

STANDARD *M10* MDR-TB

STANDARD™ M10 MDR-TB

REF M10-MTB-01

NÁVOD K POUŽITÍ
K použití se systémem STANDARD™ M10



1. Určené použití

STANDARD M10 MDR-TB je multiplexní PCR test v reálném čase určený k použití se systémem STANDARD M10 pro kvalitativní detekci nukleových kyselin komplexu *M. tuberculosis* a mutace lékové rezistence v lidském normálním vzorku sputa nebo sedimentu sputa. Pozitivní výsledky IS1081 a IS6110 svědčí o přítomnosti komplexu *M. tuberculosis*. Pozitivní výsledky pro *rpoB*, *katG* a *inhA* naznačují, že zjištěný komplex *M. tuberculosis* má rezistenci k léčivům rifampicin (RIF) a/nebo isoniazid (INH). Určení infekčního stavu pacienta vyžaduje klinickou korelaci s anamnézou pacienta a dalšími diagnostickými informacemi. Negativní výsledky by neměly sloužit jako jediný základ pro rozhodování o léčbě pacienta. Negativní výsledky je třeba kombinovat s klinickými pozorováními, anamnézou pacienta a epidemiologickými informacemi. Test STANDARD M10 MDR-TB je určen k provádění vyškolenými uživateli v laboratoři i v blízkosti pacienta.

2. Shrnutí a vysvětlení

Tuberkulóza (TBC) je infekční onemocnění, které je způsobeno infekcí organismy komplexu *M. tuberculosis*. Na nové hostitele se šíří vzduchem od pacientů, kteří onemocněli tuberkulózou dýchacích cest. U nově nakažených jedinců se příznaky TBC projeví během několika týdnů až měsíců.

M. tuberculosis může způsobit onemocnění téměř jakékoli tkáně nebo orgánu v lidském těle, například plic, ledvin, nervů a kostí. Z nich nejvíce připadá na plicní tuberkulózu, infekci plicní tkáně. TBC má různé příznaky v závislosti na napadeném orgánu. Například tuberkulóza ledvin způsobuje příznaky zánětu močového měchýře, jako je hematurie, potíže s močením a časté močení. Tuberkulóza páteře způsobuje bolesti v dolní části zad. Tuberkulózní meningitida může způsobovat příznaky, jako je bolest hlavy a zvracení. V případě nejčastější tuberkulózy, plicní tuberkulózy, se objevují příznaky jako kašel, bolest na hrudi, nechtěný úbytek hmotnosti a horečka.

Rifampicin je semisyntetický derivát léčiva rifamycin B získaný ze *S. mediterranei* a je široce používán jako základní léčivo pro léčbu TBC. Rifampicin se váže na β -podjednotku bakteriální DNA dependentní RNA polymerázy (RNAP) a brání zahájení syntézy RNA. Rifampicin tak účinně působí jako antibiotikum tím, že inhibuje základní bakteriální aktivitu. Mutace genu *rpoB* na β -podjednotce způsobuje snížení afinity RNAP k rifampicinu a způsobuje rezistenci bakterií vůči rifampicinu.

Isoniazid účinně působí proti aktivnímu komplexu *M. tuberculosis*. Isoniazid je proléčivo, které je aktivováno silným enzymem katalázou na acylradikálovou aktivní formu, enzym se nazývá kataláza-peroxidáza (KatG) kódovaná genem *katG*. Aktivní forma sloučeniny narušuje biosyntézu kyseliny mykolové tím, že inhibuje NADH-dependentní reduktázu nosiče proteinu kódovanou genem *inhA*. Kyselina mykolová je základním stavebním prvkem mykobakteriální buněčné stěny. Mutace v genu *katG* a genu *inhA* vedou ke snížení nebo ztrátě antibakteriální aktivity isoniazidu v důsledku inaktivace genu KatG a strukturálních změn ve sloučeninách isoniazidu. V případě multirezistentní tuberkulózy (MDR-TBC), která je rezistentní vůči rifampicinu a isoniazidu současně, není účinek standardní léčby první linie dostatečný. Je tedy nutný protituberkulózní režim druhé linie. Pro účinnou léčbu pacientů s tuberkulózou by měly být současně s diagnostikou komplexu *M. tuberculosis* prováděny testy rezistence na rifampicin a isoniazid.

Popis kazety

STANDARD M10 MDR-TB je molekulární diagnostický test *in vitro*, který pomáhá při současné detekci a rozlišení genů IS1081 a IS6110 kmenů komplexu *M. tuberculosis* a genů *rpoB*, *katG* a *inhA* jako parametru multirezistence k léčivům na základě technologie amplifikace nukleových kyselin, PCR v reálném čase. Kazeta STANDARD M10 MDR-TB obsahuje pufr pro extrakci bakteriální DNA a činidla pro PCR k *in vitro* kvalitativní detekci genů IS1081 a IS6110 kmenů komplexu *M. tuberculosis* a genů *rpoB*, *katG* a *inhA* jako parametru multirezistence k léčivům ve vzorku normálního lidského sputa nebo sedimentu sputa.



Obrázek 1. Uspořádání kazety STANDARD M10 MDR-TB

3. Princip postupu

STANDARD M10 MDR-TB je automatizovaný *in vitro* diagnostický test pro kvalitativní detekci nukleové kyseliny MTB, rezistence na RIF a rezistence na INH. Test STANDARD M10 MDR-TB je možné provádět na systému STANDARD M10. Systém STANDARD M10 automatizuje a integruje přípravu vzorku, extrakci a amplifikaci nukleové kyseliny a detekci cílových sekvencí v různých vzorcích pomocí molekulárně diagnostických testů. Systém se skládá z modulu STANDARD™ M10 a konzoly STANDARD™ M10 s předinstalovaným softwarem pro provádění testů a zobrazování výsledků. Systém vyžaduje použití jednorázových kazet na jedno použití, v nichž jsou uloženy reagenty PCR a v nichž probíhá proces PCR. Protože jsou kazety samostatné, je minimalizována křížová kontaminace mezi vzorky. Úplný popis systému naleznete v uživatelské příručce systému STANDARD M10.

STANDARD M10 MDR-TB obsahuje reagenty pro detekci DNA z genů *IS1081* a *IS6110* kmenů komplexu *M. tuberculosis* a genů *rpoB*, *katG* a *inhA* jako parametru multirezistence současně. 4 sondy detekují 81 párů bází "hot spot" oblasti genu *rpoB*, která může potvrdit rezistenci k RIF, a sondy pro gen *katG* a *inhA* určují rezistenci k INH. Test je tedy schopen rozlišit mezi divokým typem a mutantní sekvencí v normálním sputu nebo ve vzorcích koncentrovaného sedimentu sputa. Přítomná kazeta slouží ke kontrole adekvátního zpracování vzorku a reakce PCR. Tabulka níže ukazuje, který cíl je určen k detekci kterým kanálem.

Tabulka 1. Fluorescenční kanál každého cílového genu

Patogen	Cílový gen	Kanál
<i>M. tuberculosis</i>	<i>IS1081</i>	FAM
	<i>IS6110</i>	HEX
<i>M. tuberculosis</i> - RIF	<i>rpoB</i>	FAM a/nebo HEX
<i>M. tuberculosis</i> - INH	<i>katG</i>	FAM
	<i>inhA</i>	HEX
Vnitřní kontrola	Vnitřní kontrola (IC)	Cy5

4. Dodané materiály

Souprava STANDARD™ M10 MDR-TB obsahuje dostatečné množství reagentů pro zpracování 10 vzorků nebo vzorků kontroly kvality.

Tabulka 2. Obsah STANDARD M10 MDR-TB

	Obsah	Množství	Použití v každé reakci
1	Kazeta	10	1
2	Stručný návod k použití	1	-

5. Skladování a manipulace

Soupravu STANDARD M10 MDR-TB skladujte při teplotě 2 - 28 °C. Pokud byla kazeta uložena v chladničce, proveďte test po 30 minutách stabilizace při pokojové teplotě (20 - 28 °C). Neodstraňujte bezpečnostní klip kazety a netlačte na kazetu až do skutečného použití. Tato souprava by měla být skladována při vhodné teplotě a chráněna před UV/slunečním zářením. Nepoužívejte kazetu, která vytekla nebo je mokrá. Za těchto podmínek lze kazety skladovat až do data expirace vytištěného na štítku.

6. Požadované materiály, které nejsou součástí balení

- Systém STANDARD M10 s uživatelskou příručkou
Minimálně jedna konzola STANDARD M10 a jeden modul STANDARD M10.
- Nástroje pro odběr a přenos vzorků
 - Nádobka na vzorky
 - Zkumavka se šroubovacím uzávěrem
 - 0,067M fosfátový/H₂O pufr
 - Mikropipeta s filtračními špičkami
 - Roztok pro předúpravu (PS) - STANDARD™ M10 Sputum Pretreatment Kit (kat. č.: 11PRT10A)
 - Jednorázové kapátko - STANDARD™ M10 Sputum Pretreatment Kit (kat. č.: 11PRT10A)
 - Nástroj pro předúpravu - STANDARD™ M10 Sputum Pretreatment Kit (kat. č.: 11PRT10A)
- Osobní ochranné prostředky (OOP)
- Kontejner na biologicky nebezpečné materiály

7. Upozornění a bezpečnostní opatření

- 1) Tato souprava je určena pouze pro diagnostiku *in vitro*.
- 2) Pouze pro profesionální použití.
- 3) Před testováním si pozorně přečtěte návod k použití.
- 4) Nesprávný odběr vzorku, přeprava, skladování a zpracování vzorku mohou vést k chybnému výsledku testu.
- 5) Před použitím neodstraňujte bezpečnostní klip kazety.
- 6) Kazetu stlačujte až při skutečném použití.
- 7) Nepoužívejte kazetu, která vytekla nebo je mokrá.
- 8) Kazetu uchovávejte mimo dosah UV záření/slunce a v suchu.
- 9) Soupravu nepoužívejte po datu její expirace.
- 10) S kazetou netřepejte, nenaklánějte ji ani nepřevracejte, zejména po stisknutí kazety, abyste prorazili těsnění. Mohlo by to vést k neurčitým výsledkům.
- 11) Nepoužívejte kazetu s poškozeným štítkem s čárovým kódem.
- 12) Zpracované kazety nepoužívejte opakovaně.
- 13) Se všemi vzorky pacientů je třeba zacházet, jako by byly infekční.
- 14) Všechny materiály by měly být považovány za potenciálně infekční a mělo by se s nimi zacházet s dodržением bezpečnostních opatření.
- 15) Jelikož tento test zahrnuje extrakci bakteriální DNA a amplifikaci PCR, je třeba dbát na to, aby nedošlo ke kontaminaci. Doporučujeme pravidelné sledování kontaminace laboratoře.
- 16) Klinické laboratoře by měly být vybaveny zařízením a personálem v souladu s „Kodexem klinických laboratoří pro amplifikaci genů“.
- 17) Použití této soupravy se musí řídit pokyny; zpracování vzorku a další kroky je třeba provádět v biologicky bezpečné místnosti nebo v jiném základním ochranném zařízení a podle technických požadavků na laboratoře provádějící amplifikaci genů.
- 18) Při správné likvidaci použitých kazet a nepoužitých reagensů dodržujte postupy pro ekologický odpad vaší organizace.

8. Odběr, přeprava a skladování vzorků

Správný odběr, přeprava a skladování vzorků jsou pro provedení testu zásadní. Nesprávný odběr vzorku, nevhodná manipulace se vzorkem a/nebo jeho přeprava mohou vést k falešným výsledkům.

8.1. Odběr vzorků

Odeberte normální sputum podle standardního protokolu vaší organizace pro odběr vzorků a testujte normální sputum nebo koncentrovaný/dekontaminovaný sediment sputa.

Typ vzorku:

- Normální sputum ošetřené roztokem pro předúpravu (PS)
- Sediment sputa ošetřený roztokem pro předúpravu (PS)

Viz Tabulka 3 pro určení adekvátního objemu vzorku při předúpravě obou druhů vzorků pomocí roztoku pro předúpravu (PS).

Tabulka 3. Požadavek na objem vzorku

	Typ vzorku	
	Normální sputum	Sediment sputa
Minimální objem vzorku	0,5 ml	
Poměr vzorku k roztoku pro předúpravu (PS)	1:2 ¹⁾	

Poznámka: ¹⁾ V zásadě se používá poměr vzorku a předúpravného roztoku (PS) 1:2, ale v případě vzorku sputa s vysokou viskozitou lze použít až poměr 1:3. Místo toho je možné měnit citlivost podle změny poměru procesu předúpravy.

8.2. Skladování a přeprava vzorků

Vzorek skladujte a přepravujte v chladu (2 - 8 °C), chráněný před světlem.

9. Postup

9.1. Postup pro vzorek

9.1.1. Postup pro normální sputum

- 1) Připravte normální sputum do nádoby na odběr sputa a roztok pro předúpravu (PS).
- 2) Opatrně otevřete víčko nádoby na normální sputum a odstraňte pevné částice, které by mohly ovlivnit test.
- 3) Do normálního sputa přidejte přibližně dvojnásobek objemu PS (normální sputum : PS = 1:2) v nádobce a zajistěte víčko. Pokud je viskozita stále vysoká a není dostatečně zkapalněná pro testování i přes aplikaci PS, přidejte další PS až do poměru 1:3.

Například pokud je použito 0,5 ml normálního sputa a 1,0 ml PS, přidejte 0,5 ml PS, abyste dosáhli konečného poměru 1:3.

Poznámka: Pro další kroky je zapotřebí více než 0,5 ml normálního sputa.

- 4) Dvakrát energicky vířivě promíchejte po dobu 10 sekund, aby se normální sputum a PS zcela promíchaly.
- 5) Vzorek inkubujte 15 minut při pokojové teplotě.


9.1.2. Postup pro koncentrovaný/dekontaminovaný sediment sputa

- 1) Připravte sediment sputa v nádobě na odběr sputa a 0,067M fosfátový/H₂O pufr.
 - 2) Opatrně otevřete víčko nádoby na odběr sedimentu sputa a přidejte 0,067M fosfátový/H₂O pufr pro suspenzi.
- Poznámka:* Pro další kroky je zapotřebí více než 0,5 ml suspendovaného sedimentu sputa.
- 3) Dostatečně vířivě promíchejte, dokud nedojde k úplné suspenzi, a pomocí mikropipety přeneste 0,5 ml suspendovaného sedimentu do nové zkumavky se šroubovacím uzávěrem.
 - 4) Do suspendovaného sputa přidejte přibližně dvojnásobek objemu PS (suspendované sputum : PS = 1:2) ve zkumavce a zajistěte víčko. Pokud je viskozita stále vysoká, nestačí pro testování i přes aplikaci PS, přidejte více PS až do poměru 1:3.

Například pokud je použito 0,5 ml suspendovaného sedimentu sputa a 1,0 ml PS, přidejte 0,5 ml PS, abyste dosáhli konečného poměru 1:3.

- 6) Dvakrát energicky vířivě promíchejte po dobu 10 sekund a promíchejte suspendovaný sediment s PS.
- 7) Vzorek inkubujte 15 minut při pokojové teplotě.

9.2. Spuštění systému STANDARD M10

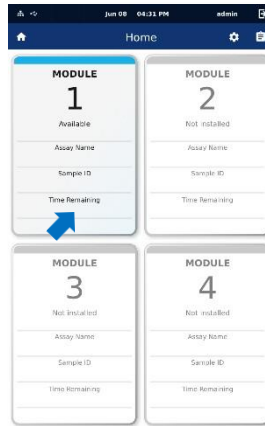
 Poznámka	Podrobné pokyny naleznete v uživatelské příručce systému STANDARD M10. Pokud jste naskenovali čárový kód kazety v systému STANDARD M10 a verze softwaru není kompatibilní, zobrazí se chybové hlášení "Not Supported Device" (Nepodporované zařízení). Před pokračováním testu aktualizujte software.
---	---

- 1) Zapněte systém STANDARD M10.
- 2) Zkontrolujte, zda je konzola STANDARD M10 a modul STANDARD M10 připojen a funkční.
- 3) Zadejte ID uživatele a heslo na přihlašovací obrazovce konzoly STANDARD M10 a klikněte na tlačítko Přihlásit (Log In).



Obrázek 2. Přihlašovací obrazovka

- 4) Na domovské (Home) obrazovce se dotkněte modulu STANDARD M10, který chcete spustit. (Dvířka vybraného modulu STANDARD M10 se automaticky otevřou pro vložení kazety.)



Obrázek 3. Domovská obrazovka

- 5) Zadejte ID pacienta (Patient ID) naskenováním čárového kódu nebo pomocí virtuální klávesnice na obrazovce konzoly M10. (ID pacienta je volitelné. Možnost zadávání ID pacienta můžete vypnout v nastavení (Settings)).



Obrázek 4. Zadání ID pacienta

- 6) Zadejte ID vzorku (Sample ID) naskenováním čárového kódu nebo pomocí virtuální klávesnice na obrazovce konzoly M10. Při skenování identifikačního čárového kódu vytištěného na zkumavce se vzorkem se ujistěte, že je uzávěr zkumavky pevně uzavřen. (Pro test kontroly kvality zaškrtněte políčko QC)





Obrázek 5. Zadání ID vzorku

- 7) Naskenujte kazetu STANDARD M10 MDR-TB, která se má použít. Modul STANDARD M10 automaticky rozpozná test, který se má provést, na základě čárového kódu kazety.



Obrázek 6. Skenování kazety

9.3. Vložení vzorku do kazety STANDARD M10 MDR-TB

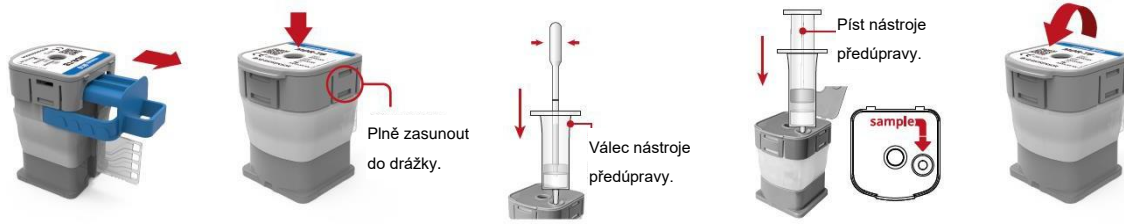
 Pozor	<p>Pokud byla kazeta uložena v chladničce, proveďte test po 30 minutách stabilizace při pokojové teplotě (20 - 28 °C). Test spusťte do 10 minut od vložení vzorku do kazety STANDARD M10 MDR-TB.</p>
 Poznámka	<p>Pokud je do kazety přidáno nedostatečné množství vzorku, může dojít k falešně negativním výsledkům.</p>

- 1) Odstraňte bezpečnostní klip umístěný pod víčkem kazety.
- 2) Hermeticky uzavřenou kazetu propíchněte zatlačením víčka, dokud zcela nezapadne do drážky kazety.
- 3) Před vložení vzorku otevřete víčko a zkontrolujte, zda je těsnění zcela propíchnuté.
- 4) Opatrně otevřete uzávěr zkumavky se vzorkem nebo vnější kontrolou.
- 5) Viz Obrázek 8. Přeneste příslušný objem připraveného vzorku do válce nástroje pro předúpravu pomocí jednorázového kapátka s indikací objemu. Vložte píst nástroje pro předúpravu a stiskněte jej, poté se do kazety vstříkne 1 ml filtrovaného vzorku.
- 6) Po několika sekundách se obrazovka Průvodce vzorkem (Sample Guide) automaticky změní na obrazovku Vložit kazetu (Insert Cartridge). Chcete-li průvodce přeskočit, dotkněte se obrazovky Sample Guide.



Obrázek 7. Obrazovka průvodce vzorku

7) Zavřete víčko.



Obrázek 8. Zakládání vzorku

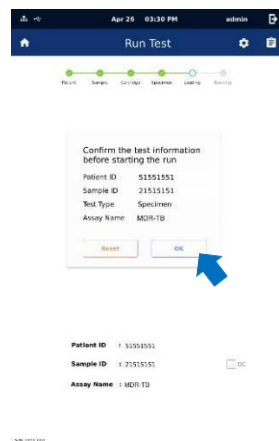
9.4. Provádění testu

Vložte kazetu do vybraného modulu STANDARD M10 tak, aby amplifikační komora směřovala dovnitř modulu. (Indikátor stavu vybraného modulu bude blikat zeleně.)



Obrázek 9. Obrazovka Vložit kazetu

- 1) Zcela zavřete dvířka.
- 2) Po potvrzení informací o vzorku a kazetě se dotkněte tlačítka OK na obrazovce. (Chcete-li informace zadat znovu, dotkněte se tlačítka Reset.)




Obrázek 10. Obrazovka potvrzení testu

- 3) Test se spustí automaticky a na obrazovce se zobrazí zbývající čas.



Obrázek 11. Obrazovka průběhu testu

- 4) Po dokončení testu se přepne na obrazovku Přehled (Review) a zobrazí se výsledek.
 5) Použité kazety zlikvidujte do příslušných kontejnerů na odpad ze vzorků podle standardních postupů vaší organizace.
 6) Chcete-li spustit další test, dotkněte se ikony Home (Domů)  a proces opakujte.
 (Pokud je k dispozici další modul STANDARD M10 připojený ke konzole STANDARD M10, můžete spustit nový test, zatímco probíhá jiný test.)

10. Interpretace výsledků

Výsledky jsou automaticky interpretovány konzolou STANDARD M10 a jsou přehledně zobrazeny na obrazovce Review. Test STANDARD M10 MDR-TB poskytuje výsledky testu založené na detekci příslušných cílových genů podle algoritmů uvedených v tabulce 4.







Tabulka 4. Interpretace výsledků









Výsledek	MTB		RIF		INH	
	MTB	IC	RIF	IC	INH	IC
Zjištěna MTB Zjištěna rezistence k RIF Zjištěna rezistence k INH	+	+/-	R+	+/-	R+	+/-
Zjištěna MTB Zjištěna rezistence k RIF Nezjištěna rezistence k INH	+	+/-	R+	+/-	R-	+
Zjištěna MTB Zjištěna rezistence k RIF Neurčitá rezistence k INH	+	+/-	R+	+/-	Rx	+
Zjištěna MTB Nezjištěna rezistence k RIF Zjištěna rezistence k INH	+	+/-	R-	+	R+	+/-
Zjištěna MTB Neurčitá rezistence k RIF Zjištěna rezistence k INH	+	+/-	Rx	+	R+	+/-
Zjištěna MTB Nezjištěna rezistence k RIF Nezjištěna rezistence k INH	+	+/-	R-	+	R-	+
Zjištěna MTB Nezjištěna rezistence k RIF Neurčitá rezistence k INH	+	+/-	R-	+	Rx	+


Zjištěna MTB Neurčitá rezistence k RIF Nezjištěna rezistence k INH	+	+/-	Rx	+	R-	+
Zjištěna MTB Neurčitá rezistence k RIF Neurčitá rezistence k INH	+	+/-	Rx	+	Rx	+
Nezjištěna MTB	-	+	Ner ele van tní	+	Ner ele van tní	+
Neplatný	-	-	Ner ele van tní	-	Ner ele van tní	-
Chyba	Žádný výsledek					

Výsledek	Interpretace
Zjištěna MTB Zjištěna rezistence k RIF Zjištěna rezistence k INH	<ul style="list-style-type: none"> ● Je detekována cílová DNA MTB (IS1081 a/nebo IS6110). ● V cílových sekvencích <i>rpoB</i> byla zjištěna mutace RIF. ● V cílových sekvencích <i>katG</i> a/nebo <i>inhA</i> byla zjištěna mutace INH. - Cílová MTB a mutace v signálech <i>rpoB</i>, <i>katG</i> a/nebo <i>inhA</i> mají hodnoty Ct v platném rozsahu a koncový bod nad minimálním nastavením. - IC: N/A (nerelevantní); IC signál lze ignorovat v případě, že cílový gen je pozitivní.
Zjištěna MTB Zjištěna rezistence k RIF Nezjištěna rezistence k INH	<ul style="list-style-type: none"> ● Je detekována cílová DNA MTB (IS1081 a/nebo IS6110). ● V cílových sekvencích <i>rpoB</i> byla zjištěna mutace RIF. ● V cílových sekvencích <i>katG</i> a/nebo <i>inhA</i> nebyla zjištěna mutace INH. - Cílová MTB a mutace RIF v signálech <i>rpoB</i> mají hodnoty Ct v platném rozsahu a koncový bod nad minimálním nastavením. - Mutace INH v signálech <i>katG</i> a/nebo <i>inhA</i> nemá hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový bod nad minimálním nastavením. - IC: N/A (nerelevantní); IC signál lze ignorovat v případě, že cílový gen je pozitivní. - IC: Platný; je detekován IC signál, protože cílový gen není amplifikován.
Zjištěna MTB Zjištěna rezistence k RIF Neurčitá rezistence k INH	<ul style="list-style-type: none"> ● Je detekována cílová DNA MTB IS1081 a/nebo IS6110. ● V cílových sekvencích <i>rpoB</i> byla zjištěna mutace RIF. ● Rezistenci k INH se nepodařilo určit. Cílová MTB a mutace v signálech <i>rpoB</i> mají hodnoty Ct v platném rozsahu a koncový bod nad minimálním nastavením. -IC: N/A (nerelevantní); IC signál lze ignorovat v případě, že cílový gen je pozitivní. -IC: Platný; je detekován IC signál, protože cílový gen není amplifikován.
Zjištěna MTB Nezjištěna rezistence k RIF Zjištěna rezistence k INH	<ul style="list-style-type: none"> ● Je detekována cílová DNA MTB (IS1081 a/nebo IS6110). ● V cílových sekvencích <i>rpoB</i> nebyla zjištěna žádná mutace RIF. ● V cílových sekvencích <i>katG</i> a/nebo <i>inhA</i> byla zjištěna mutace INH. - Cílová MTB a mutace INH v signálech <i>katG</i> a/nebo <i>inhA</i> mají hodnoty Ct v platném rozsahu a koncový bod nad minimálním nastavením. - Mutace RIF v signálech <i>rpoB</i> nemá hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový bod nad minimálním nastavením. - IC: N/A (nerelevantní); IC signál lze ignorovat v případě, že cílový gen je pozitivní. - IC: Platný; je detekován IC signál, protože cílový gen není amplifikován.

Výsledek	Interpretace
Zjištěna MTB Neurčitá rezistence k RIF Zjištěna rezistence k INH	<ul style="list-style-type: none"> ● Je detekována cílová DNA MTB IS1081 a/nebo IS6110. ● Rezistenci k RIF se nepodařilo určit. ● V cílových sekvencích <i>katG</i> a/nebo <i>inhA</i> byla zjištěna mutace INH. <ul style="list-style-type: none"> - Cílová MTB a mutace v signálech <i>katG</i> a/nebo <i>inhA</i> mají hodnoty Ct v platném rozsahu a koncový bod nad minimálním nastavením. -IC: N/A (nerelevantní); IC signál lze ignorovat v případě, že cílový gen je pozitivní. -IC: Platný; je detekován IC signál, protože cílový gen není amplifikován.
Zjištěna MTB Nezjištěna rezistence k RIF Nezjištěna rezistence k INH	<ul style="list-style-type: none"> ● Je detekována cílová DNA MTB (IS1081 a/nebo IS6110). ● V cílových sekvencích <i>rpoB</i> nebyla zjištěna žádná mutace RIF. ● V cílových sekvencích <i>katG</i> a/nebo <i>inhA</i> nebyla zjištěna mutace INH. <ul style="list-style-type: none"> - Cílový signál MTB má hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový bod nad minimálním nastavením. - Mutace RIF a INH v signálech <i>rpoB</i>, <i>katG</i> a/nebo <i>inhA</i> nemají hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový bod nad minimálním nastavením. - IC: N/A (nerelevantní); IC signál lze ignorovat v případě, že cílový gen je pozitivní. - IC: Platný; je detekován IC signál, protože cílový gen není amplifikován.
Zjištěna MTB Nezjištěna rezistence k RIF Neurčitá rezistence k INH	<ul style="list-style-type: none"> ● Je detekována cílová DNA MTB IS1081 a/nebo IS6110. ● V cílových sekvencích <i>rpoB</i> nebyla zjištěna žádná mutace RIF. ● Rezistenci k INH se nepodařilo určit. <ul style="list-style-type: none"> - Mutace RIF v signálech <i>rpoB</i> nemá hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový bod nad minimálním nastavením. -IC: N/A (nerelevantní); IC signál lze ignorovat v případě, že cílový gen je pozitivní. ● -IC: Platný; je detekován IC signál, protože cílový gen není amplifikován.
Zjištěna MTB Neurčitá rezistence k RIF Nezjištěna rezistence k INH	<ul style="list-style-type: none"> ● Je detekována cílová DNA MTB IS1081 a/nebo IS6110. ● Rezistenci k RIF se nepodařilo určit. ● V cílových sekvencích <i>katG</i> a/nebo <i>inhA</i> nebyla zjištěna žádná mutace INH. <ul style="list-style-type: none"> -Mutace INH v signálech <i>katG</i> a/nebo <i>inhA</i> nemá hodnotu Ct v platném rozsahu a koncový bod nad minimálním nastavením. -IC: N/A (nerelevantní); IC signál lze ignorovat v případě, že cílový gen je pozitivní. -IC: Platný; je detekován IC signál, protože cílový gen není amplifikován.
Zjištěna MTB Neurčitá rezistence k RIF Neurčitá rezistence k INH	<ul style="list-style-type: none"> ● Je detekována cílová DNA MTB IS1081 a/nebo IS6110. ● Rezistenci k RIF se nepodařilo určit. ● Rezistenci k INH se nepodařilo určit. <ul style="list-style-type: none"> -IC: N/A (nerelevantní); IC signál lze ignorovat v případě, že cílový gen je pozitivní. ● -IC: Platný; je detekován IC signál, protože cílový gen není amplifikován.
Nezjištěna MTB	<ul style="list-style-type: none"> ● Není detekována cílová DNA MTB (IS1081 a/nebo IS6110). ● V cílových sekvencích <i>rpoB</i> nebyla zjištěna žádná mutace RIF. ● V cílových sekvencích <i>katG</i> a/nebo <i>inhA</i> nebyla zjištěna žádná mutace INH. <ul style="list-style-type: none"> - IC: Platný; je detekován IC signál, protože cílový gen není amplifikován.
Neplatný případ	<ul style="list-style-type: none"> ● Není detekována cílová DNA MTB (IS1081 a/nebo IS6110). ● V cílových sekvencích <i>rpoB</i> nebyla zjištěna žádná mutace RIF. ● V cílových sekvencích <i>katG</i> a/nebo <i>inhA</i> nebyla zjištěna žádná mutace INH. <ul style="list-style-type: none"> - IC: Neplatný; IC a signály DNA nemají hodnoty Ct v platném rozsahu ● Opakujte test.
Chyba	<ul style="list-style-type: none"> ● Přítomnost MTB nebo nepřítomnost cílových nukleových kyselin nelze určit. ● Opakujte test.

Výsledek případu	Výsledek	Popis
Domovská obrazovka	Obrazovka přehledu	
Zjištěna pozitivní rezistence k RIF		MTB pozitivní a rezistence k RIF a/nebo INH pozitivní
Nezjištěna rezistence nezjištěna		MTB pozitivní a rezistence k RIF a/nebo INH negativní
Neurčena pozitivní rezistence		MTB pozitivní a rezistence k RIF a/nebo INH nemůže být určena
Negativní		MTB negativní
Neplatný		Neplatný
Chyba		Chyba

Výsledek	Popis
Obrazovka souhrnu	
	MTB pozitivní
	MTB negativní
	Rezistence zjištěna
	Rezistence nezjištěna
	Rezistenci nelze určit
	IC platný
	IC neplatný
	Chyba

	<p>Poznámka</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pokud je IC negativní a výsledky pro některý z cílů jsou pozitivní, výsledky pro všechny cíle se považují za platné. Vysoký počet kopií cílově specifického genu může vést ke sníženému nebo žádnému IC. - Pokud se u jednoho nebo více výsledků patogenů potvrdí neplatný výsledek, budou tyto testy zneplatněny. Proved'te opakovaný test. - Pokud je signál MTB detekován, ale není dostatečně silný pro posouzení rezistence, je možný výsledek Rezistence neurčitá.
---	---

11. Kontrola kvality

Postupy kontroly kvality jsou určeny ke sledování výkonnosti kazety a testu. Pokud kontroly nejsou platné, nelze výsledky pacientů interpretovat.

Vnitřní kontrola (IC): Zajišťuje, že byl použit správný vzorek, reagenty v kazetě jsou dobře funkční, ve vzorku nebyly žádné další rušivé faktory a postup byl proveden správně. V klinických vzorcích, které vykazují pozitivní signál pro MTB a mutace pro RIF/INH, je IC rozporná a ignoruje se. Pokud IC selže v případě, že nejsou zjištěny žádné MTB a/nebo mutace, je výsledek neplatný.

Externí kontroly by měly být použity v souladu s místními, státními a případně federálními akreditačními organizacemi.


















12. Omezení

- 1) Výkonnostní charakteristiky tohoto testu byly stanoveny pouze s typy vzorků uvedenými v oddíle Určené použití. Výkonnost tohoto testu s jinými typy vzorků nebo vzorků nebyla hodnocena.
- 2) K falešně negativnímu výsledku může dojít, pokud:
 - koncentrace vzorku je blízko nebo pod mezí detekce testu
 - vzorek je nesprávně odebrán, přepravován nebo je s ním nesprávně manipulováno
 - ve vzorku je přítomno nedostatečné množství organismů
 - kazety jsou vystaveny nevhodným faktorům prostředí (teplota/vlhkost)
- 3) K falešně pozitivním výsledkům může dojít v důsledku křížové kontaminace mezi vzorky pacientů, záměny vzorků a/nebo kontaminace DNA při manipulaci s produktem.
- 4) Kvalitativní detekce pozitivních výsledků v této soupravě neindikuje přítomnost cílového genu. Pro potvrzení se doporučuje použít současně další metody.
- 5) Tato souprava klasifikuje a identifikuje pouze komplex *M. tuberculosis*, multirezistentní (rifampin a isoniazid). Výsledky testu jsou určeny pouze pro klinické účely. Klinická diagnostika a léčba pacientů musí probíhat podle symptomů, medicínské historie, dalších laboratorních testů a odezvy na léčbu.
- 6) Případné mutace v cílových oblastech pokrytých primerem a/nebo sondami testu mohou vést k tomu, že se nepodaří zjistit přítomnost patogenu.

13. Literatura

- 1) Centers for Disease Control and Prevention. (2009). Updated guidelines for the use of nucleic acid amplification tests in the diagnosis of tuberculosis. Centers for Disease Control and Prevention.
- 2) Kent, P. T., & Kubica, G. P. (1985). Public health Mycobacteriology a guide for the Level Iii Laboratory. U.S. Dep. of Health and Human Services.
- 3) Lawn, S. D., & Zumla, A. I. (2011). Tuberculosis. The Lancet, 378(9785), 57–72. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(10\)62173-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(10)62173-3)
- 4) Ormerod, L. P. (2005). Multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB): Epidemiology, prevention and treatment. British Medical Bulletin, 73-74(1), 17–24. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldh047>
- 5) Pang, Y., Lu, J., Wang, Y., Song, Y., Wang, S., & Zhao, Y. (2013). Study of the rifampin monoresistance mechanism in mycobacterium tuberculosis. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 57(2), 893–900. <https://doi.org/10.1128/aac.01024-12>
- 6) Riva, S., & Silvestri, L. G. (1972). Rifamycins: A general view. Annual Review of Microbiology, 26(1), 199–224. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.26.100172.001215>
- 7) Unissa, A. N., Subbian, S., Hanna, L. E., & Selvakumar, N. (2016). Overview on mechanisms of isoniazid action and resistance in mycobacterium tuberculosis. Infection, Genetics and Evolution, 45, 474–492. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.09.004>
- 8) Medecins Sans Frontieres(MSF) medical guidelines. (2022) Tuberculosis
- 9) World Health Organization. (2021). Tuberculosis (TB). World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>
- 10) World Health Organization. (2008). Molecular line probe assays for rapid screening of patients at risk of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB).

14. Symboly

	Referenční číslo		Kód šarže
	Zdravotnický prostředek pro <i>in vitro</i> diagnostiku		Označení CE - Evropská shoda
	Viz návod k použití		Výrobce
	Obsah dostačuje pro <n> testů		Datum výroby
	Upozornění		Oprávněný zástupce v Evropském společenství
	Poznámka		Uchovávejte v suchu
	Nepoužívejte opakovaně		Uchovávejte mimo dosah slunečního záření
	Teplotní limit		Nepoužívejte jej, je-li poškozen obal
	Použitelné do		

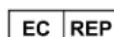
Pro další informace o
STANDARD M10
MDR-TB

kontaktujte vašeho
distributora SD BIOSENSOR

 **SD Biosensor, Inc,**

Sídlo: C-4th&5th, 16, Deogyong-daero 1556beon-gil, Yeongtong-gu,
Suwon-si, Gyeonggi-do, 16690, KOREJSKÁ REPUBLIKA

Výrobní závod: 14, Jeungpyeongsandan-ro, Jeungpyeong-eup,
Jeungpyeong-gun, Chungcheongbuk-do, 27915



Oprávněný zástupce -----

MT Promedt Consulting GmbH

Ernst-Heckel-Straße 7 66386 St Ingbert, Německo
Telefon: +49 6894 581020, Fax: +49 6894 581021



Pouze pro *in vitro* diagnostiku

Dotazy k pokynům zasílejte na: ts@sdbiosensor.com nebo nás můžete rovněž kontaktovat přes www.sdbiosensor.com