацией нуклеиновых кислот (NAAT) с использованием свежих и замороженных образцов человеческой плазмы, полученных у лиц с диагностированной ВИЧ-1 инфекцией. Из 362 образцов (каждый из которых взят у отдельного пациента) 206 (56,9 %) были получены у лиц мужского пола. Большинство испытуемых (94,5 %; 342/362) были в возрасте от 22 до 59 лет. Классификация образцов по подтипам ВИЧ-1 группы М в этой исследованной популяции показало, что 25,1 % имели подтип В, 16,1 % иные подтипы, кроме В, и 58,8 % имели неизвестный подтип.

Был получен 21 неопределенный результат, из которых 14 стали определенными после повторного исследования. Окончательная частота неопределенных результатов составила 1,93 % (7/362).

Из 362 образцов 328 находились в диапазонах количественного определения обоих тестов — Xpert HIV-1 VL XC и метода сравнения. Анализ методом регрессии Деминга показывает наличие высокой корреляции между тестом Xpert HIV-1 VL XC и методом сравнения, с коэффициентом наклона 0,9625 и точкой пересечения 0,0198. Значение R² составило 0,9561.

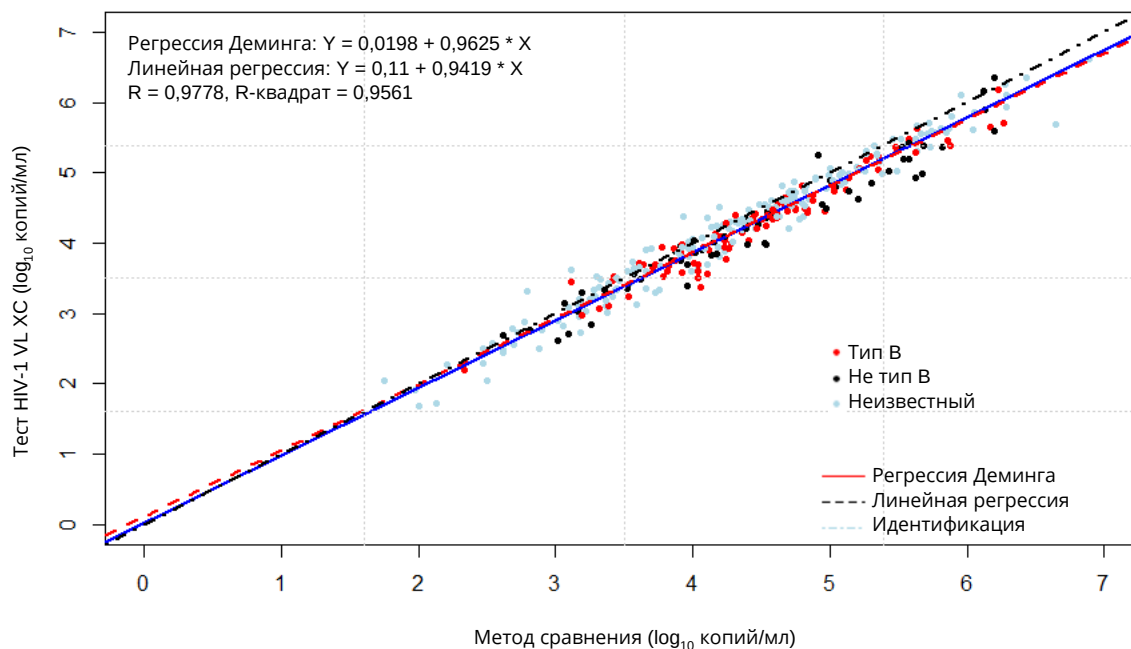


Рис. 11. Корреляция результатов теста HIV-1 VL XC и теста сравнения

20 Литература

1. Mellors JW, Rinaldo CR, Jr., Gupta P, White RM, Todd JA, Kingsley LA. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. Science 1996; 272:1167–1170.
2. World Health Organization. What's new in Treatment Monitoring: Viral Load and CD4 Testing. Geneva. WHO. 2017
3. WHO International Standard; 4th HIV-1 International Standard (NIBSC code: 16/1094). National Institute for Biological Standards and Control; 2017.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. документ M29 (см. последнюю редакцию).
6. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. Доступ 24 апреля 2020 г.: http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/
7. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2006).
8. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA, 2012.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Third Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA, 2014.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach. Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Wayne, PA, 2003.

21 Расположение штаб-квартиры корпорации Cepheid

Головной офис

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Европейский офис

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

22 Техническая поддержка

Прежде чем обращаться к нам

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Cepheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

США

Телефон: + 1 888 838 3222

Адрес электронной почты: techsupport@cepheid.com

Франция

Телефон: + 33 563 825 319

Адрес электронной почты: support@cepheideurope.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Cepheid доступна на нашем веб-сайте: www.cepheid.com/en/support/contact-us

23 Условные обозначения

Символ	Значение
	Номер по каталогу
	<i>in vitro</i>
	Маркировка CE – Европейское соответствие
	Не использовать повторно
	Код партии
	См. инструкцию по применению
	Производитель
	Страна производства
	Содержит достаточное количество для <i>n</i> тестов
	Контроль
	Срок годности
	Температурные ограничения
	Биологические риски
	Предупреждение
	Предупреждение



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden

 2797 