



cobas[®] MTB

Prueba de ácidos nucleicos para uso en los cobas[®] 6800/8800 Systems

Para diagnóstico in vitro

cobas[®] MTB	P/N: 08412197190
cobas[®] MTB Positive Control Kit	P/N: 07544812190
cobas[®] 6800/8800 Buffer Negative Control Kit	P/N: 07002238190
cobas[®] Microbial Inactivation Solution (MIS)	P/N: 08185476001

Tabla de contenido

Uso previsto	4
Resumen y explicación de la prueba	4
Reactivos y materiales.....	7
Reactivos y controles de cobas® MTB	7
Reactivos cobas omni para la preparación de muestras	9
cobas® Microbial Inactivation Solution	10
Requisitos de almacenamiento y manipulación.....	11
Material adicional necesario	12
Instrumentos y software necesarios.....	13
Precauciones y requisitos de manipulación	14
Advertencias y precauciones.....	14
Manipulación de reactivos	15
Buenas prácticas de laboratorio.....	15
Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras.....	16
Muestras	16
Transporte y almacenamiento de las muestras	16
Almacenamiento de muestras inactivadas.....	16
Instrucciones de uso	17
Notas sobre el procedimiento	17
Procesamiento de muestras de esputo sin procesar.....	20
Procesamiento de sedimentos de esputo y de LBA.....	20
Sonicación de las muestras.....	21
Ejecución de la prueba cobas® MTB.....	22
Resultados	24
Control de calidad y validez de los resultados.....	24
Interpretación de los resultados	24

Interpretación de los resultados	24
Limitaciones del procedimiento	25
Evaluación del rendimiento	27
Características clave de rendimiento	27
Inactivación de la muestra	27
Límite de detección (LoD).....	27
Inclusividad	27
Precisión.....	28
Especificidad analítica/reactividad cruzada	29
Interferencia	32
Fallo de todo el sistema	33
Contaminación por arrastre.....	33
Rendimiento con muestras clínicas.....	34
Información adicional	36
Características principales del ensayo	36
Símbolos	37
Fabricante y distribuidores	38
Marcas registradas y patentes	38
Copyright.....	38
Bibliografía	39
Revisión del documento	40

Uso previsto

cobas® MTB para uso en los cobas® 6800/8800 Systems es una prueba cualitativa automatizada de diagnóstico *in vitro* que utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real para la detección directa de ADN del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) en muestras respiratorias humanas inactivadas en frotis positivos o negativos a bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR), incluidas muestras de esputo sin procesar inactivadas, así como muestras de esputo y de lavado broncoalveolar (LBA) inactivadas, digeridas y descontaminadas (tratadas con N-acetil-L-cisteína/NaOH [NALC-NaOH]).

Esta prueba debe utilizarse con muestras procedentes de pacientes sospechosos de infección por *Mycobacterium tuberculosis* que no estén en tratamiento antituberculosis. Esta prueba está diseñada como complemento en el diagnóstico de tuberculosis pulmonar junto con hallazgos obtenidos de cultivos y otras técnicas de laboratorio, así como síntomas y signos clínicos.

Resumen y explicación de la prueba

Información de referencia

La tuberculosis es una infección bacteriana causada por las especies del MTBC. La tuberculosis es un problema sanitario global de primer orden y es la causa principal de muertes por enfermedades infecciosas a nivel mundial.^{1,2} La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima la existencia de cerca de 2.000 millones de personas infectadas por MTB, con una estimación de 10,4 millones de nuevas infecciones por TB y más de 1,6 millones de muertes en 2016.¹ Esto incluye aproximadamente 1,2 millones de infecciones por TB en personas con VIH/SIDA (PVS), y 374.000 muertes en esta población.¹

El complejo *M. tuberculosis* comprende un grupo de especies estrechamente relacionadas con el género de *Mycobacterium* que causa enfermedad en humanos y animales y que incluye *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG (bacilo de Calmette-Guérin), *M. africanum*, *M. canetti*, *M. microti*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. mungi*, *M. suricattae* y *M. orygis*. Mientras que la infección con cualquier miembro del complejo MTB puede derivar en tuberculosis, la especie *M. tuberculosis* es la causa más frecuente. La enfermedad pulmonar es la patología más común causada por el complejo MTB. Puede presentarse una enfermedad extrapulmonar, si bien esta es relativamente más prevalente en niños. La especie *M. bovis* es la causa de la tuberculosis en hasta un 2,8% de pacientes en todo el mundo.³ Los miembros del complejo MTB distintos a *M. bovis* y *M. tuberculosis* son causas aún menos frecuentes de enfermedad en humanos. La especie *M. africanum* se ha relacionado con tuberculosis en países de África Occidental, la especie *M. canetti* con el Cuerno de África y la especie *M. orygis* causa tuberculosis en humanos y animales desde África hasta Asia del Sur. La especie *M. caprae* se considera una subespecie de *M. bovis*. La especie *M. microti* es causa de la enfermedad principalmente en roedores, la especie *M. pinnipedii* se relaciona con la enfermedad en focas y la especie *M. suricattae* provoca tuberculosis en suricatas de África del Sur. La especie *M. mungi* se ha identificado como causa de la tuberculosis en mangostas rayadas.⁴

La tuberculosis se contagia entre las personas a través de pequeñas gotas procedentes de las vías respiratorias. La mayoría de los afectados por la *M. tuberculosis* son asintomáticos y pueden contener la enfermedad después de la infección primaria. A esto se le denomina una infección de tuberculosis latente. Las infecciones latentes pueden durar décadas y, en la mayoría de los casos, no convertirse nunca en una enfermedad clínica. En algunas personas, el organismo vence las defensas inmunitarias, lo que provoca la progresión de una infección de tuberculosis latente a una tuberculosis activa. Esto suele ocurrir, o bien en los dos primeros años de infección, o bien después de periodos prolongados de latencia. En general, existe un riesgo del 5-10% de que los pacientes con infección latente desarrollen una enfermedad de TB activa; sin

embargo, el riesgo varía como resultado de numerosos factores, pudiendo aumentar significativamente por la inmunosupresión derivada del tratamiento con “agentes biológicos”⁵ (p. ej., inhibidores del FNT) y la infección por VIH.^{6,7} Las personas que padecen una enfermedad de TB pulmonar activa pueden expulsar pequeñas gotitas al toser o al hablar o durante los procedimientos médicos. Las personas con una enfermedad pulmonar activa se consideran altamente infecciosas, por lo que resulta imprescindible su diagnóstico.

El diagnóstico de una TB activa se basa en los hallazgos o sospechas clínicas, así como en estudios de laboratorio y radiográficos. Se puede solicitar a los pacientes que suministren muestras respiratorias para frotis y cultivos de bacterias ácido-alcohol resistentes (BAAR), así como para pruebas de amplificación de ácidos nucleicos. Resulta imprescindible realizar el cultivo junto con las pruebas de ácidos nucleicos para ayudar a mitigar el riesgo de resultados negativos falsos y para contribuir a las pruebas de sensibilidad a fármacos en pacientes con resultados positivos.

El tratamiento de la tuberculosis implica una administración prolongada de varios fármacos y suele ser efectivo. Sin embargo, el tratamiento de cepas de MTB resistentes a uno o varios fármacos dificulta la curación. El tratamiento de la TB multirresistente a fármacos es complejo y requiere la administración de múltiples medicamentos tóxicos para una mayor duración que los pacientes de TB farmacosensible, con una menor probabilidad de éxito del tratamiento.⁸ El tratamiento de la TB ultrarresistente se asocia a resultados más deficientes que la TB multirresistente y presenta mayores índices de mortalidad entre personas infectadas con VIH.¹

El diagnóstico de la infección de TB puede establecerse gracias a la presentación clínica, los hallazgos de laboratorio y radiográficos, incluidos frotis/cultivos de bacterias ácido-alcohol resistentes, y las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos. Adicionalmente, también pueden utilizarse ensayos que miden la respuesta de anticuerpos o antígenos (p. ej., la prueba cutánea de la tuberculina o el ensayo de liberación de interferón gamma [INF γ] (IGRA)).² Sin embargo, la prueba cutánea de la tuberculina y los ensayos IGRA suelen arrojar resultados negativos en la enfermedad activa. El diagnóstico se confirma mediante la recuperación del organismo en el cultivo o mediante la detección directa del ácido nucleico del complejo MTB en una muestra clínica. Para confirmar el tratamiento empírico apropiado, se requiere la realización de pruebas de farmacosenibilidad, pero estas requieren un subcultivo de aislados clínicos y son lentas, pues se necesitan de semanas a meses para la obtención de resultados según el método empleado. De forma alternativa, los marcadores de farmacorresistencia pueden detectarse directamente a partir de muestras mediante métodos moleculares para obtener resultados más rápidamente. Dada la naturaleza infecciosa de la MTB y la presencia de una resistencia emergente, un diagnóstico rápido y preciso es de vital importancia para el tratamiento y el control de la MTB.²

Explicación de la prueba

La prueba cobas® MTB para uso en los cobas® 6800/8800 Systems (referida en lo sucesivo como cobas® MTB en el resto de este documento) es una prueba cualitativa automatizada de PCR a tiempo real diseñada para detectar ADN del complejo MTB en muestras respiratorias humanas inactivadas en frotis positivos o negativos a bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR); incluidas muestras de esputo sin procesar inactivadas, y sedimentos de esputo y de lavado broncoalveolar (LBA) inactivados, digeridos y descontaminados, tratados con NALC-NaOH. El control interno de ADN, utilizado para supervisar el proceso completo de preparación de la muestra y amplificación de la PCR en el cobas® 6800/8800 System, se introduce en cada muestra durante el procesamiento. Además, la prueba utiliza un control positivo de título bajo y un control negativo.

Principios del procedimiento

La prueba cobas® MTB se basa en la licuefacción de la muestra y la inactivación de micobacterias en la preanalítica seguidas de una sonicación de la muestra y la preparación de la muestra totalmente automatizada (extracción y purificación de los ácidos nucleicos) y la amplificación y detección mediante PCR. Los procesos de licuefacción de la muestra e inactivación de micobacterias tienen lugar de forma simultánea durante la incubación de la muestra con el reactivo cobas® Microbial Inactivation Solution (MIS). La sonicación de la muestra licuada e inactivada se realiza antes de cargarla en los cobas® 6800/8800 Systems. Los cobas® 6800/8800 Systems constan del módulo de suministro de muestras, el módulo de transferencia, el módulo de procesamiento y el módulo analítico. La gestión automática de los datos se realiza mediante el software cobas® 6800/8800, que asigna los resultados de las pruebas como positivos, negativos o no válidos. Los resultados pueden revisarse directamente en la pantalla del sistema, exportarse o imprimirse como informe.

La extracción de ácidos nucleicos de las muestras de paciente, los controles externos y las moléculas de ADN del control interno añadido (DNA-IC) se realiza simultáneamente. En resumen, los ácidos nucleicos bacterianos se liberan mediante la ruptura química (cobas® Microbial Inactivation Solution [MIS], cobas omni Lysis Reagent), enzimática (proteínasa) y física (sonicación) de las bacterias. Los ácidos nucleicos liberados se unen a la superficie de sílice de las partículas de vidrio magnéticas añadidas. Las sustancias sin unir y las impurezas, como las proteínas desnaturalizadas, los restos celulares y los posibles inhibidores de la PCR se eliminan en los siguientes pasos de lavado, mientras que los ácidos nucleicos purificados se eluyen de las partículas de vidrio magnéticas mediante el buffer de elución a temperatura elevada.

La amplificación selectiva de los ácidos nucleicos del fragmento objetivo de la muestra se lleva a cabo mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos para el fragmento objetivo del complejo MTB que se seleccionan de regiones altamente conservadas dentro del respectivo organismo objetivo. La MTB se detecta mediante dos conjuntos selectivos de cebadores y dos sondas dirigidos a regiones independientes (fragmento objetivo doble, gen ARNr 16S y genes *esx - esxJ*, *esxK*, *esxM*, *esxP* y *esxW*). La amplificación selectiva de control interno de ADN (DNA-IC) se realiza mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos de la secuencia y que se seleccionan de modo que no presenten ninguna homología con las regiones del fragmento objetivo del complejo MTB. Para el proceso de amplificación mediante PCR se utiliza una enzima ADN polimerasa termoestable. La amplificación de las secuencias de fragmento objetivo y DNA-IC se realiza simultáneamente mediante un perfil universal de amplificación mediante PCR que incluye unos pasos de temperatura y número de ciclos predefinidos. El reactivo de Master Mix incluye trifosfato de deoxiuridina (dUTP), en lugar de trifosfato desoxitimidina (dTTP), que se incorpora al ADN recién sintetizado (amplicón). La enzima AmpErase, que se incluye en la Master Mix para PCR cuando se calienta durante la primera ciclación térmica, elimina los amplicones contaminados de las series de PCR anteriores.⁹ Sin embargo, no se eliminan los amplicones nuevos porque la enzima AmpErase se inactiva cuando se expone a temperaturas superiores a los 55 °C.

El reactivo de Master Mix de cobas® MTB contiene dos sondas de detección específicas para las secuencias objetivo del complejo MTB y una para el DNA-IC. Las sondas específicas para el fragmento objetivo están marcadas con distintos marcadores emisores fluorescentes que permiten la detección simultánea del fragmento objetivo del complejo MTB y el DNA-IC en dos canales objetivo distintos.^{10,11} Cuando no se une a la secuencia objetivo, la señal fluorescente de las sondas intactas se elimina mediante un marcador silenciador. Durante el paso de amplificación mediante PCR, la hibridación de las sondas con la plantilla específica de ADN monocatenario provoca la escisión de la sonda por la actividad de la exonucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa, lo que causa la separación de los marcadores emisor y silenciador y la emisión de una señal fluorescente. Con cada ciclo de PCR, se generan cantidades crecientes de sondas escindidas y la señal acumulada del marcador emisor aumenta concomitantemente. La detección y diferenciación en tiempo real de los productos de PCR se consigue mediante cuantificación de la fluorescencia liberada por los marcadores emisores para los fragmentos objetivo del complejo MTB y del DNA-IC, respectivamente.

Reactivos y materiales

Reactivos y controles de cobas® MTB

Todos los reactivos y controles sin abrir deben almacenarse como se recomienda en la Tabla 1 a la Tabla 5.

Tabla 1 cobas® MTB

cobas® MTB		
Almacenar a 2-8 °C		
Casete para 384 pruebas (P/N 08412197190)		
Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit
Solución de proteinasa (PASE)	Buffer Tris, < 0,05% de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8% de proteinasa EUH210: Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad. EUH208: Contiene subtilisina de <i>Bacillus subtilis</i> . Puede provocar una reacción alérgica.	38 ml
Control interno de ADN (DNA-IC)	Buffer Tris, < 0,05% de EDTA, < 0,001% de constructo de ADN diferente de MTB, 0,002% de ARN Poli rA (sintético), < 0,1% de azida sódica	38 ml
Buffer de elución (EB)	Buffer Tris, 0,2% de metil-4-hidroxibenzoato	38 ml
Reactivo 1 de Master Mix (MMX-R1)	Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1% de azida sódica	14,5 ml
Reactivo 2 de Master Mix para MTB (MTB MMX-R2)	Buffer Tricina, acetato de potasio, EDTA, glicerol, < 18% de sulfóxido de dimetilo, < 0,12% de dATP, dCTP, dGTP y dUTP, < 0,1% de Tween 20, < 0,1% de azida sódica, < 0,1% de ADN polimerasa Z05, < 0,1% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,01% de cebadores que van en un sentido y en otro para el control interno, < 0,01% de cebadores ascendente y descendente para MTB, < 0,01% de sondas oligonucleótidas marcadas con fluorescente específicas para el complejo MTB y el control interno de ADN, < 0,01% de aptámero oligonucleótido	17,5 ml

Tabla 2 cobas® MTB Positive Control Kit

cobas® MTB Positive Control Kit		
Almacenar a 2-8 °C		
(P/N: 07544812190)		
Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit
Control positivo para MTB (MTB (+) C)	Buffer Tris, < 0,05% de azida sódica, < 0,05% de EDTA, < 0,002% de poli Ar, < 0,01% de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencia genómica de <i>M. tuberculosis</i> .	16 ml (16 x 1 ml)

Tabla 3 cobas® 6800/8800 Buffer Negative Control Kit**cobas® 6800/8800 Buffer Negative Control Kit**

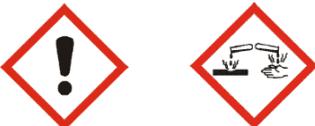
Almacenar a 2-8 °C

(P/N 07002238190)

Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit
Control negativo para el buffer de cobas® 6800/8800 (BUF (-) C)	Buffer Tris, < 0,1% de azida sódica, EDTA, < 0,002% de ARN poli Ar (sintético)	16 ml (16 x 1 ml)

Reactivos cobas omni para la preparación de muestras

Tabla 4 Reactivos **cobas omni** para la preparación de muestras*

Reactivos	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997546190)	Partículas de vidrio magnéticas, buffer Tris, 0,1% de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1% de azida sódica	480 pruebas	No aplicable
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997511190)	Buffer Tris, 0,1% de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1% de azida sódica	4 x 875 ml	No aplicable
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997538190)	43% (p/p) de tiocianato de guanidina, 5% (p/v) de polidocanol, 2% (p/v) de ditiotreitol, citrato de sodio dihidratado	4 x 875 ml	 <p>Peligro</p> <p>H302 + H332: Nocivo en caso de ingestión o inhalación.</p> <p>H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.</p> <p>H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.</p> <p>EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.</p> <p>P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/ la niebla/los vapores/el aerosol.</p> <p>P273: Evítese su liberación al medio ambiente.</p> <p>P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.</p> <p>P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitar inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuagar la piel con agua.</p> <p>P304 + P340 + P310: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/ médico.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/ médico.</p>
cobas omni Wash Reagent (WASH) Almacenar a 15-30 °C (P/N: 06997503190)	Citrato de sodio dihidratado, 0,1% de metil-4-hidroxibenzoato	4,2 l	No aplicable

* Estos reactivos no están incluidos en el kit **cobas**® MTB. Consulte el listado de material adicional necesario (Tabla 10).

** Las etiquetas de seguridad del producto se basan fundamentalmente en la regulación GHS de la UE.

cobas® Microbial Inactivation Solution

Tabla 5 cobas® Microbial Inactivation Solution*

Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia**
cobas® Microbial Inactivation Solution (MIS)	Buffer Tris, 60% (v/v) de isopropanol, 1% (p/v) de timol, 18,9% (p/v) de tiocianato de guanidinio, 1,4% (p/v) de hidrocloreuro de fosfina tris (2-carboxetil), 0,4% (p/v) de Tween 20	480 ml (16 x 30 ml)	 <p>Peligro</p> <p>H225: Líquido y vapores muy inflamables.</p> <p>H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.</p> <p>H336: Puede provocar somnolencia o vértigo.</p> <p>H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.</p> <p>EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.</p> <p>P210: Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar.</p> <p>P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.</p> <p>P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuagar la piel con agua.</p> <p>P304 + P340 + P310: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico.</p> <p>P370 + P378: En caso de incendio: Utilizar arena seca, polvo químico seco o espuma resistente al alcohol para la extinción.</p>

* Este reactivo no está incluido en el kit cobas® MTB.

** Las etiquetas de seguridad del producto se basan fundamentalmente en la regulación GHS de la UE.

Requisitos de almacenamiento y manipulación

Los reactivos deben almacenarse y manipularse según las indicaciones de la Tabla 6 y la Tabla 7.

Cuando los reactivos no están cargados en los cobas® 6800/8800 Systems, almacénelos a la temperatura correspondiente especificada en la Tabla 6.

Tabla 6 Almacenamiento de reactivos (cuando el reactivo no está cargado en el sistema)

Reactivo	Temperatura de almacenamiento
cobas® MTB	2-8 °C
cobas® MTB Positive Control Kit	2-8 °C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2-8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2-8 °C
cobas omni MGP Reagent	2-8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2-8 °C
cobas omni Wash Reagent	15-30 °C (temperatura ambiente)

Una vez cargados en los cobas® 6800/8800 Systems, los reactivos se almacenan automáticamente a la temperatura correspondiente adecuada y el sistema controla su fecha de caducidad. Los cobas® 6800/8800 Systems solamente permiten utilizar los reactivos cuando se cumplen todas las condiciones indicadas en la Tabla 7. El sistema evita automáticamente el uso de reactivos caducados. La Tabla 7 ayuda al usuario a entender las condiciones de manipulación de los reactivos de los cobas® 6800/8800 Systems.

Tabla 7 Condiciones de caducidad de los reactivos de los cobas® 6800/8800 Systems

Reactivo	Estabilidad del kit abierto	Series en las que se puede utilizar el kit	Periodo de estabilidad (horas acumuladas de carga fuera de la nevera)
cobas® MTB	90 días desde el primer uso*	Máx. 40 series	Máx. 40 horas
cobas® MTB Positive Control Kit	No aplicable	No aplicable	Máx. 10 horas
cobas® Buffer Negative Control Kit	No aplicable	No aplicable	Máx. 10 horas
cobas omni Lysis Reagent	30 días desde la carga*	No aplicable	No aplicable
cobas omni MGP Reagent	30 días desde la carga*	No aplicable	No aplicable
cobas omni Specimen Diluent	30 días desde la carga*	No aplicable	No aplicable
cobas omni Wash Reagent	30 días desde la carga*	No aplicable	No aplicable

* El tiempo se calcula desde la primera vez que se carga el reactivo en los cobas® 6800/8800 Systems.

Almacene el reactivo MIS a la temperatura especificada en la Tabla 8.

Tabla 8 Almacenamiento de **cobas®** Microbial Inactivation Solution

Reactivo	Temperatura de almacenamiento
MIS	2-8 °C

Sin abrir, el reactivo MIS se conserva estable hasta la fecha de caducidad indicada. Una vez abierto, este reactivo se mantiene estable durante 30 días cuando se almacena a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C, incluidas 5 horas acumuladas a 15-30 °C (temperatura ambiente), o bien hasta la fecha de caducidad, lo que se produzca primero, según se especifica en la Tabla 9.

Tabla 9 Condiciones de caducidad de **cobas®** Microbial Inactivation Solution

Reactivo	Fecha de caducidad del kit	Estabilidad del kit abierto	Serie en las que se puede utilizar el kit	Estabilidad a 15-30 °C (temperatura ambiente)
MIS	No caducado	30 días desde el primer uso	No aplicable	Máx. 5 horas

Material adicional necesario

Tabla 10 Material y material fungible para uso en los **cobas®** 6800/8800 Systems

Material	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Bolsa para residuos sólidos	07435967001
Recipiente de residuos sólidos	07094361001
MPA RACK 13 MM LIGHT GREEN 7001-7050*	03.118.878.001 o equivalente

* Se necesitan racks MPA de 13 mm para la prueba **cobas®** MTB. Póngase en contacto con su representante local de Roche para obtener una lista de pedido detallada para racks de muestras, racks para puntas obstruidas y bandejas de racks compatibles con cada instrumento.

Tabla 11 Otros materiales y consumibles necesarios únicamente para el flujo de trabajo preanalítico

Material
Sonicador de tubos TS 5 (Rinco Ultrasonics AG - P/N 46690)
Tubos de polipropileno de 5 ml con tapones de rosca de 75 x 13 mm, base redonda (Sarstedt - P/N de los tubos 60.504.010, P/N de los tapones de rosca 65.163)*
MPA RACK 13 MM LIGHT GREEN 7001-7050 (Roche - P/N 03118878001 o equivalente)**
Centrífuga (opción para limitar la FCR a un máximo de 3.000 x g, compatible con tubos con tapón de rosca de 75 x 13 mm)
Agitador vórtex
Etiquetas de código de barras termoestables (OPAL Associates AG, P/N 20300824 TTR PE-Folie Pharma o equivalente)***

* Para utilizar tubos distintos a los recomendados más arriba el usuario debe verificarlos antes de su implementación en el flujo de trabajo de la prueba **cobas**® MTB en el laboratorio.

** Se requieren racks MPA de 13 mm para utilizar el sonicador de tubos TS 5. Póngase en contacto con su representante local de Roche para obtener una lista de pedido detallada para racks de muestras equivalentes en otros colores o rangos numéricos. Tenga en cuenta que los racks RD5 no son compatibles con el sonicador de tubos TS 5.

*** Para obtener más detalles sobre las especificaciones de los códigos de barras, consulte la Guía del usuario de los **cobas**® 6800/8800 Systems. Para utilizar etiquetas de código de barras distintas a las recomendadas más arriba, el usuario debe verificarlas antes de su implementación en el flujo de trabajo de la prueba **cobas**® MTB en el laboratorio. Póngase en contacto con su representante local de Roche para obtener más información sobre las etiquetas de códigos de barras compatibles así como sugerencias para la comprobación de la compatibilidad. El uso de etiquetas de códigos de barras no compatibles puede provocar daños en los tubos durante el proceso de sonicación y contaminación en el instrumento.

Instrumentos y software necesarios

Es necesario instalar el software **cobas**® 6800/8800 y el paquete de análisis **cobas**® MTB en los instrumentos. El IG (Instrument Gateway) se suministra con el sistema.

Tabla 12 Instrumentos

Equipo	P/N
cobas ® 6800 System (plataforma móvil)	05524245001 y 06379672001
cobas ® 6800 System (plataforma fija)	05524245001 y 06379664001
cobas ® 8800 System	05412722001
Módulo de suministro de muestras	06301037001
Instrument Gateway	06349595001

Precauciones y requisitos de manipulación

Advertencias y precauciones

Como sucede con cualquier procedimiento analítico, resulta esencial seguir las buenas prácticas de laboratorio recomendadas para obtener un rendimiento correcto del ensayo. Debido a la elevada sensibilidad de esta prueba, deben extremarse las precauciones para evitar cualquier tipo de contaminación de los reactivos y las mezclas de amplificación.

- Para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.
- Todas las muestras de pacientes deben considerarse como potencialmente infecciosas. Por lo tanto, todas las muestras biológicas deben tratarse como si fueran infecciosas, utilizando los procedimientos de laboratorio recomendados que se describen en la publicación Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, en el documento M29-A4 del CLSI y en el Manual de bioseguridad en el laboratorio de tuberculosis de la OMS.^{12,13,14} Este procedimiento solamente debería llevarlo a cabo personal experto en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba cobas® MTB y los cobas® 6800/8800 Systems.
- Todo el personal debe utilizar un equipo de protección individual que incluya bata de laboratorio, guantes desechables y protección ocular y respiratoria de acuerdo con los procedimientos y prácticas de seguridad del centro, así como seguir los procedimientos de seguridad del centro referentes al trabajo con sustancias químicas y muestras biológicas.
- El proceso de inactivación de las muestras por el reactivo MIS debe realizarse en una cabina de seguridad biológica (BSC, tipo A2) en un laboratorio con nivel de bioseguridad 3¹² u otro entorno con control de bioseguridad de acuerdo con las directrices o regulaciones locales y del centro.
- El éxito de la inactivación de la TB depende del cumplimiento de los procedimientos descritos en este documento y en una mezcla total de la muestra con el reactivo MIS. El tratamiento preanalítico de las muestras de paciente mediante el MIS reduce, pero no elimina por completo, el riesgo de una infección por TB.
- Si se produce un derrame de las muestras en el MIS (que contiene tiocianato de guanidinio), no permita que entre en contacto con soluciones de hipoclorito de sodio que contengan desinfectantes como la lejía. Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad.
- El reactivo MIS es sensible a la luz y se suministra en botellas con protección lumínica. El MIS debe almacenarse en posición vertical.
- Utilice solo el material fungible suministrado o que se requiera expresamente para garantizar el rendimiento establecido para la prueba.
- Siga al pie de la letra los procedimientos y las directrices que se suministran para garantizar la correcta realización de la prueba. Cualquier variación de dichos procedimientos y directrices podría afectar el rendimiento establecido para la prueba.
- Podrían producirse resultados falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.
- Puede solicitar Hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) al representante local de Roche.

Manipulación de reactivos

- Manipule todos los reactivos, controles y muestras de acuerdo con las mejores prácticas de laboratorio para evitar la contaminación por arrastre de las muestras, los reactivos o los controles.
- Antes de utilizarlos, revise cada casete de reactivo, diluyente, reactivo de lisis y reactivo de lavado para asegurarse de que no hay signos de fugas. No utilice el material si hay alguna evidencia de fuga.
- El **cobas omni** Lysis Reagent y el reactivo MIS contienen tiocianato de guanidinio, una sustancia química potencialmente peligrosa. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras.
- No permita que el **cobas omni** Lysis Reagent o el MIS, que contienen tiocianato de guanidinio, entren en contacto con la solución de hipoclorito de sodio (lejía). Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad.
- Los kits de control usados contienen viales perforados con reactivo residual. Extrema la precaución durante su eliminación para evitar derrames y el contacto.
- El kit de la prueba **cobas**® MTB, el **cobas**® MTB Positive Control Kit, el **cobas**® Buffer Negative Control Kit, el **cobas omni** MGP Reagent y el **cobas omni** Specimen Diluent contienen azida sódica como conservante. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras. Si se producen salpicaduras de reactivos, diluya las manchas con agua antes de secarlas con un paño.
- Elimine todos los materiales que hayan estado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la reglamentación nacional, estatal y local.

Buenas prácticas de laboratorio

- No pipetee con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo.
- El proceso de inactivación de las muestras por el reactivo MIS debe realizarse en una cabina de seguridad biológica (BSC, tipo A2) en un laboratorio con nivel de bioseguridad 3¹² u otro entorno con control de bioseguridad de acuerdo con las directrices o regulaciones locales y del centro.
- Utilice guantes, bata de laboratorio y protección ocular y respiratoria cuando manipule las muestras y los reactivos de acuerdo con las directrices del centro. Evite la contaminación de los guantes durante la manipulación de las muestras y de los controles. Es necesario cambiarse los guantes entre la manipulación de las muestras y el kit **cobas**® MTB, el **cobas**® MTB Positive Control Kit, el **cobas**® 6800/8800 Buffer Negative Control Kit y los reactivos **cobas omni** para evitar la contaminación.
- Desinfectese y lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos, y al quitarse los guantes.
- Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies de trabajo del laboratorio usando una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,5% en agua destilada o desionizada (lejía doméstica diluida a 1:10). A continuación, límpielas con un trapo impregnado en etanol al 70%.
- Si el derrame se produce sobre los **cobas**® 6800/8800 Systems, siga las instrucciones descritas en la Guía del usuario de los **cobas**® 6800/8800 Systems para limpiar y descontaminar correctamente las superficies de los instrumentos.

Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras

Nota: manipule todas las muestras y los controles como si pudieran transmitir agentes infecciosos.

Muestras

Para la prueba cobas® MTB pueden utilizarse muestras de esputo sin procesar y sedimentos de esputo y LBA tratados con NALC-NaOH.

Transporte y almacenamiento de las muestras

Las muestras de esputo sin procesar pueden almacenarse y/o transportarse un máximo de 3 días a una temperatura de 2 °C a 35 °C, seguido de un periodo de hasta 7 días a una temperatura de 2 °C a 8 °C antes de los procesos de licuefacción e inactivación de la muestra mediante el reactivo MIS. Para el almacenamiento a largo plazo de muestras de esputo sin procesar no tratadas con MIS se recomiendan temperaturas ≤ -20 °C.

Las muestras de sedimento de esputo y de LBA tratadas con NALC-NaOH pueden almacenarse un máximo de 7 días a una temperatura de 2 °C a 8 °C antes de la inactivación de la muestra mediante el MIS. Para el almacenamiento a largo plazo de sedimentos de esputo y de LBA no tratadas con MIS, las muestras pueden almacenarse congeladas a temperaturas ≤ -20 °C un máximo de 9 meses incluidos dos ciclos de congelación/descongelación.

Si las muestras se van a transportar, es recomendable empaquetarlas y etiquetarlas de acuerdo con la reglamentación estatal y/o internacional relativa al transporte de muestras infecciosas y agentes etiológicos.

Almacenamiento de muestras inactivadas

Las muestras de esputo sin procesar y los sedimentos de esputo y de LBA tratados con NALC-NaOH que se hayan tratado con el reactivo MIS (inactivadas) pueden almacenarse un máximo de 12 horas a una temperatura de 15 °C a 35 °C, seguido de un periodo de hasta 7 días a una temperatura de 2 °C a 8 °C y 30 días a ≤ -20 °C incluidos dos ciclos de congelación/descongelación antes de procesarlas en los cobas® 6800/8800 Systems.

Nota: es posible que las muestras tratadas con MIS no se congelen debido al elevado contenido de isopropanol.

Nota: la sonicación de las muestras puede realizarse en cualquier momento después de una incubación inicial con el reactivo MIS durante un mínimo de 60 minutos. Consulte el apartado “Sonicación de las muestras” para obtener información detallada.

Instrucciones de uso

Notas sobre el procedimiento

- No utilice la prueba cobas® MTB, el cobas® MTB Positive Control Kit, el cobas® Buffer Negative Control Kit, el MIS ni ningún reactivo cobas **omni** después de su fecha de caducidad.
- No reutilice el material fungible. Es de un solo uso.
- Asegúrese de que las etiquetas de código de barras termoestables de los tubos de muestras están orientadas hacia las ranuras situadas en la parte superior del lateral de los racks de muestras MPA y puedan verse a través de ellas. Consulte la Ilustración 1 y la Guía del usuario de los cobas® 6800/8800 Systems para conocer las especificaciones de códigos de barras adecuadas e información adicional sobre la carga de tubos de muestras.
- Cerciórese de destapar los tubos de muestras después de la sonicación y antes de cargarlos en los cobas® 6800/8800 Systems.
- Consulte la Guía del usuario de los cobas® 6800/8800 Systems para obtener información sobre el correcto mantenimiento de los instrumentos.

Antes de realizar la prueba cobas® MTB en los cobas® 6800/8800 Systems, las muestras deben procesarse de acuerdo con los apartados siguientes: “Procesamiento de muestras de esputo sin procesar” o “Procesamiento sedimentos de esputo y de LBA” y “Sonicación de las muestras”. Los flujos de trabajo representativos abreviados se resumen en la Tabla 13 para muestras de esputo sin procesar y en la Tabla 14 para muestras de sedimento. Para obtener más detalles, siga leyendo los apartados siguientes.

Nota: el proceso de inactivación de las muestras por el reactivo MIS debe realizarse en una cabina de seguridad biológica (BSC, tipo A2) en un laboratorio con nivel de bioseguridad 3¹² u otras medidas de bioseguridad de acuerdo con las directrices o regulaciones locales y del centro.

Nota: la sonicación de las muestras tratadas con MIS puede llevarse a cabo en un laboratorio de tipo BSL-2 o en otro entorno con control de bioseguridad de acuerdo con las directrices o regulaciones locales y del centro.

Tabla 13 Resumen de flujos de trabajo - Muestra de esputo sin procesar

BSL-3 (BSC tipo A2)	1		2:1		Añadir 2 partes de MIS a 1 parte de esputo sin procesar
	2		30-60 segundos		Agitar fuertemente o mezclar por vórtice durante 30-60 segundos
	3		≥ 60 minutos		Incubar la muestra como mínimo 60 min a 15-30° C (temperatura ambiente)
	4		30-60 segundos		Agitar fuertemente o mezclar por vórtice durante 30-60 segundos
	5		1,2 ml para 1 prueba 2,4 ml para 2 pruebas 3,6 ml para 3 pruebas		Transferir de 1,2 a 3,6 ml de muestra tratada con MIS a un tubo secundario con tapón de rosca
BSL-2	6		5 minutos		Sonicar la muestra tratada con MIS
	7		Máx. 1 minuto		Centrifugar la muestra como máximo 1 minuto a una FCR máxima de 3.000 x g
	8				Cargar la muestra sin tapar en los cobas® 6800/8800 Systems e iniciar la serie analítica con el tipo de muestra de esputo sin procesar

Tabla 14 Resumen de flujos de trabajo - Muestra de sedimento

BSL-3 (BSC tipo A2)	1		0,2 ml para 1 prueba 0,4 ml para 2 pruebas 0,6 ml para 3 pruebas	Mezclar por vórtice y transferir de 0,2 a 0,6 ml de muestra de sedimento a un tubo secundario con tapón de rosca
	2	  		<p>Añadir 5 partes de MIS a 1 parte de muestra de sedimento</p> <ul style="list-style-type: none"> • 1 ml de MIS para 1 prueba (0,2 ml de muestra de sedimento) • 2 ml de MIS para 2 pruebas (0,4 ml de muestra de sedimento) • 3 ml de MIS para 3 prueba (0,6 ml de muestra de sedimento)
	3		30-60 segundos	Agitar fuertemente o mezclar por vórtice durante 30-60 segundos
	4		≥ 60 minutos	Incubar la muestra como mínimo 60 min a 15-30° C (temperatura ambiente)
	5		30-60 segundos	Agitar fuertemente o mezclar por vórtice durante 30-60 segundos
BSL-2	6		5 minutos	Sonicar la muestra tratada con MIS
	7		Máx. 1 minuto	Centrifugar la muestra como máximo 1 minuto a una FCR máxima de 3.000 x g
	8			Cargar la muestra sin tapar en los cobas® 6800/8800 Systems e iniciar la serie analítica con el tipo de muestra de sedimento

Procesamiento de muestras de esputo sin procesar

- Confirme que el contenedor de esputo sin procesar está correctamente etiquetado y contiene un mínimo de 0,4 ml de esputo. Si se ha almacenado congelada, descongele y equilibre la muestra a temperatura ambiente.
- Invierta las botellas de MIS de dos a cuatro veces antes de su uso.
- Abra el contenedor de esputo y añada aproximadamente dos partes de MIS a una parte de muestra de esputo (p. ej., 2 ml de MIS a 1 ml de muestra de esputo) mediante una estimación de volumen visual y con una pipeta desechable. Cierre bien el contenedor de esputo.
- Cierre las botellas de MIS inmediatamente después de usarlas.
- Agite fuertemente o mezcle por vórtice durante 30-60 segundos.

Nota: asegúrese de que la muestra de esputo se mezcla completamente con el reactivo MIS.

- Incube la muestra como mínimo 60 minutos a 15-30° C (temperatura ambiente).

Nota: consulte el apartado “Almacenamiento de muestras inactivadas” para conocer las condiciones de almacenamiento máximas.

- Agite fuertemente o mezcle por vórtice durante 30-60 segundos o hasta que la muestra esté completamente homogeneizada.
- Transfiera un mínimo de 1,2 ml y un máximo de 3,6 ml de muestra de esputo tratada con MIS a un tubo de polipropileno de 5 ml con tapón de rosca y código de barras termoestable de 75 x 13 mm y base redonda (Sarstedt - P/N del tubo 60.504.010, P/N del tapón 65.163). Cierre bien el tubo.

Nota: antes de transferir la muestra confirme que la información del código de barras del contenedor de esputo coincide con la del tubo secundario de 5 ml.

Nota: consulte la Tabla 15.

- Lleve a cabo la sonicación de la muestra inactivada de acuerdo con el apartado “Sonicación de las muestras” antes de realizar la prueba cobas® MTB.

Procesamiento de sedimentos de esputo y de LBA

- Confirme que el contenedor de sedimento de esputo y de LBA tratado con NALC-NaOH está correctamente etiquetado y contiene un mínimo de 0,2 ml de muestra. Si se ha almacenado congelada, descongele y equilibre la muestra a temperatura ambiente.
- Agite la muestra de sedimento durante un mínimo de 10 segundos.
- Transfiera un mínimo de 0,2 ml y un máximo de 0,6 ml de muestra de sedimento a un tubo de polipropileno de 5 ml con tapón de rosca y código de barras de 75 x 13 mm y base redonda (Sarstedt - P/N del tubo 60.504.010, P/N del tapón 65.163).

Nota: antes de transferir la muestra confirme que la información del código de barras del contenedor de muestra coincide con la del tubo secundario de 5 ml.

- Invierta las botellas de MIS de dos a cuatro veces antes de su uso.
- Añada cinco partes de MIS a una parte de muestra (p. ej., 1 ml de MIS a 0,2 ml de muestra). Cierre bien el tubo.

Nota: Consulte la Tabla 15.

- Cierre las botellas de MIS inmediatamente después de usarlas.
- Agite fuertemente o mezcle por vórtice durante 30-60 segundos.

Nota: asegúrese de que la muestra se mezcla completamente con el reactivo MIS.

- Incube la muestra como mínimo 60 minutos a 15-30° C (temperatura ambiente).

Nota: consulte el apartado “Almacenamiento de muestras inactivadas” para conocer las condiciones de almacenamiento máximas.

- Agite fuertemente o mezcle por vórtice durante 30-60 segundos.
- Lleve a cabo la sonicación de la muestra inactivada de acuerdo con el apartado “Sonicación de las muestras” antes de realizar la prueba cobas® MTB.

Tabla 15 Requisitos de volumen de muestra tratada con cobas® Microbial Inactivation Solution para realizar la prueba cobas® MTB

Pruebas que se realizarán desde tubo secundario	Volumen mínimo de muestra tratada con MIS requerido	Volumen máximo de muestra tratada con MIS permitido
1 petición de prueba	1,2 ml	3,6 ml
2 peticiones de pruebas*	2,4 ml	3,6 ml
3 peticiones de pruebas*	3,6 ml	3,6 ml

* Se puede usar para el procesamiento en un lote mixto con otros ensayos cobas® 6800/8800 utilizando el mismo tipo de muestra o para una prueba de repetición.

Sonicación de las muestras

- El proceso de sonicación de las muestras para realizar la prueba cobas® MTB debe llevarse a cabo en un dispositivo sonicador de tubos TS 5 de Rinco Ultrasonics AG (P/N 46690). El uso de otros dispositivos de sonicación puede generar resultados falsos positivos, falsos negativos y/o inválidos. El funcionamiento del instrumento se describe con detalle en la Guía del usuario del fabricante.
- Coloque cinco tubos con tapón de rosca cerrados y etiquetados con código de barras que contengan de 1,2 ml a 3,6 ml de muestra tratada con MIS en un rack MPA.

Nota: asegúrese de que las etiquetas de código de barras termoestables de los tubos de muestras están orientadas hacia las ranuras situadas en la parte superior del lateral de los racks de muestras MPA y puedan verse a través de ellas (consulte la Ilustración 1).

Nota: compruebe que cada tubo contiene una etiqueta de código de barras.

Nota: asegúrese de que están ocupadas las cinco posiciones de tubo del rack MPA. Si hay disponibles menos de cinco tubos con muestra tratada con MIS las posiciones restantes deben ocuparse con tubos “comodín” llenos de agua o MIS del mismo tipo de tubo y con una etiqueta de código de barras.

Ilustración 1 Colocación correcta de los tubos de muestra en un rack MPA antes de la sonicación



- Inicie el sonicador de tubos.
- Seleccione el perfil de sonicación predefinido “Respiratory Samples” (Muestras respiratorias).
- Abra el dispositivo sonicador de tubos e inserte el rack MPA siguiendo las instrucciones del fabricante.
- Cierre el sonicador de tubos.
- Inicie la serie de sonicación.
- Confirme que la serie de sonicación ha finalizado correctamente y retire el rack MPA.
 - Nota:** los tubos de muestra se calientan durante la serie de sonicación. Preste atención cuando retire el rack MPA con los tubos de muestra.
 - Nota:** si la sonicación no se realiza correctamente, consulte las instrucciones del fabricante, corrija la causa del fallo y repita la serie de sonicación después de permitir el enfriamiento de las muestras durante 15 minutos como mínimo.
- Ahora, las muestras tratadas con MIS y sonicadas pueden ejecutarse con la prueba **cobas®** MTB o bien almacenarse en las condiciones especificadas en el apartado “Almacenamiento de muestras inactivadas”.

Ejecución de la prueba **cobas®** MTB

La prueba **cobas®** MTB puede ejecutarse con un volumen de muestra mínimo de 1,2 ml. El funcionamiento del instrumento se describe con detalle en la Guía del usuario o la Asistencia al usuario de los **cobas®** 6800/8800 Systems. En la Ilustración 2 se resume el procedimiento.

Antes de destapar los tubos y cargar las muestras en los **cobas®** 6800/8800 Systems, se recomienda sedimentar los restos celulares y de la matriz mediante centrifugación de la muestra durante 1 minuto como máximo a una FCR máxima de 3.000 x g.

Nota: mezcle por vórtice las muestras un mínimo de 10 segundos si las muestras han estado almacenadas durante más de 1 hora después de la sonicación y antes de la centrifugación.

Nota: la omisión del paso de centrifugación puede resultar en un incremento de la tasa de coágulos en la muestra en los **cobas®** 6800/8800 Systems.

Ilustración 2 Procedimiento de la prueba cobas® MTB

1	<p>Inicie sesión en el sistema. Pulse el botón “Iniciar” para preparar el sistema. Solicite las pruebas.</p> <ul style="list-style-type: none">• Seleccione “Raw sputum” (Esputo sin procesar) para solicitar muestras de esputo sin procesar tratadas con MIS.• Seleccione “Sediment” (Sedimento) para solicitar muestras de sedimento de esputo/LBA tratadas con MIS.
2	<p>Cargue los reactivos y el material fungible según las indicaciones del sistema.</p> <ul style="list-style-type: none">• Cargue el casete de reactivo específico de la prueba.• Cargue los casetes de control.• Cargue las puntas de pipeta.• Cargue las placas de procesamiento.• Cargue el reactivo MGP.• Cargue las placas de amplificación.• Cargue el diluyente de muestras.• Cargue el reactivo de lisis.• Cargue el reactivo de lavado.
3	<p>Cargue las muestras en el sistema.</p> <ul style="list-style-type: none">• Para cada muestra:<ul style="list-style-type: none">○ Retire el tapón del tubo.○ Transfiera el tubo a un rack.• Cargue el rack de muestras y los racks para puntas obstruidas en el módulo de suministro de muestras.• Confirme que las muestras han sido aceptadas en el módulo de transferencia.
4	<p>Inicie la serie analítica.</p>
5	<p>Revise y exporte los resultados.</p>
6	<p>Retire y tape todos los tubos de muestra que cumplan los requisitos de volumen mínimo para utilizarlos en el futuro, en caso necesario.</p> <p>Limpie el instrumento.</p> <ul style="list-style-type: none">• Descargue los casetes de control vacíos.• Vacíe el cajón de placas de amplificación.• Vacíe los residuos líquidos.• Vacíe los residuos sólidos.

Resultados

La prueba cobas® MTB detecta automáticamente el ADN del complejo MTB para muestras y controles y permite visualizar la validez de la prueba y los resultados individuales de cada fragmento objetivo.

Control de calidad y validez de los resultados

- Con cada serie de un tipo de resultado solicitado se procesan un control negativo para el buffer cobas® [(-) Ctrl] y un control positivo para MTB [MTB (+) C].
- Compruebe los avisos y los resultados asociados tanto en el software cobas® 6800/8800 como en el informe para garantizar la validez de la serie.
- Todos los avisos están descritos en la Guía del usuario o la Asistencia al usuario de los cobas® 6800/8800 Systems.
- La serie se considera válida cuando no hay avisos para ninguno de los controles. Si la serie no es válida, repita las pruebas para toda la serie.

La validación de los resultados de la serie se realiza automáticamente mediante el software cobas® 6800/8800 en función del rendimiento del control negativo y del control positivo mientras que la validación de los resultados individuales de las muestras se lleva a cabo mediante el software cobas® 6800/8800 en función de los resultados del control interno.

Interpretación de los resultados

Ilustración 3 Ejemplo de resultados de la prueba cobas® MTB

Prueba	ID muestra	Válida	Avisos	Tipo de muestra	Resultado global	Fragmento objetivo 1
MTB 850 ul	TB_R_0001	NA		Raw sputum	NA	MTB Negative
MTB 850 ul	TB_R_0002	NA		Raw sputum	NA	MTB Positive
MTB 850 ul	TB_R_0003	NA	P02T	Raw sputum	NA	Invalid
MTB 850 ul	TB_S_0001	NA		Sediment	NA	MTB Negative
MTB 850 ul	TB_S_0002	NA		Sediment	NA	MTB Positive
MTB 850 ul	TB_S_0003	NA	C02H1	Sediment	NA	Invalid
MTB 850 ul	C161420284090428828404	Yes		(-) Ctrl	Valid	Valid
MTB 850 ul	C161420284093009580264	Yes		MTB (+) C	Valid	Valid

Interpretación de los resultados

En las series válidas, compruebe cada muestra para detectar avisos en el software cobas® 6800/8800 y/o en el informe. La interpretación de resultados se debe realizar del siguiente modo:

- Una serie válida puede incluir resultados de muestras tanto válidos como inválidos.
- Las columnas “Válida” y “Resultado global” no son aplicables a los resultados de las muestras de la prueba cobas® MTB y aparecen marcadas como “NA”. Los valores indicados en estas columnas no son aplicables y **no** influyen en la validez de los resultados comunicados en las columnas de resultados de fragmentos objetivo individuales.
- Los resultados de fragmentos objetivo comunicados para muestras individuales son válidos a no ser que se indiquen como “Invalid” en la columna de resultado de fragmento objetivo individual.

- Los resultados de esta prueba solo deben interpretarse junto con la información disponible de la evaluación clínica del paciente y de su historial.

Los resultados y sus interpretaciones correspondientes para la detección de MTB se muestran en la Tabla 16.

Tabla 16 Resultados e interpretación de la prueba cobas® MTB

Fragmento objetivo 1	Interpretación
MTB Positive	El resultado solicitado es válido. Se ha detectado una señal de fragmento objetivo para el ADN del complejo <i>M. tuberculosis</i> .
MTB Negative	El resultado solicitado es válido. No se ha detectado ninguna señal de fragmento objetivo para el ADN del complejo <i>M. tuberculosis</i> .
Invalid	El resultado para MTB no es válido. La muestra original debe volver a analizarse para obtener resultados para MTB válidos. Si el resultado sigue siendo no válido y no puede descartarse un error del instrumento, deberá obtenerse una nueva muestra.

Limitaciones del procedimiento

- La prueba cobas® MTB siempre debe realizarse junto con un cultivo para minimizar los riesgos de resultados falsos negativos y para permitir además la realización de pruebas de farmacosenibilidad del aislado de MTBC como ayuda en la atención del paciente.
- El rendimiento de la prueba cobas® MTB ha sido validado para muestras de esputo sin procesar y para muestras de sedimento de esputo y de LBA que han sido licuadas, descontaminadas y concentradas con NALC-NaOH. El uso de otros tipos de muestras puede generar resultados falsos positivos, falsos negativos y/o inválidos.
- La digestión y la descontaminación deben realizarse mediante procedimientos con NALC-NaOH recomendados por el CDC.¹⁵ El uso de procedimientos preanalíticos alternativos para la preparación de las muestras puede conducir a resultados falsos positivos, falsos negativos y/o inválidos.
- La prueba cobas® MTB se ha validado para su uso con muestras de esputo sin procesar y muestras de sedimento de esputo y de LBA tratadas con NALC-NaOH inactivadas químicamente con el reactivo MIS. No se ha evaluado la aplicación de otros procedimientos de inactivación y su uso puede generar resultados falsos positivos, falsos negativos y/o inválidos.
- El éxito de la inactivación de la TB depende del cumplimiento de los procedimientos descritos en este documento y en una mezcla total de la muestra con el reactivo MIS. El tratamiento preanalítico de las muestras de paciente mediante el MIS reduce, pero no elimina por completo, el riesgo de una infección por TB.
- Superar las limitaciones de volumen y/o desviarse de los pasos de procedimiento descritos en los apartados “Procesamiento de muestras de esputo sin procesar”, “Procesamiento de sedimentos de esputo y de LBA” y “Sonicación de las muestras” puede conducir a resultados falsos positivos, falsos negativos y/o inválidos.
- Los ensayos de amplificación de ácidos nucleicos no pueden determinar la viabilidad de un organismo.
- El éxito o fracaso terapéutico no pueden determinarse con esta prueba.
- El uso de este producto debe limitarse al personal con experiencia en el empleo de técnicas de PCR y la utilización de los cobas® 6800/8800 Systems.
- La prueba cobas® MTB se ha evaluado únicamente para su uso en combinación con el cobas® MTB Positive Control Kit, el cobas® Buffer Negative Control Kit, el cobas® **omni** MGP Reagent, el cobas® **omni** Lysis Reagent, el cobas® **omni** Specimen Diluent y el cobas® **omni** Wash Reagent en los cobas® 6800/8800 Systems, el MIS y el sonicador de tubos TS 5 de Rinco Ultrasonics AG.

- La obtención de resultados fiables depende de que los procedimientos de recogida, almacenamiento y manipulación de muestras se realicen de manera adecuada.
- El uso de la prueba **cobas**® MTB no se ha evaluado para pacientes menores de 18 años.
- La prueba **cobas**® MTB no está indicada para su uso con muestras respiratorias de pacientes en tratamiento con fármacos antituberculosis, para el control de la respuesta al tratamiento o como prueba de sanación.
- La prueba **cobas**® MTB no distingue entre las distintas especies del complejo MTB.
- La detección de *M. tuberculosis* depende del número de organismos presentes en la muestra y puede verse afectada por los métodos de obtención de las mismas y factores propios del paciente (como la edad, la gravedad de la enfermedad y el estado de VIH).
- Para los pacientes infectados tanto por MTB como por VIH existe una mayor probabilidad de que las muestras sean negativas en la microscopía de frotis y, por lo tanto, presenten ADN del complejo MTB a niveles inferiores al límite de detección del ensayo.
- Los profesionales sanitarios deben interpretar los resultados en el contexto del historial del paciente, la presentación clínica y otros resultados de las pruebas de laboratorio y radiográficas.
- Pueden obtenerse resultados falsos negativos o no válidos debido a la inhibición de la polimerasa. La prueba **cobas**® MTB incluye el control interno para permitir la identificación de muestras que contienen sustancias que podrían interferir con el aislamiento de ácidos nucleicos y la amplificación mediante PCR.
- La incorporación de la enzima AmpErase al reactivo de Master Mix de la prueba **cobas**® MTB permite realizar una amplificación selectiva del ADN objetivo; no obstante, es imprescindible emplear las mejores prácticas de laboratorio y cumplir estrictamente los procedimientos especificados en este documento de instrucciones de uso para evitar la contaminación de los reactivos.
- Aunque es poco probable, las mutaciones en las regiones muy conservadas del ADN genómico del complejo *M. tuberculosis* cubiertas por los cebadores y/o las sondas de la prueba **cobas**® MTB pueden causar errores en la detección de la presencia de la bacteria.
- Debido a las diferencias específicas entre tecnologías, se recomienda a los usuarios que, antes de cambiar de una a otra, realicen estudios de correlación en el laboratorio para determinar las diferencias tecnológicas. No cabe esperar un porcentaje de concordancia del 100% entre los resultados debido a las diferencias entre tecnologías indicadas anteriormente.
- Para utilizar tubos distintos a los recomendados en la tabla 11 el usuario debe verificarlos antes de su implementación en el flujo de trabajo de la prueba **cobas**® MTB en el laboratorio. El empleo de otros tipos de tubos puede dañar los tubos y contaminar las superficies del sonicador. También pueden obtenerse resultados falsos negativos debido a una transferencia de energía de sonicación insuficiente.
- Para utilizar códigos de barras distintos a los recomendados en la tabla 11 el usuario debe verificarlos antes de su implementación en el flujo de trabajo de la prueba **cobas**® MTB en el laboratorio. El empleo de otros tipos de códigos de barras puede dañar el código de barras.

Evaluación del rendimiento

Características clave de rendimiento

Inactivación de la muestra

La reducción del riesgo de infección por MTB gracias al tratamiento de las muestras con MIS ha sido evaluado mediante cultivos altamente positivos de dos cepas del complejo MTB (MTB CDC268 y MTB H37) en tres centros distintos y con tres lotes de reactivo MIS distintos. Para cada condición, se trataron cinco alícuotas de cultivo con niveles de concentración de hasta 5×10^7 UFC/ml con el reactivo MIS en una proporción de 1:2 durante 60 minutos a temperatura ambiente. A continuación, las muestras se centrifugaron durante 15 minutos a $3.000 \times g$, se lavaron dos veces con PBS estéril y finalmente se resuspendieron en 0,5 ml de PBS estéril. En dos de los centros se inoculó toda la muestra inactivada y se sometió a pruebas de crecimiento con el sistema de detección micobacteriana BACTEC™ MGIT™ 320 (Becton Dickinson). En el tercer centro se analizó la viabilidad de la bacteria MTB en un medio de Löwenstein-Jensen (LJ) sólido. Ninguna de las muestras inactivadas mostró crecimiento de las bacterias del complejo *M. tuberculosis* al final del periodo de incubación de 56 días.

Límite de detección (LoD)

El límite de detección de la prueba cobas® MTB se determinó mediante el análisis de diluciones en serie de dos cepas del complejo MTB (*M. tuberculosis* CDC268 y *M. bovis* BCG, primer reactivo de referencia de la OMS para la vacuna BCG de la subcepa danesa 1331) cada una en dos matrices de pools clínicos negativos (esputo sin procesar y sedimentos de esputo/LBA). Se analizaron paneles de siete a nueve niveles de concentración más un blanco con un total de 72 réplicas por nivel de concentración utilizando tres lotes de reactivo de la prueba cobas® MTB, con múltiples series analíticas, días, operadores e instrumentos.

El LoD para *M. tuberculosis* osciló entre 7,6 UFC/ml (sedimento de esputo/LBA) y 8,8 UFC/ml (esputo sin procesar).

El LoD para *M. bovis* BCG osciló entre 0,9 UFC/ml (sedimento de esputo/LBA) y 1,0 UFC/ml (esputo sin procesar).

Inclusividad

La inclusividad de la prueba cobas® MTB se confirmó para diez miembros del complejo MTB mediante el análisis de las 22 cepas siguientes:

- *M. tuberculosis* (H37 ATCC-25177, TB-TDR-0032, TB-TDR-0039, TB-TDR-0105, TB-TDR-0114, TB-TDR-0115, TB-TDR-0116, TB-TDR-0131, TB-TDR-0144, TB-TDR-0185, TB-TDR-0198, 80552)
- *M. bovis* BCG (subcepa Tokio 172 NIBSC 07/270 OMS, subcepa Moscú NIBSC 07/274 OMS)
- *M. africanum* (ATCC® 25420™)
- *M. bovis* subesp. *bovis* (ATCC® 19210)
- *M. canetti* (NLA 000016778)
- *M. caprae* (ATCC®-BAA-824™)
- *M. microti* (ATCC® 19422™)
- *M. orygis* (NLA 001300863)
- *M. pinnipedii* (ATCC® BAA-688™)
- *M. suricattae* (492, Stellenbosch University, Tygerberg, Sudáfrica)

Todas las cepas se detectaron a 28,2 UFC/ml en el tipo de muestra de sedimento. Para la cepa *M. suricattae* se analizó ADN genómico equivalente a 28,2 UFC/ml.

Precisión

La precisión interna se examinó utilizando un panel formado por cultivos de *M. tuberculosis* (CDC268) y *M. bovis* BCG (primer reactivo de referencia de la OMS para la vacuna BCG de la subcepa danesa 1331) diluidos en dos matrices de pools clínicos negativos (esputo sin procesar y sedimentos de esputo/LBA). Las fuentes de variación se examinaron con un panel compuesto de tres niveles de concentración, utilizando tres lotes de reactivos para la prueba cobas® MTB y dos instrumentos durante un periodo de 12 días y con un total de 24 series. En la Tabla 17 figura una descripción de los paneles de precisión y de las tasas de positividad observadas. Todos los niveles de panel negativos resultaron negativos en todo el estudio. En el análisis de la desviación estándar y el porcentaje del coeficiente de variación de los valores de Ct de los ensayos realizados con los miembros del panel positivos (consulte la Tabla 18) se obtuvo un CV (%) global comprendido entre el 1,2% y el 2,6% para *M. tuberculosis* y *M. bovis* BCG.

Tabla 17 Resumen de la precisión intralaboratorio

Concentración de fragmento objetivo	N pruebas	N Positivos	Tasa de positividad	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
<i>M. tuberculosis</i> - esputo sin procesar					
Negativo	48	0	0,0%	0,0%	7,4%
8,8 UFC/ml	48	46	95,8%	85,7%	99,5%
26,4 UFC/ml	48	48	100,0%	92,6%	100,0%
<i>M. tuberculosis</i> - sedimento					
Negativo	48	0	0,0%	0,0%	7,4%
7,6 UFC/ml	48	48	100,0%	92,6%	100,0%
22,8 UFC/ml	48	48	100,0%	92,6%	100,0%
<i>M. bovis</i> BCG - esputo sin procesar					
Negativo	48	0	0,0%	0,0%	7,4%
1,0 UFC/ml	48	48	100,0%	92,6%	100,0%
3,0 UFC/ml	48	48	100,0%	92,6%	100,0%
<i>M. bovis</i> BCG - sedimento					
Negativo	48	0	0,0%	0,0%	7,4%
0,9 UFC/ml	48	45	93,8%	82,8%	98,7%
2,7 UFC/ml	48	48	100,0%	92,6%	100,0%

Tabla 18 Media global, desviaciones estándar y coeficientes de variación (%) para el ciclo umbral, paneles de MTBC positivos

Concentración de fragmento objetivo	Tasa de positividad	Ct medio	Intraserias		Entre series		Entre días		Entre instrumentos		Entre lotes		Total	
			SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV
<i>M. tuberculosis</i> - esputo sin procesar														
8,8 UFC/ml	95,8%	33,8	0,63	1,9	0,28	0,8	0,43	1,3	0,00	0,0	0,29	0,9	0,86	2,6
26,4 UFC/ml	100,0%	32,4	0,54	1,7	0,07	0,2	0,00	0,0	0,30	0,9	0,00	0,0	0,62	1,9
<i>M. tuberculosis</i> - sedimento														
7,6 UFC/ml	100,0%	34,9	0,35	1,0	0,09	0,3	0,14	0,4	0,19	0,5	0,00	0,0	0,43	1,2
22,8 UFC/ml	100,0%	33,9	0,36	1,1	0,22	0,6	0,00	0,0	0,17	0,5	0,06	0,2	0,46	1,4
<i>M. bovis</i> BCG - esputo sin procesar														
1,0 UFC/ml	100,0%	33,5	0,67	2,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,22	0,7	0,71	2,1
3,0 UFC/ml	100,0%	32,4	0,40	1,2	0,30	0,9	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,50	1,5
<i>M. bovis</i> BCG - sedimento														
0,9 UFC/ml	93,8%	35,1	0,45	1,3	0,00	0,0	0,17	0,5	0,00	0,0	0,17	0,5	0,51	1,5
2,7 UFC/ml	100,0%	34,1	0,39	1,1	0,00	0,0	0,18	0,5	0,00	0,0	0,09	0,3	0,44	1,3

Especificidad analítica/reactividad cruzada

Se analizó un panel de 178 bacterias, hongos y virus (incluidos los de mayor presencia en el tracto respiratorio) con la prueba cobas® MTB a fin de valorar su especificidad analítica. Se analizaron los organismos indicados en la Tabla 19 con concentraciones de aproximadamente 1×10^6 unidades/ml para las bacterias y de aproximadamente 1×10^5 unidades/ml para los virus. Se analizaron todos los posibles organismos interferentes en ausencia y presencia del fragmento objetivo del complejo MTB (concentración de 200 UFC/ml). Ninguno de los organismos interfirió con el rendimiento de la prueba generando resultados falsos positivos. La detección del fragmento objetivo del complejo MTB no se vio afectada por los organismos analizados. La posible reactividad cruzada de *Histoplasma capsulatum*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium mantenii* y *Mycobacterium timonense* se evaluó *in silico*. Los resultados de los análisis *in silico* predicen una probabilidad muy reducida de amplificación y detección de estos organismos cuando se utiliza la prueba cobas® MTB.

Tabla 19 Microorganismos analizados para la especificidad analítica/reactividad cruzada

Microorganismo	Concentración	Microorganismo	Concentración
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium gastri</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium gordonae</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium haemophilum</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium holsaticum</i>	1,0E+06 UFC/ml
Adenovirus	1,0E+05 U/ml	<i>Mycobacterium indicus pranii</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium intermedium</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Bacillus cereus</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium kansasii</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Bacillus subtilis</i> subesp. <i>subtilis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium kumamontense</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Bactericides fragilis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium lentiflavum</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	1,0E+06 geq/ml	<i>Mycobacterium malmoense</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Bordetella parapertussis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium marinum</i>	1,0E+06 UFC/ml

08449228001-01ES

Microorganismo	Concentración	Microorganismo	Concentración
<i>Bordetella pertussis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium marseillense</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Burkholderia cepacia</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium mucogenicum</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Campylobacter jejuni</i> subesp. <i>jejuni</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium neoaurum</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Candida albicans</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium nonchromogenicum</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Candida glabrata</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium peregrinum</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Candida krusei</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Candida parapsilosis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium simiae</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Candida tropicalis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1,0E+06 UFI/ml	<i>Mycobacterium szulgai</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	1,0E+06 UFI/ml	<i>Mycobacterium terrae</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Chromobacterium violaceum</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Citrobacter freundii</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium triviale</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium vaccae</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium vulneris</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium xenopi</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium yongonense</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Corynebacterium ulcerans</i>	1,0E+06 geq/ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,0E+06 ucc/ml
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Neisseria lactamica</i>	1,0E+06 UFC/ml
Citomegalovirus	1,0E+05 UFI/ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Eikenella corrodens</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Neisseria mucosa</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Neisseria sicca</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Enterobacter cloacae</i> subesp. <i>cloacae</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Nocardia asteroides</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Enterococcus avium</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Nocardia brasiliensis</i>	1,0E+06 geq/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Nocardia cyriacigeorgica</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Enterococcus faecium</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Nocardia farcinica</i>	1,0E+06 UFC/ml
Enterovirus tipo 68/2007	1,0E+05 U/ml	<i>Nocardia nova</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Escherichia coli</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Escherichia coli</i> productora de CTX-M-15 ESBL	1,0E+06 UFC/ml	<i>Nocardia transvalensis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i> subesp. <i>nucleatum</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Pasteurella multocida</i> subesp. <i>tigris</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Gordona rubropertinctus</i>	1,0E+06 geq/ml	<i>Pediococcus acidilactici</i>	1,0E+06 geq/ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Penicillium chermesinum</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1,0E+06 UFC/ml
Virus del herpes simple tipo 1	1,0E+05 cp/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1,0E+06 UFC/ml
Virus del herpes simple tipo 2	1,0E+05 cp/ml	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	1,0E+06 UFC/ml
Virus de inmunodeficiencia humana	1,0E+05 cp/ml	<i>Prevotella melaninogenica</i>	1,0E+06 UFC/ml
Virus de la gripe humana A	1,0E+05 U/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1,0E+06 UFC/ml
Virus de la gripe humana B	1,0E+05 U/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1,0E+06 UFC/ml
Human metapneumovirus	1,0E+05 U/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1,0E+06 UFC/ml
Virus de la parainfluenza humana tipo 1	1,0E+05 U/ml	<i>Providencia stuartii</i>	1,0E+06 UFC/ml
Virus de la parainfluenza humana tipo 2	1,0E+05 U/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,0E+06 UFC/ml
Virus de la parainfluenza humana tipo 3	1,0E+05 U/ml	<i>Rhizopus</i> spp.	1,0E+06 UFC/ml
Virus de la parainfluenza humana tipo 4	1,0E+05 U/ml	<i>Rhodococcus equi</i>	1,0E+06 UFC/ml

Microorganismo	Concentración	Microorganismo	Concentración
Virus sincitial respiratorio humano A	1,0E+05 U/ml	Virus del sarampión	1,0E+05 U/ml
Virus sincitial respiratorio humano B	1,0E+05 U/ml	Virus de la rubeola	1,0E+05 U/ml
Rinovirus humano 16	1,0E+05 U/ml	Rubulavirus	1,0E+05 U/ml
<i>Kingella kingae</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Salmonella enterica</i> subesp. <i>enterica</i> serovar Dublín	1,0E+06 UFC/ml
<i>Kingella oralis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Scedosporium</i> spp.	1,0E+06 UFC/ml
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Serratia marcescens</i> subesp. <i>marcescens</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i> productora de KPC-3	1,0E+06 UFC/ml	<i>Shigella flexneri</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subesp. <i>pneumoniae</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Shigella sonnei</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Staphylococcus aureus</i> subesp. <i>aureus</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Lactobacillus casei</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Staphylococcus capitis</i> subesp. <i>capitis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Legionella micdadei</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Legionella pneumophila</i> subesp. <i>pneumophila</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subesp.	1,0E+06 UFC/ml	<i>Staphylococcus hominis</i> subesp. <i>hominis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Morganella morganii</i> subesp. <i>morganii</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium abscessus</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Streptococcus constellatus</i> subesp. <i>constellatus</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium arosiense</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Streptococcus equi</i> subesp. <i>equi</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium asiaticum</i>	1,0E+06 geq/ml	<i>Streptococcus mitis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subesp. <i>avium</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Streptococcus mutans</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subesp. <i>hominissuis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subesp. <i>silvaticum</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subesp. <i>paratuberculosis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium bouchedurhonense</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Streptococcus salivarius</i> subesp. <i>salivarius</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium celatum</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium chelonae</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Streptococcus uberis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium chimaera</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Streptomyces anulatus</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium chubuense</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Streptomyces griseus</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium colombiense</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Tsukamurella</i> spp.	1,0E+06 geq/ml
<i>Mycobacterium confluentis</i>	1,0E+06 UFC/ml	Virus de la varicela zóster	1,0E+05 cp/ml
<i>Mycobacterium flavescens</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Veillonella atypica</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Veillonella parvula</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium fuerth</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Weissella paramesenteroides</i>	1,0E+06 UFC/ml

Interferencia

Se evaluó el efecto de sustancias exógenas potencialmente secretadas en las muestras respiratorias (Tabla 20). Cada sustancia potencialmente interferente se analizó a niveles iguales o superiores a los clínicamente relevantes en muestras de esputo artificiales en ausencia y en presencia del fragmento objetivo del complejo MTB (añadido a 200 UFC/ml).

Ninguna de las sustancias interfirió con el rendimiento de la prueba generando resultados falsos negativos o falsos positivos.

Tabla 20 Lista de sustancias exógenas analizadas para determinar la interferencia

Sustancia	Concentración	Sustancia	Concentración
Sulfato de albuterol	0,5 µg/ml	Monosulfato de kanamicina	240 µg/ml
Amikacina	80,1 µg/ml	Levofloxacina	5 mg/ml
Amoxicilina	86,4 µg/ml	Lidocaína HCl	1,2% (p/v)
Beclometasona	3.459 pg/ml	Mentol	0,50% (p/v)
Benzocaína	1,2% (p/v)	Salicilato de metilo	0,06% (v/v)
Budesónida	3 mg/ml	Mometasona	100 µg/ml
Extracto de petasita	225 mg/ml	Moxifloxacina	15 µg/ml
Capreomicina	80 µg/ml	Mupirocina	5% (p/v)
Cloruro de cetilpiridinio	0,5% (p/v)	NaCl	5% (p/v)
Gluconato de clorhexidina	1% (v/v)	Nicotina	1 µg/ml
Cicloserina	105 µg/ml	Nistatina	1% (v/v)
Claritromicina	20 µg/ml	Oximetazolina	12 ng/ml
Dexametasona	601 ng/ml	Pentamidina	1366 ng/ml
Hidrocloruro de efedrina	1 mg/ml	Fenilefrina	5 mg/ml
Epinefrina	100 pg/ml	Prednisolona	3 µg/ml
Etambutol	50 µg/ml	Pirazinamida	240 µg/ml
Etionamida	15 µg/ml	Rifampicina	25 µg/ml
Eucalipto	0,002% (v/v)	Extracto de ortiga (500 mg)	5 mg/ml
Fluticasona	400 µg/ml	Estreptomina	240 µg/ml
Propionato de fluticasona	5 µg/ml	Azufre	0,01% (p/v)
Formoterol fumarato	66 µg/ml	Aceite de árbol de té	0,50% (v/v)
Raíz de sello de oro (cápsulas de 570 mg)	5,7 mg/ml	Teofilina	20 µg/ml
Guaifenesina	5 mg/ml	Tobramicina	24,1 µg/ml
Isoniazida	50 µg/ml	Zanamivir	10 mg/ml

Se analizaron sustancias endógenas que podrían estar presentes en muestras respiratorias a fin de determinar su interferencia (Tabla 21). Cada sustancia potencialmente interferente se analizó a niveles iguales o superiores a los clínicamente relevantes en muestras de esputo artificiales en ausencia y en presencia del fragmento objetivo del complejo MTB (añadido a 200 UFC/ml).

Ninguna de las sustancias interfirió con el rendimiento de la prueba generando resultados falsos negativos o falsos positivos.

Tabla 21 Lista de sustancias endógenas analizadas para determinar su interferencia

Sustancia	Concentración	Sustancia	Concentración
Jugo gástrico	10% (v/v)	Mucina	5%
Hemoglobina	2 g/l	Pus	5%
Sangre total humana	5% (v/v)	Saliva	10% (v/v)
ADN humano	4 mg/l	-	-

Fallo de todo el sistema

Las muestras analizadas en el estudio de fallo de todo el sistema fueron muestras de esputo y de sedimento de esputo artificiales a las que se añadió fragmento objetivo del complejo MTB a una concentración de aproximadamente 3 x LoD de la prueba cobas® MTB en la matriz respectiva. Los resultados demostraron que todas las réplicas fueron válidas y positivas para el complejo MTB, lo que representa una tasa de fallo de todo el sistema del 0% con un intervalo de confianza unilateral superior del 95% de 3,0%.

Contaminación por arrastre

Se realizaron diversos estudios para evaluar la posible contaminación por arrastre en los cobas® 6800/8800 Systems que utilizan la prueba cobas® MTB. La contaminación por arrastre puede causar resultados falsos positivos. El estudio de rendimiento ha determinado que la contaminación por arrastre entre muestras de la prueba cobas® MTB es del 0,0% (0/240) para el complejo MTB tras realizar varias series para analizar tanto muestras positivas muy altas como muestras negativas. Las pruebas se realizaron utilizando muestras de sedimento de esputo artificial a las que se añadió fragmento objetivo del complejo MTB a una concentración de 2 x 10⁶ UFC/ml, una concentración de muestra que genera valores de Ct antes que en el 95% de las muestras de pacientes infectados en la población objetivo.

Rendimiento con muestras clínicas

El rendimiento de la prueba cobas® MTB utilizando muestras clínicas se evaluó mediante el análisis de muestras retrospectivas y archivadas (esputo sin procesar, sedimentos de esputo/LBA) procedentes de sujetos con presunta TB obtenidas en Alemania, Sudáfrica, Suiza, Uganda y Ucrania. Se realizaron unas pruebas de comparación en paralelo con el ensayo Abbott RealTime MTB. La sensibilidad y especificidad se establecieron en comparación con el estado del cultivo y del frotis de BAAR.

Los resultados se muestran en la Tabla 22. Todos los resultados positivos según la prueba cobas® MTB para muestras negativas del cultivo se confirmaron que eran eventos de amplificación/detección específicos mediante el análisis del amplicón posterior a la PCR.

Tabla 22 Sensibilidad y especificidad de la prueba cobas® MTB utilizando muestras clínicas

			Roche cobas® MTB	Abbott RealTime MTB
Sensibilidad	Esputo sin procesar	C+/F-	116/134 86,6% [79,6 – 91,8%]	111/134 82,8% [75,4 – 88,8%]
		C+/F+	275/278 98,9% [96,9 – 99,7%]	274/278 98,5% [96,3 – 99,6%]
		C+/F±	391/412 94,9% [92,3 – 96,8%]	385/412 93,4% [90,6 – 95,6%]
	Sedimento	C+/F-	116/148 78,4% [70,9 – 84,7%]	121/148 81,8% [74,6 – 87,6%]
		C+/F+	287/289 99,3% [97,5 – 99,9%]	284/289 98,2% [96,0 – 99,4%]
		C+/F±	403/437 92,2% [89,3 – 94,5%]	405/437 92,6% [89,8 – 94,9%]
Especificidad	Esputo sin procesar	C-/F-	325/332 97,9% [95,7 – 99,1%]	N/A
	Sedimento	C-/F-	382/393 97,2% [95,0 – 98,6%]	N/A

C = Cultivo, F = Frotis de BAAR

Se analizó un subconjunto de muestras en una evaluación externa realizada en Clinical Laboratory Services (CLS), en Sudáfrica. Para cada sujeto se obtuvieron muestras de esputo sin procesar en dos visitas. Una muestra de esputo sin procesar se analizó con las pruebas cobas® MTB, Abbott RealTime MTB y GeneXpert® MTB/RIF. La otra muestra de esputo sin procesar se transformó en un sedimento mediante el método de NALC-NaOH y se analizó con las pruebas cobas® MTB, Abbott RealTime MTB, GeneXpert® MTB/RIF y COBAS® TaqMan® MTB. La sensibilidad y especificidad se establecieron en comparación con el estado del cultivo y del frotis de BAAR.

Los resultados se muestran en la Tabla 23.

Tabla 23 Sensibilidad y especificidad de la prueba cobas® MTB utilizando muestras clínicas obtenidas en Sudáfrica

			Roche cobas® MTB	Abbott Realtime MTB	Cepheid Xpert MTB/RIF	Roche COBAS® TaqMan® MTB
Sensibilidad	Espuito sin procesar	C+/F-	18/22 81,8% [59,7 – 94,8%]	16/22 72,7% [49,8 – 89,3%]	16/22 72,7% [49,8 – 89,3%]	N/A
		C+/F+	72/73 98,6% [92,6 – 100%]	72/73 98,6% [92,6 – 100%]	71/73 97,3% [90,5 – 99,7%]	N/A
		C+/F±	90/95 94,7% [88,1 – 98,3%]	88/95 92,6% [85,4 – 97,0%]	87/95 91,6% [84,1 – 96,3%]	N/A
	Sedimento	C+/F-	17/22 77,3% [54,6 – 92,2%]	17/22 77,3% [54,6 – 92,2%]	17/22 77,3% [54,6 – 92,2%]	13/22 59,1% [36,4 – 79,3%]
		C+/F+	73/73 100% [95,1 – 100%]	71/73 97,3% [90,5 – 99,7%]	73/73 100% [95,1 – 100%]	73/73 100% [95,1 – 100%]
		C+/F±	90/95 94,7% [88,1 – 98,3%]	88/95 92,6% [85,4 – 97,0%]	90/95 94,7% [88,1 – 98,3%]	86/95 90,5% [82,8 – 95,6%]
Especificidad	Espuito sin procesar	C-/F-	193/199 97,0% [93,6 – 98,9%]	192/199 96,5% [92,9 – 98,6%]	194/199 97,5% [94,2 – 99,2%]	N/A
	Sedimento	C-/F-	190/199 95,5% [91,6 – 97,9%]	189/199 95,0% [91,0 – 97,6%]	196/199 98,5% [95,7 – 99,7%]	193/196 98,5% [95,6 – 99,7%]

Información adicional

Características principales del ensayo

Tipos de muestras

- Esputo sin procesar
- Sedimentos de esputo y LBA tratados con NALC-NaOH

Cantidad de muestra procesada

- $\geq 0,4$ ml de muestra de paciente tratada con MIS en una concentración de 1:2 (volumen total $\geq 1,2$ ml) requerida en un tubo de muestra para esputo sin procesar; el instrumento procesa 0,85 ml
- $\geq 0,2$ ml de muestra de paciente tratada con MIS en una concentración de 1:5 (volumen total $\geq 1,2$ ml) requerida en un tubo de muestra para sedimento de esputo/LBA; el instrumento procesa 0,85 ml

Duración de la prueba

- $< 3,5$ horas hasta la obtención del primer resultado

Símbolos

Los símbolos siguientes se emplean en el rotulado de todos los productos de diagnóstico por PCR de Roche.

Tabla 24 Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos de PCR para diagnóstico de Roche

	Programa auxiliar		Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Límite inferior del intervalo asignado
	Hoja de datos del código de barras		Fabricante
	Código de lote		Almacenar en la oscuridad
	Riesgo biológico		Suficiente para $<n>$ pruebas
	Número de catálogo		Límite de temperatura
	Consulte las instrucciones de uso		Archivo de definición de pruebas
	Contenido del kit		Límite superior del intervalo asignado
	Distribuido por		Fecha de caducidad
	Para evaluación del rendimiento IVD únicamente		Número mundial de artículo comercial

Rx Only

Solamente para EE. UU.: la ley federal de los Estados Unidos sólo autoriza la venta de este dispositivo a través de un facultativo autorizado o bajo prescripción médica.



El presente producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79/CE de productos sanitarios para el diagnóstico *in vitro*.

Servicio técnico para clientes de EE. UU.: 1-800-526-1247

Fabricante y distribuidores

Tabla 25 Fabricante y distribuidores



Fabricado en los Estados Unidos

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany
www.roche.com



Roche Diagnostics (Schweiz) AG
Industriestrasse 7
6343 Rotkreuz, Switzerland

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics, SL
Avda. Generalitat, 171-173
E-08174 Sant Cugat del Vallès
Barcelona, Spain

Roche Diagnostica Brasil Ltda.
Av. Engenheiro Billings, 1729
Jaguará, Building 10
05321-010 São Paulo, SP Brazil

Roche Diagnostics
201, boulevard Armand-Frappier
H7V 4A2 Laval, Québec, Canada
(For Technical Assistance call:
Pour toute assistance technique,
appeler le: 1-877-273-3433)

Roche Diagnostics
2, Avenue du Vercors
38240 Meylan, France

Distributore in Italia:
Roche Diagnostics S.p.A.
Viale G. B. Stucchi 110
20052 Monza, Milano, Italy

Distribuidor em Portugal:
Roche Sistemas de Diagnósticos Lda.
Estrada Nacional, 249-1
2720-413 Amadora, Portugal

Marcas registradas y patentes

Consulte la página <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

Copyright

©2018 Roche Molecular Systems, Inc.



Bibliografía

1. World Health Organization. Global tuberculosis report 2017. Geneva, Switzerland; WHO, 2017.
2. Pai M, Schito M. Tuberculosis diagnostics in 2015: landscape, priorities, needs, and prospects. *Infect Dis.* 2015;211 Suppl 2:S21-8.
3. Centers for Disease Control and Prevention. *Mycobacterium bovis (Bovine Tuberculosis) in Humans*, in Centers for Disease Control and Prevention Fact Sheets D.o.T. Elimination, Editor. 2011. p. September 9, 2011.
4. Alexander KA, Laver PN, Michel AL, et al. Novel Mycobacterium tuberculosis complex pathogen, *M. mungi*; *Emerg Infect Dis.* 2010;16:1296-9.
5. Novosad SA, Winthrop KL. Beyond tumor necrosis factor inhibition: the expanding pipeline of biologic therapies for inflammatory diseases and their associated infectious sequelae. *Clin Infect Dis.* 2014;58:1587-98.
6. The Centers for Disease Control and Prevention. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *MMWR Recomm Rep.* 2000;49(RR-6):1-51.
7. The Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for use of an isoniazid-rifapentine regimen with direct observation to treat latent Mycobacterium tuberculosis infection. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2011;6D(48):1650-3.
8. Falzon D, Jaramillo E, Schünemann, HJ, et al. WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis: 2011 update. *Eur Respir J.* 2011;38:516-28.
9. Longo MC, Berninger, MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene.* 1990;93:125-8.
10. Higuchi R, Dollinger, G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY).* 1992;10:413-7.
11. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Research.* 1996;6:986-94.
12. Center for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition.* CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.
14. World Health Organization. *Tuberculosis laboratory biosafety manual.* Geneva, Switzerland; WHO, 2012.
15. Kent PT, Kubica GP. *Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory*:Atlanta, GA;U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, 1985.

Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 1.0 06/2018	Primera publicación.