

cobas[®] MAI

cobas[®] 5800/6800/8800 sistemleri ile kullanıma yönelik nükleik asit testi

In vitro tanı amaçlı kullanım içindir

cobas[®] MAI

P/N: 09040595190

cobas[®] 5800 sisteminde kullanım için

cobas[®] MAI Positive Control Kit

P/N: 09040609190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

cobas[®] 6800/8800 sistemlerinde kullanım için

cobas[®] MAI Positive Control Kit

P/N: 07544863190 veya
P/N: 09040609190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 07002238190 veya
P/N: 09051953190

İçindekiler

Kullanım amacı	4
Test özeti ve açıklaması	4
Reaktifler ve materyaller	7
cobas® MAI reaktifleri ve kontrolleri.....	7
Numune hazırlamada cobas® omni reaktifleri.....	8
Reaktif saklama gereklilikleri.....	9
cobas® 5800 sistemi veya cobas® 6800/8800 sistemleri için reaktif kullanım gereklilikleri	9
cobas® 5800/6800/8800 sistemleri için gerekli ek materyaller.....	10
Gerekli cihazlar ve yazılımlar.....	11
Önlemler ve taşıma gereklilikleri.....	12
Uyarılar ve önlemler	12
Reaktif kullanımı	13
İyi laboratuvar uygulamaları.....	13
Numune alma, taşıma ve saklama	14
Numuneler	14
Numune taşıma ve saklama	14
İnaktive edilmiş numunelerin saklanması	14
Kullanım talimatları	15
Prosedürle ilgili notlar	15
Ham balgam numunelerinin işlenmesi.....	17
Balgam ve BAL sedimentlerinin işlenmesi	18
Numunelerin sonikasyonu.....	19
cobas® 5800/6800/8800 sistemleri üzerinde cobas® MAI testini çalıştırma.....	20

Sonuçlar 23

Yazılım sürümü 1.4 olan **cobas®** 6800/8800 sistemleri ile alınan sonuçların kalite kontrolü ve geçerliliği..... 23

cobas® 5800/6800/8800 sistemlerindeki sonuçların yorumlanması 24

Yazılım sürümü 2.0 veya üzeri olan **cobas®** 5800 sistemi ve **cobas®** 6800/8800 sistemleri ile alınan sonuçların yorumlanması 24

Yazılım sürümü 1.4 olan **cobas®** 6800/8800 sistemlerindeki sonuçların yorumlanması 25

Prosedür ile ilgili sınırlamalar..... 26

Performans değerlendirmesi..... 28

Sistem eşdeğerliği 28

Temel performans özellikleri..... 28

Numune inaktivasyonu..... 28

Saptama sınırı (LoD) 28

Kapsayıcılık..... 28

Kesinlik..... 29

Analitik özgüllük/çapraz reaktivite 30

İnterferans..... 33

Tüm sistem hatası..... 34

Çapraz kontaminasyon 34

Klinik numuneler kullanılarak performans 34

Ek bilgiler 37

Temel test özellikleri 37

Semboller 38

Teknik destek..... 39

Üretici 39

Ticari markalar ve patentler..... 39

Telif hakkı..... 39

Referanslar..... 40

Belge revizyonu..... 41

Kullanım amacı

cobas® 5800/6800/8800 sistemleri ile kullanıma yönelik **cobas® MAI**, ham balgam ve sindirilmiş ve dekontamine (N-asetil-L-sistein/NaOH [NALC-NaOH] ile işlenmiş) balgam ve bronkoalveolar lavaj (BAL) numunelerini içeren insan solunum numunelerinde *Mycobacterium avium* ve *Mycobacterium intracellulare* DNA'nın doğrudan saptanması ve ayırt edilmesi için gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunu (PCR) kullanan otomatik, kalitatif bir *in vitro* tanı testidir. Bu test, pulmoner *M. avium* ve *M. intracellulare* enfeksiyonlarının tanısına yardımcı olması için mikobakteriyel kültürle birlikte kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

Test özeti ve açıklaması

Temel bilgiler

M. avium ve *M. intracellulare*; yavaş üreyen tüberküloz olmayan mikobakterinin (NTM) yakından ilişkili iki ayrı türüdür ve *M. avium* kompleksi (MAC) ile Mikobakteri cinsinin üyesidir. NTM'ler, *M. tuberculosis* ve *M. leprae* dışındaki mikobakteriyel türlerdir. NTM'ler genellikle çevrede her yerde bulunan serbest canlı organizmalardır.¹⁻⁴ Yer üstü suyu, musluk suyu, toprak, evcil ve yabani hayvanlar, süt ve gıda ürünlerinden elde edilir. Hastalığa neden olmadan vücut yüzeylerini ve salgılarını kolonize edebilmesine rağmen, NTM dört farklı klinik sendromla ilişkilendirilmiştir: pulmoner enfeksiyonlar (MAC, *M. kansasii* ve *M. abscessus*), pediatrik popülasyonlarda sık görülen lenfonodal enfeksiyonlar (MAC, *M. scrofulaceum*, *M. malmoense*), bağışıklığı şiddetli şekilde baskılanmış hastalarda disemine hastalık (*M. avium*) ve genellikle doğrudan inokülasyon sonucu olarak deri ve yumuşak doku veya kemik ve eklem enfeksiyonu.⁵

MAC şu anda on iki çevresel ve hayvan ilişkili olan, yavaş üreyen mikobakteri türünü içerir: *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. chimaera*, *M. colombiense*, *M. arosiense*, *M. bouchodurhonense*, *M. marseillense*, *M. timonense*, *M. indicus pranii*, *M. mantenii*, *M. vulneris*, *M. yongonense*.^{6,7} *M. avium* ve *M. intracellulare*'nin⁸ 28 serotipi vardır ve *M. avium* da 4 alt tür içerir; *M. avium* alt türü *avium*, *M. avium* alt türü *paratuberculosis*, *M. avium* alt türü *hominissuis* ve *M. avium* alt türü *silvaticum*.⁶ *M. avium* ve *M. intracellulare* (MAI), insan hastalığıyla en yaygın olarak ilişkilendirilen iki MAC üyesidir.⁵

MAI, çoğunlukla bağışıklığı baskılanmış bireyleri etkileyen pulmoner patojenlerdir (ör. AIDS, tüylü hücreli lösemi hastaları veya immünosupresif kemoterapi alan hastalar). MAI, inhalasyon yoluyla solunum yoluna veya yutma yoluyla sindirim yoluna bulaşır. Hayvandan insana veya insandan insana bulaştığına dair hiçbir kanıt yoktur ve bu nedenle bulaşıcı olmadığı kabul edilir. Pulmoner MAI enfeksiyonları KOAH, kronik bronşit, bronşektazi, kistik fibroz ve akciğer kanseri gibi kronik akciğer hastalıkları ile ilişkilidir. MAI ayrıca osteomyelit, tenosinovit, sinovit'e neden olabilir ve disemine MAI enfeksiyonuna lenf düğümleri, MSS, karaciğer, dalak ve kemik iliği dahil olabilir. Kutanoz enfeksiyonlar sıklıkla doğrudan inokülasyon yoluyla meydana gelir. MAI, AIDS hastalarında NTM'den kaynaklanan enfeksiyonların en sık görülen nedenidir. AIDS hastalarında MAI enfeksiyonlarının %95'inden *M. avium* sorumludur. *M. intracellulare*, immünokompetan hastalarda enfeksiyonların %40'ından sorumludur. MAI akciğer hastalığı genellikle iki klinik ve radyolojik tabloyla ortaya çıkar: bir apikal fibrokaviter akciğer hastalığı olan multifokal bronşektazi veya normalde sağlıklı, zayıf, yaşlı kadınlarda nodüler veya fibronodüler akciğer infiltratları ve öksürükle ilişkilendirilen Lady Windermere sendromu.

NTM bulaşıcı olmadığından ötürü NTM hastalığının insidansını tespit etmek zordur ve bu nedenle birçok ülkede halk sağlığı kurumlarına bildirilemez. İnsidans oranı tahminleri, raporlanan NTM izolatlarının sayısına dayanır ve 100.000 kişi başına 1,0 ila 1,8 vaka aralığında olmak üzere, çoğu gelişmiş ülkede benzerdir.^{5,9} 2009 yılında Oregon'da yapılan bir çalışma, çoğu vakanın (%60) kadınları etkilediği, 100.000 nüfus başına yıllık 5,6 MAC pulmoner enfeksiyon vakası olduğu öne sürdü.¹⁰ Amerika Birleşik Devletleri'nde raporlanan en yüksek disemine MAI vakası sayısı, AIDS salgınının zirvede olduğu 1994 yılında 37.000 olarak gerçekleşti ve yüksek aktif antiretroviral tedavinin benimsenmesinden bu yana insidans azaldı. Bir değerlendirme çalışması, 2001–2003 yılları arasında Fransa'da HIV enfeksiyonu olmayan hastalarda NTM pulmoner enfeksiyonların insidansının 100.000 kişi başına 0,72–0,74 olduğunu tahmin etti.¹¹ Ayrıca, 2004 yılında Yeni Zelanda'da yapılan benzer bir çalışmada NTM hastalığının insidansının 100.000 kişide 1,92 olduğu tahmin edildi.¹²

MTB enfeksiyonu ve diğer uygun tanımlar dışlandığında, akciğer grafisinde nodüler veya kaviter opasiteleri olan veya yüksek çözünürlüklü CT taramasında çoklu küçük nodüller ile multifokal bronşektazi gösteren semptomatik hastalarda pulmoner MAI enfeksiyonunun tanısı düşünülmelidir.⁵ Tanı için ARB smear testi ve mikobakteriyel kültür önerilir. Tanı, aşağıdakilerin bulunmasını gerektirir:

- (i) en az iki ayrı balgam numunesinden alınan pozitif mikobakteriyel kültürler veya
- (ii) en az bir bronşiyal yıkama veya lavajdan alınan pozitif mikobakteriyel kültür sonucu veya
- (iii) mikobakteriyel histopatolojik özelliklere sahip transbronşiyal veya diğer akciğer biyopsisi ve biyopsiden pozitif kültür ve MAC için kültür pozitif olan bir veya daha fazla balgam veya bronşiyal yıkama, enfeksiyonu doğrular.⁵

MAC dahil NTM, tür seviyesinde tanımlanmalıdır. Tedavi, 12 ay boyunca 2 veya 3 birinci basamak antimikrobiyallerin uygulanmasını içerir. Birinci basamak rejim makrolidler (klaritromisin veya azitromisin), etambutol ve rifamisinleri (rifampin) içerir ve ikinci basamak antimikrobiyal rejim, aminoglikositleri (streptomisin veya amikasin) içerir. MAC izolatlarının rutin duyarlılık testi, diğer ilaçlar için *in vitro* sonuçlar ve klinik sonuçlar arasındaki düşük korelasyondan ötürü yalnızca klaritromisin için önerilir.⁵

MAC enfeksiyonunun varsayımsal tanısı, hem klinik tablo hem de radyografik bulgulara dayanarak belirlenebilir ve yukarıda tanımlandığı gibi mikobakteriyel kültürdeki organizmanın geri kazanılmasıyla doğrulanır⁵ ancak kültür işlemi yavaştır ve günler veya haftalar alabilir. Alternatif olarak, nükleik asit amplifikasyon testleri, daha hızlı tanı ve ampirik tedavinin başlatılması için *M. avium* ve *M. intracellulare*'yi doğrudan klinik numunelerden saatler içinde saptayabilir ve ayırt edebilir. Ancak ampirik tedavinin etkinliğini doğrulamak için fenotipik ilaç duyarlılığı testi (DST) gereklidir ve bu işlem nedeniyle, patojenin izolasyonu ve tayininden sonra sonuç alınması için yöntemle bağlı olarak günler veya haftalar geçmesi gerekebilir.

Testin açıklaması

cobas® 5800/6800/8800 sistemleri ile kullanıma yönelik **cobas® MAI** ham balgam numunelerini ve sindirilmiş ve dekontamine NALC-NaOH ile işlenmiş balgam ve BAL sedimentlerini de içeren insan solunum numunelerinde *Mycobacterium avium* ve *Mycobacterium intracellulare* DNA'yı saptamak ve ayırt etmek için tasarlanan otomatik ve kalitatif, gerçek zamanlı bir PCR testidir. Tüm numune hazırlama sürecini ve PCR amplifikasyon sürecini izlemek amacıyla kullanılan DNA dahili kontrol, **cobas® 5800/6800/8800** sistemlerinde numune işleme sırasında her bir numune için uygulanır. Ek olarak, testte düşük titreli pozitif kontrol ve negatif kontrol kullanılmaktadır.

Prosedür prensipleri

cobas® MAI, pre-analitik numune sıvılaştırma ve mikobakteri inaktivasyonuna, ardından numune sonikasyonuna ve tam otomatik numune hazırlanmasına (nükleik asit ekstraksiyonu ve saflaştırılması) ve PCR amplifikasyonuna ve saptanmasına dayanır. Numune sıvılaştırma ve mikobakteri inaktivasyonu, **cobas®** Microbial Inactivation Solution (MIS) ile numune inkübasyonu sırasında eş zamanlı olarak gerçekleşir. Sıvılaştırılmış ve inaktive edilmiş numunenin sonikasyonu, **cobas®** 5800/6800/8800 sistemlerine yüklenmeden önce gerçekleştirilir. **cobas®** 5800 sistemi, tek entegre cihaz olarak tasarlanmıştır. **cobas®** 6800/8800 sistemleri; numune besleme modülünden, aktarma modülünden, işleme modülünden ve analiz modülünden oluşmaktadır. Otomatik veri yönetimi, tüm testler için test sonuçlarını pozitif, negatif veya geçersiz şeklinde atayan **cobas®** 5800 veya **cobas®** 6800/8800 sistemleri yazılımı tarafından gerçekleştirilmektedir. Sonuçlar, doğrudan sistem ekranında incelenebilir, dışa aktarılabilir veya rapor olarak yazdırılabilir.

Hasta numunelerinden alınan nükleik asit, harici kontroller ve eklenen dahili kontrol DNA (DNA-IC) molekülleri eş zamanlı olarak ekstrakte edilir. Özetle bakteriyel nükleik asit, bakterilerin kimyasal (MIS, **cobas® omni** Lysis Reagent), enzimatik (proteinaz) ve fiziksel (sonikasyon) olarak parçalanması yoluyla salınır. Salınan nükleik asit, eklenen manyetik cam partiküllerinin silika yüzeyine bağlanır. Denatüre protein, hücresel atık ve potansiyel PCR inhibitörleri gibi bağlanmayan maddeler ve safsızlıklar, sonraki yıkama adımları ile giderilir ve saflaştırılmış nükleik asit, yüksek sıcaklıkta elüasyon tamponu ile manyetik cam partiküllerden elüe edilir.

Hedef nükleik asidin numuneden selektif amplifikasyonu, ilgili hedef organizma içinde yüksek oranda korunduğu bölgeden seçilen *M. avium* kompleksi için hedefe özgü ileri ve geri primerlerin kullanımı ile elde edilir. MAC, primerlerin selektif bir seti ile saptanır ve *M. avium* ve *M. intracellulare*, amplifikasyon bölgesinde iki ayrı proba ayırt edilir (16S rRNA geni). DNA IC'nin selektif amplifikasyonu, *M. avium* kompleksinin hedef bölgesiyle homolojisinin olmadığı şekilde seçilen sekansa özgü ileri ve geri primerlerin kullanılmasıyla elde edilir. PCR amplifikasyon için termostabil DNA polimeraz enzimi kullanılır. Hedef ve DNA-IC sekanslarına, önceden tanımlanmış sıcaklık adımları ve döngü sayısı ile evrensel bir PCR amplifikasyon profili kullanılarak eş zamanlı amplifikasyon uygulanır. Master Mix, deoksitimidin trifosfat (dTTP) yerine, yeni sentezlenen DNA'ya (amplikon) dahil edilen deoksiüridin trifosfat (dUTP) içerir. Önceki PCR çalışmalarından kalan kontamine edici herhangi bir amplikon, ilk ısı döngü adımında PCR Master Mix'e dahil olan AmpErase enzimi tarafından imha edilir.¹³ Ancak AmpErase enzimi 55°C üzerinde sıcaklıklara maruz kaldığında etkisiz hale geldiğinden, yeni oluşan amplikonlar imha edilmez.

cobas® MAI Master Mix, *M. avium* ve *M. intracellulare* için birer ve DNA-IC için de bir saptama probu içerir. Hedefe özgü problemler, üç farklı hedef kanalda *M. avium* hedefi, *M. intracellulare* hedefi ve DNA-IC'nin eş zamanlı saptanmasını sağlayan farklı floresan haberci boyalarla işaretlenir.^{14,15} Hedef sekansa bağlı olmadığında, intakt problemlerin floresan sinyali, söndürücü boya tarafından baskılanır. PCR amplifikasyon adımı sırasında problemlerin spesifik tek zincirli DNA şablonuna hibridizasyonu, probun DNA polimerazda 5' ila 3' ekzonükleaz aktivitesi ile klevajına neden olur ve bu durum da, haberci ve söndürücü boya ayrılmasına ve floresan sinyal oluşumuna neden olur. Her bir PCR döngüsünde, artan miktarlarda klevaj problemleri oluşturulur ve haberci boyanın kümülatif sinyali eş zamanlı olarak artar. PCR ürünlerinin gerçek zamanlı saptanması ve ayırt edilmesi, sırasıyla *M. avium* kompleksi hedefleri ve DNA-IC için salgılanan haberci boya floresanı ölçülerek sağlanır.

Reaktifler ve materyaller

cobas® MAI reaktifleri ve kontrolleri

cobas® HBV için sağlanan materyaller Tablo 1 içinde belirtilmiştir. Gereken ancak sağlanmayan materyaller; Tablo 2, Tablo 3, Tablo 4 ve Tablo 10 ila Tablo 12 içinde bulunabilir.

Tüm açılmamış reaktifler ve kontroller, Tablo 1 ila Tablo 4 içinde önerilen şekilde saklanmalıdır.

Tablo 1 cobas® MAI

cobas® MAI

2–8°C'de saklayın

384 test kaseti (P/N 09040595190)

Kit bileşenleri	Reaktif içeriği	Kit başına miktar
Proteinaz Çözeltisi (PASE)	Tris tamponu, < %0,05 EDTA, kalsiyum klorür, kalsiyum asetat, %8 proteinaz, gliserol EUH210: Talep halinde güvenlik bilgi formu sağlanabilir. EUH208: <i>Bacillus subtilis</i> 'te bulunan Subtilizin içerir. Alerjik reaksiyonlara yol açabilir.	38 mL
DNA dahili kontrol (DNA-IC)	Tris tamponu, < %0,05 EDTA, < %0,001 MAI ile ilişkili olmayan DNA yapısı, %0,002 Poly rA RNA (sentetik), < %0,1 sodyum azit	38 mL
Elüasyon Tamponu (EB)	Tris tamponu, %0,2 metil-4 hidroksibenzoat	38 mL
Master Mix Reagent 1 (MMX-R1)	Manganez asetat, potasyum hidroksit, < %0,1 sodyum azit	14,5 mL
MAI Master Mix Reaktifi 2 (MAI MMX-R2)	Trisin tamponu, potasyum asetat, EDTA, gliserol, %18 dimetil sülfoksit, < %0,12 dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < %0,1 Tween 20, < %0,1 sodyum azit, < %0,1 Z05 DNA polimeraz, < %0,1 AmpErase (urasil-N glikosilaz) enzimi (mikrobik), < %0,01 dahili kontrol ileri ve geri primerler, < %0,01 yukarı akışlı ve aşağı akışlı MAI primerleri, < %0,01 MAI ve DNA dahili kontrolü için floresan etiketli oligonükleotit problemleri, < %0,01 oligonükleotit aptamer	17,5 mL

Tablo 2 cobas® MAI Positive Control Kit

cobas® MAI Positive Control Kit

2–8°C'de saklayın

cobas® 5800 sistemi ve yazılım sürümü 2.0 veya üzeri olan cobas® 6800/8800 sistemlerinde kullanım için (P/N 09040609190)

Yazılım sürümü 1.4 olan cobas® 6800/8800 sistemlerinde kullanım için (P/N 07544863190 veya P/N 09040609190)

Kit bileşenleri	Reaktif içeriği	Kit başına miktar
MAI Pozitif Kontrol (MAI (+) C)	Tris tamponu, < %0,05 sodyum azit, < %0,05 EDTA, %0,002 Poly rA, < %0,01 <i>M. avium</i> ve <i>M. intracellulare</i> genomik sekanslarını içeren, bulaşıcı olmayan plazmid DNA (mikrobik)	16 mL (16 × 1 mL)

Tablo 3 cobas® Buffer Negative Control Kit

cobas® Buffer Negative Control Kit

2–8°C'de saklayın

cobas® 5800 sistemi ve yazılım sürümü 2.0 veya üzeri olan cobas® 6800/8800 sistemlerinde kullanım için (P/N 09051953190)

Yazılım sürümü 1.4 olan cobas® 6800/8800 sistemlerinde kullanım için (P/N 07002238190 veya P/N 09051953190)

Kit bileşenleri	Reaktif içeriği	Kit başına miktar
cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)	Tris tamponu, < %0,1 sodyum azit, EDTA, %0,002 Poly rA RNA (sentetik)	16 mL (16 × 1 mL)

Numune hazırlamada cobas® omni reaktifleri

Tablo 4 Numune hazırlamada **cobas® omni** reaktifleri

Reaktifler	Reaktif içeriği	Kit başına miktar	Güvenlik sembolü ve uyarı*
cobas® omni MGP Reagent (MGP) 2-8°C'de saklayın (P/N 06997546190)	Manyetik cam partiküller, Tris tamponu, %0,1 metil-4 hidroksibenzoat, < %0,1 sodyum azit	480 test	Yok
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) 2-8°C'de saklayın (P/N 06997511190)	Tris tamponu, %0,1 metil-4 hidroksibenzoat, < %0,1 sodyum azit	4 × 875 mL	Yok
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) 2-8°C'de saklayın (P/N 06997538190)	%43 (a/a) guanidin tiyosiyanat**, %5 (a/h) polidokanol**, %2 (a/h) ditiyotritol**, dihidro sodyum sitrat	4 × 875 mL	 TEHLİKE H302: Yutulması halinde zararlıdır. H314: Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına yol açar. H411: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, toksik etki. EUH032: Asitlerle temasında çok toksik gaz çıkarır. EUH071: Solunum yolu için aşındırıcıdır. P273: Çevreye verilmesinden kaçının. P280: Koruyucu eldiven/koruyucu kıyafet/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın. P303 + P361 + P353: DERİ (veya saç) İLE TEMAS HALİNDE İSE: Kirlenmiş tüm giysilerinizi hemen kaldırın/çıkarın. Cildinizi su ile durulayın. P304 + P340 + P310: SOLUNDUĞUNDA: Zarar gören kişiyi temiz havaya çıkartın ve kolay biçimde nefes alması için rahat bir pozisyonda tutun. Hemen ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru. P305 + P351 + P338 + P310: GÖZ İLE TEMASI HALİNDE: Su ile birkaç dakika dikkatlice durulayın. Takılı ve yapması kolaysa, kontak lensleri çıkartın. Durulamaya devam edin. Hemen ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru. P391: Döküntüleri toplayın. 593-84-0 Guanidinyum tiyosiyanat 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutan-2,3-diol
cobas® omni Wash Reagent (WASH) 15-30°C'de saklayın (P/N 06997503190)	Sodyum sitrat dihidrat, %0,1 metil-4 hidroksibenzoat	4,2 L	Yok

* Ürün güvenlik etiketi öncelikli olarak AB GHS kılavuzlarına tabidir.

** Tehlikeli madde veya karışım.

Reaktif saklama gereklilikleri

Reaktifler, Tablo 5, Tablo 6 ve Tablo 7 içinde belirtilen şekilde saklanmalı ve kullanılmalıdır.

Reaktifler **cobas® 5800** veya **cobas® 6800/8800** sistemlerine yüklü olmadığında, bunları Tablo 5 içinde belirtilen sıcaklıkta saklayın.

Tablo 5 Reaktif saklama (reaktif sistemde olmadığında)

Reaktif	Saklama sıcaklığı
cobas® MAI	2–8°C
cobas® MAI 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

cobas® 5800 sistemi veya cobas® 6800/8800 sistemleri için reaktif kullanım gereklilikleri

cobas® 5800 sistemi veya **cobas® 6800/8800** sistemlerine yüklenen reaktifler, uygun sıcaklıklarda saklanır ve bu reaktiflerin son kullanma tarihi sistem tarafından izlenir ve sunulur. Sistem yalnızca Tablo 6, Tablo 7 ve Tablo 8 içinde gösterilen reaktif kullanımı koşullarının tamamının karşılanması halinde reaktiflerin kullanılmasına izin verir. Sistem, son kullanma tarihi geçmiş olan reaktiflerin kullanımını otomatik olarak engeller. Teste özgü reaktifler için kalan açık kit stabilitesi ve kit kullanım sayısı bilgilerine sistem kullanıcı arayüzünden erişilebilir.

Tablo 6 **cobas® 5800** sistemi tarafından izlenen ve sunulan reaktif son kullanım koşulları

Reaktif	Açık kit stabilitesi	Kit kullanım sayısı	Cihaz üzeri stabilite
cobas® MAI	İlk kullanımdan itibaren 90 gün	40	Yüklemeden itibaren 36 gün
cobas® MAI Positive Control Kit	Tekli flakon kullanımı	16	Yüklemeden itibaren 36 gün
cobas® Buffer Negative Control Kit	Tekli flakon kullanımı	16	Yüklemeden itibaren 36 gün

Tablo 7 **cobas® 6800/8800** sistemleri tarafından izlenen ve sunulan reaktif son kullanım koşulları

Reaktif	Açık kit stabilitesi	Kit kullanım sayısı	Cihaz üzerinde stabilite (cihaz üzeri buzdolabı dışında)
cobas® MAI	İlk kullanımdan itibaren 90 gün	40	40 saat
cobas® MAI Positive Control Kit	Tekli flakon	16	10 saat
cobas® Buffer Negative Control Kit	Tekli flakon	16	10 saat

Tablo 8 **cobas® omni** reaktiflerinin açık kit stabilitesini gösterir. Her çalışma öncesinde sistem, açık kit stabilitesini doğrular ve yeterli dolum hacmi olduğundan emin olur. Bu nedenle bu reaktiflere atanan kit kullanım sayısı ve cihaz üzerinde stabilite yoktur.

Tablo 8 cobas® 5800/6800/8800 sistemleri ile sunulan cobas® omni reaktif son kullanım koşulları

Reaktif	Açık kit stabilitesi
cobas® omni Lysis Reagent	Yüklemeden itibaren 30 gün
cobas® omni MGP Reagent	İlk kullanımdan itibaren 30 gün
cobas® omni Specimen Diluent	Yüklemeden itibaren 30 gün
cobas® omni Wash Reagent	Yüklemeden itibaren 30 gün

cobas® 5800/6800/8800 sistemleri için gerekli ek materyaller

Tablo 9 cobas® 5800/6800/8800 sistemlerinde kullanıma yönelik materyaller

Materyal	P/N
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190

Tablo 10 cobas® 5800 sistemi ile kullanıma yönelik tüketim malzemeleri*

Materyal
cobas® omni Processing Plate 24
cobas® omni Amplification Plate 24
cobas® omni Liquid Waste Plate 24
cobas® omni Liquid Waste Container
Uç CORE TIPS, filtreli, 1 mL
Uç CORE TIPS, filtreli, 300 µL
Katı atık torbası* ve gömmeli katı atık torbası
16 pozisyonlu tüp S-taşıyıcı, tam
5 pozisyonlu rak taşıyıcı

* Parça numaraları için lütfen cobas® 5800 sistemi Yardım Asistanına bakın.

Tablo 11 cobas® 6800/8800 sistemleri ile kullanıma yönelik tüketim malzemeleri*

Materyal
cobas® omni Processing Plate
cobas® omni Amplification Plate
cobas® omni Pipette Tips
cobas® omni Liquid Waste Container
Katı atık torbası ve katı atık kabı veya gömmeli katı atık torbası ve kit çekmeces
Standart Rak. yeniden çalıştırma R001-R025 PINK

* Parça numaraları için lütfen cobas® 6800/8800 sistemleri Yardım Asistanına bakın.

Tablo 12 Pre-analitik iş akışı için gerekli olan materyaller ve sarf malzemeleri

Materyaller
cobas® Microbial Inactivation Solution (P/N 08185476001)
Tüp sonikatör TS 5 (Rinco Ultrasonics AG – P/N 46690)
5 mL polipropilen vidalı kapaklı tüpler 75×13 mm, yuvarlak tabanlı (Sarstedt – tüp P/N 60.504.010, vidalı kapak P/N 65.163)*
MPA RAK 13 MM AÇIK YEŞİL 7001-7050 (Roche – P/N 03118878001 veya eşdeğeri)**
Santrifüj (RCF'yi maks. 3000 × g ile sınırlama seçeneği, 75 × 13 mm vidalı kapaklı tüplerle uyumlu)
Vorteks karıştırıcı
Termostabil barkod etiketleri (OPAL Associates AG, P/N 20300824 TR PE-Folie Pharma veya eşdeğeri)***

* Yukarıda önerilenler dışında diğer tüplerin kullanılması, laboratuvarda **cobas®** MAI iş akışına uygulanmadan önce kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

** Tüp sonikatör TS 5'in çalıştırılması için MPA 13 mm raklar gereklidir. Diğer renklerde veya sayı aralıklarındaki eşdeğer numune raklarının ayrıntılı sipariş listesi için yerel Roche temsilcinizle iletişime geçin. RD5 raklarının tüp sonikatör TS 5 ile uyumlu olmadığını dikkate alın.

*** Barkod özellikleri hakkında ayrıntılı bilgi için **cobas®** 5800/6800/8800 sistemleri Yardım Asistanına bakın. Yukarıda önerilenler dışında diğer barkod etiketlerinin kullanılması, laboratuvarda **cobas®** MAI iş akışına uygulanmadan önce kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır. Uyumlu barkod etiketleri hakkında detaylı bilgi ve uyumluluğu doğrulama önerileri için yerel Roche temsilcinizle iletişime geçin. Uyumlu olmayan barkod etiketlerinin kullanılması sonikasyon sırasında tüp hasarına ve ardından cihazın kontaminasyonuna yol açabilir.

Gerekli cihazlar ve yazılımlar

Cihaza/cihazlara **cobas®** 5800/6800/8800 sistemleri için **cobas®** 5800 yazılımı, **cobas®** 6800/8800 yazılımı ve **cobas®** MAI analiz paketi (ASAP) yüklenmelidir.

cobas® 5800 ve **cobas®** 6800/8800 sistemleri yazılım 2.0 veya üzeri için sistemle birlikte x800 Data Manager yazılımı ve PC (veya sunucu) sağlanacaktır.

cobas® 6800/8800 sistemleri yazılım sürümü 1.4 için sistemle birlikte Instrument Gateway (IG) sunucusu sağlanacaktır.

Tablo 13 Cihazlar

Ekipmanlar	P/N
cobas® 5800 sistemi	08707464001
cobas® 6800 sistemi	05524245001 ve 09575154001
cobas® 8800 sistemi	05412722001 ve 09575154001
cobas® 6800/8800 sistemleri için numune besleme modülü	06301037001 ve 09936882001

Ek bilgi için **cobas®** 5800 sistemi veya **cobas®** 6800/8800 sistemleri Yardım Asistanına bakın.

Önlemler ve taşıma gereklilikleri

Uyarılar ve önlemler

Herhangi bir test prosedüründe olduğu gibi, bu testin iyi performans sağlaması için iyi laboratuvar uygulamaları esastır. Bu testin hassasiyetinin yüksek olması nedeniyle, reaktifleri ve amplifikasyon karışımlarını kontaminasyondan korumaya dikkat edilmelidir.

- Sadece *in vitro* tanı amaçlı kullanım içindir.
- Tüm hasta numuneleri, potansiyel bulaşıcı olarak değerlendirilmelidir. Dolayısıyla, tüm biyolojik numuneler, Mikrobiyoloji ve Biyomedikal Laboratuvarlarında Biyogüvenlik (Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories), CLSI Dokümanı M29-A4'te ve DSÖ tarafından Tüberküloz Laboratuvarı Biyogüvenlik Rehberi'nde tanımlanan iyi laboratuvar uygulamaları ve uygun risk değerlendirmesi kullanılarak bulaşıcı madde gibi değerlendirilmelidir.¹⁶⁻¹⁸ Yalnızca bulaşıcı materyaller ve **cobas® MAI** ve **cobas® 5800/6800/8800** sistemleri kullanımı konusunda uzman olan personel bu prosedürü gerçekleştirmelidir.
- Tüm personel, kurumlarının güvenlik prosedürleri ve uygulamalarına göre laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldivenler, göz ve solunum koruması dahil koruyucu kişisel ekipman kullanmalı ve kimyasallar ve biyolojik numunelerle çalışırken kurumlarının güvenlik prosedürlerine uymalıdır.
- Her laboratuvar, uygun bir risk değerlendirmesine dayanarak MIS inaktivasyonu öncesindeki ve sonrasındaki gerekli numune işleme adımlarını belirlemeli ve önerilen biyogüvenlik düzenlemelerine, yerel ve kuruma ait yönergelere veya düzenlemelere uymalıdır.¹⁶
- Mikobakteriyel inaktivasyondaki başarı, bu belgede tanımlanan prosedürlere uyulmasına ve numunenin tamamen MIS ile karıştırılmasına bağlıdır. MIS ile numune sıvılaştırma ve mikobakteriyel aktivasyon, yerel ve kurumsal kılavuzlara veya düzenlemelere göre ve uygun risk değerlendirmesine dayanılarak gerçekleştirilmelidir.
- Tüm insan kaynaklı materyaller, bulaşıcı olma potansiyeli açısından değerlendirilmeli ve evrensel önlemler uygulanarak kullanılmalıdır. Dökülme meydana gelirse yeni hazırlanmış distile veya deiyonize suda %0,5 sodyum veya potasyum hipoklorit çözeltisi ile derhal dezenfekte edin veya uygun tesis prosedürlerini izleyin.
- **MIS'deki (guanidinyum tiyosiyanat içerir) numuneler dökülürse sodyum veya potasyum hipoklorit ile temas etmesine izin vermeyin. Bu karışım, oldukça toksik bir gaz açığa çıkarabilir.** MIS'deki numuneler dökülürse İLK ÖNCE uygun bir laboratuvar deterjanı ve suyla, ardından %70 etanol ile temizleyin.
- MIS, ışığa karşı duyarlıdır ve ışık korumalı şişelerde sevk edilir. MIS, dik olacak şekilde saklanmalıdır.
- Belirlenen test performansı için yalnızca temin edilen veya gerekli olduğu belirtilen sarf malzemelerini kullanın.
- Testin doğru şekilde gerçekleştirildiğinden emin olmak için temin edilen kılavuzları ve prosedürleri yakından takip edin. Prosedürlerden ve kılavuzlardan herhangi bir sapma, belirlenen test performansını etkileyebilir.
- Numunelerin kullanılması ve işlenmesi sırasında numune bulaşması kontaminasyonu yeterli şekilde kontrol altına alınmazsa yanlış pozitif sonuçlar meydana gelebilir.
- Güvenlik Bilgi Formları (SDS) talep halinde bölge Roche temsilcinizden temin edilebilir.
- Bu testi kullanırken meydana gelebilecek tüm ciddi olayları yerel yetkili makama ve üreticiye bildirin.

Reaktif kullanımı

- Numunelerin, reaktiflerin veya kontrollerin bulaşmasını önlemek için tüm reaktifleri, kontrolleri ve numuneleri iyi laboratuvar uygulamalarına uygun şekilde kullanın.
- Kullanımdan önce, her bir reaktif kasetini, dilüenti, lizis reaktifini ve yıkama reaktifini görsel olarak inceleyerek sızıntı belirtisi olmadığından emin olun. Herhangi bir sızıntı kanıtı varsa bu materyali test için kullanmayın.
- **cobas® omni** Lysis Reagent ve MIS, potansiyel olarak tehlikeli bir kimyasal olan guanidinyum tiyosiyanat içerir. Reaktiflerin cildinize, gözlerinize veya mukoza membranlarına temas etmesinden kaçının. Temas etmeniz durumunda, vakit kaybetmeden bol miktarda suyla yıkayın; aksi halde yanıklar meydana gelebilir.
- Guanidinyum tiyosiyanat içeren **cobas® omni** Lysis Reagent veya MIS'in sodyum veya potasyum hipoklorit çözeltisine temas etmesine izin vermeyin. Bu karışım, oldukça toksik bir gaz açığa çıkarabilir.
- Tükenmiş kontrol kitleri, kalan reaktif içeren delinmiş flakonlar içerir; dökülmeleri ve teması önlemek için imha sırasında çok dikkat edilmelidir.
- **cobas® MAI**, **cobas® MAI** Positive Control Kit, **cobas®** Buffer Negative Control Kit, **cobas® omni** MGP Reagent ve **cobas® omni** Specimen Diluent, koruyucu olarak sodyum azit içerir. Reaktiflerin cildinize, gözlerinize veya mukoza membranlarına temas etmesinden kaçının. Temas etmeniz durumunda, vakit kaybetmeden bol miktarda suyla yıkayın; aksi halde yanıklar meydana gelebilir. Bu reaktiflerin dökülmesi halinde, silerek kurulamadan önce suyla seyreltin.
- Numunelere ve reaktiflere temas eden tüm materyalleri ülke, eyalet gerekliliklerine ve yerel gerekliliklere uygun şekilde atın.

İyi laboratuvar uygulamaları

- Ağzınızla pipetleme yapmayın.
- Belirlenen çalışma ortamlarında yiyecek veya içecek tüketmeyin veya sigara içmeyin.
- MIS ile işlenmiş numuneler de dahil olmak üzere tüm biyolojik numuneler, yerel ve kuruma ait yönergelere veya düzenlemelere ve/veya uygun bir risk değerlendirmesine uygun bir şekilde, bulaşıcı ajanlar bulaştırabileceği düşünüldükçe işleme alınmalıdır.¹⁴
- Kurumsal kılavuzlara göre numuneleri ve reaktifleri kullanırken laboratuvar eldiveni, laboratuvar önlüğü ve göz ve solunum koruması kullanın. Numunelerle ve kontrollerle işlem yaparken kontamine edici eldiven kullanmaktan kaçının. Eldivenler, kontaminasyonun önlenmesi için numuneler ile **cobas® MAI**, **cobas® MAI** Positive Control Kit, **cobas®** Buffer Negative Control Kit, **cobas® omni** reaktifler ve sarf malzemelerinin kullanılması arasında değiştirilmelidir.
- Numuneleri ve reaktifleri kullandıktan ve eldivenleri çıkardıktan sonra ellerinizi dezenfekte edin ve iyice yıkayın.
- Distile veya deiyonize suya %0,5 oranında sodyum veya potasyum hipoklorit ekleyerek taze hazırlayacağınız çözeltiyle laboratuvardaki tüm çalışma yüzeylerini iyice temizleyin ve dezenfekte edin. Bunun ardından %70 etanol içeren çözeltiyle yüzeyi silin.
- **cobas® 5800/6800/8800** sistemlerinde dökülme meydana gelirse, cihazların yüzeylerini düzgün şekilde temizleyip dekontamine etmek için **cobas® 5800** Sistemi veya **cobas® 6800/8800** sistemleri – Yardım Asistanı içinde verilen talimatları takip edin.

Numune alma, taşıma ve saklama

Not: Tüm numuneleri ve kontrolleri bulaşıcı madde yayma potansiyeli olduğunu varsayarak kullanın.

Numuneler

Ham balgam, NALC-NaOH ile işlenmiş balgam ve BAL sedimentleri, **cobas®** MAI ile kullanılabilir.

Numune taşıma ve saklama

Ham balgam numuneleri 2°C ila 35°C'de 3 güne kadar saklanabilir ve/veya taşınabilir, ardından numune sıvılaştırma ve MIS ile inaktivasyondan önce 2°C ila 8°C'de 7 güne kadar saklanabilir ve/veya taşınabilir. MIS ile ham balgam numunelerinin uzun süreli saklanması için $\leq -20^{\circ}\text{C}$ sıcaklıklar önerilir.

NALC-NaOH ile işlenmiş balgam ve BAL sedimenti numuneleri, MIS ile numune inaktivasyonundan önce 2°C ila 8°C'de 7 güne kadar saklanabilir. MIS ile ham balgam ve BAL sedimentlerinin uzun süreli saklanması için numuneler, iki donma/çözdürme döngüsü dahil olmak üzere 9 aya kadar $\leq -20^{\circ}\text{C}$ sıcaklıklarda donmuş halde saklanabilir.

Numuneler sevk edilecekse bulaşıcı numunelerin ve etiyolojik ajanların taşınmasına ilişkin geçerli ülke düzenlemelerine ve/veya ulusal düzenlemelere uygun şekilde ambalajlanıp etiketlenmelidir.

İnaktive edilmiş numunelerin saklanması

Ham balgam ve NALC-NaOH ile işlenmiş balgam ve MIS ile işlenmiş (inaktive edilmiş) BAL sediment numuneleri, 15°C ila 35°C'de 12 saate kadar, ardından 2°C ila 8°C'de 7 güne kadar ve **cobas®** 5800/6800/8800 sistemlerinde işlem öncesi iki donma/çözdürme döngüsü dahil olmak üzere $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 'de 30 güne kadar saklanabilir.

Not: MIS ile işlenmiş numuneler, yüksek izopropanol içeriğinden ötürü donmayabilir.

Not: Numunelerin sonikasyonu, en az 60 dakika boyunca MIS ile ilk inkübasyondan sonra herhangi bir zamanda yapılabilir. Daha ayrıntılı bilgi için “Numunelerin sonikasyonu” bölümüne bakın.

Kullanım talimatları

Prosedürle ilgili notlar

- **cobas® MAI**, **cobas® MAI Positive Control Kit'i**, **cobas® Buffer Negative Control Kit'i**, MIS veya **cobas® omni** reaktiflerini son kullanma tarihlerinden sonra kullanmayın.
- Sarf malzemelerini tekrar kullanmayın. Bunlar yalnızca tek kullanımlıktır.
- **cobas® MAI**, minimum 1,2 mL numune hacmiyle çalıştırılabilir ve bunun 850 µL kadarı işlenir.
- Numune tüpleri üzerindeki termostabil barkod etiketlerinin, MPA numune raklarının yan tarafının üstünde açık olan yarıklara doğru yönlendirildiğinden ve bu yarıklardan görüldüğünden emin olun. Doğru barkod spesifikasyonları ve numune tüplerinin yüklenmesine ilişkin ek bilgiler için Şekil 1'e ve **cobas® 5800/6800/8800** sistemleri Yardım Asistanı bakın.
- Numune tüplerinin, sonikasyondan sonra ve **cobas® 5800/6800/8800** sistemlerine yüklenmeden önce kapaklarının çıkarıldığından emin olun.
- Doğru cihaz bakımı için **cobas® 5800/6800/8800** sistemleri Yardım Asistanına bakın.

MAI'yi **cobas® 5800/6800/8800** sistemlerinde çalıştırmadan önce numuneler, aşağıdaki bölümlere göre işlenmelidir: “Ham balgam numunelerinin işlenmesi” veya “Balgam ve BAL sedimentlerinin işlenmesi” ve “Numunelerin sonikasyonu”. Kısaltılmış temsili iş akışları, ham balgam numune tipi için Tablo 14 içinde ve sediment numune tipi için Tablo 15 içinde özetlenmiştir. Daha detaylı bilgi için sonraki bölümlere bakın.

Not: **cobas® MIS** inaktivasyonu öncesindeki ve sonrasındaki numune işleme, yerel ve kuruma ait yönergeler ve düzenlemelere ve/veya uygun bir risk değerlendirmesine göre gerçekleştirilmelidir.¹⁶

Not: MIS ile işlenmiş numunelerin sonikasyonu, yerel ve kurumsal yönergelere veya düzenlemelere göre ve/veya uygun bir risk değerlendirmesine dayanılarak gerçekleştirilmelidir.¹⁶

Tablo 14 İş akışının genel görünümü – ham balgam numune tipi

1				1 ölçü ham balgama 2 ölçü MIS ekleyin
2		30–60 saniye		30–60 saniye boyunca kuvvetlice çalkalayın veya vorteksleyin
3		≥ 60 dakika		Numuneyi en az 60 dakika 15–30°C'de (oda sıcaklığı) inkübe edin
4		30–60 saniye		30–60 saniye boyunca kuvvetlice çalkalayın veya vorteksleyin
5		1 test için 1,2 mL 2 test için 2,4 mL 3 test için 3,6 mL		1,2 ila 3,6 mL MIS ile işlenmiş numuneyi vidalı kapaklı sekonder tüpe aktarın
6		5 dakika		MIS ile işlenmiş numuneyi sonike edin
7		En fazla 1 dakika		Numuneyi 3000 × g'lik en yüksek RCF'de en fazla 1 dakika santrifüjleyin
8				Kapaksız numuneyi cobas® 5800 veya cobas® 6800/8800 sistemlerine yükleyin ve ham balgam numune tipini kullanarak çalışmayı başlatın

Tablo 15 İş akışının genel görünümü – Sediment numune tipi

1		1 test için 0,2 mL 2 test için 0,4 mL 3 test için 0,6 mL	Vorteksleyin ve 0,2 ila 0,6 mL sediment numunesini vidalı kapaklı sekonder tüpe aktarın
2	  		1 ölçü sediment numunesine 5 ölçü MIS ekleyin • 1 test için 1 mL MIS (0,2 mL sediment numunesi) • 2 test için 2 mL MIS (0,4 mL sediment numunesi) • 3 test için 3 mL MIS (0,6 mL sediment numunesi)
3		30–60 saniye	30–60 saniye boyunca kuvvetlice çalkalayın veya vorteksleyin
4		≥ 60 dakika	Numuneyi en az 60 dakika 15–30°C'de (oda sıcaklığı) inkübe edin
5		30–60 saniye	30–60 saniye boyunca kuvvetlice çalkalayın veya vorteksleyin
6		5 dakika	MIS ile işlenmiş numuneyi sonike edin
7		En fazla 1 dakika	Numuneyi 3000 × g'lik en yüksek RCF'de en fazla 1 dakika santrifüjleyin
8			Kapaksız numuneyi cobas® 5800 veya cobas® 6800/8800 sistemlerine yükleyin ve sediment numune tipini kullanarak çalışmayı başlatın

Ham balgam numunelerinin işlenmesi

- Ham balgam kabının doğru etiketlendiğini ve minimum 0,4 mL balgam içerdiğini doğrulayın. Dondurulmuş olarak saklanmışsa, numuneyi çözündürerek ortam sıcaklığına gelmesine izin verin.
- Kullanmadan önce MIS şişelerini iki ila dört kez ters düz edin.
- Balgam kabını açın ve görsel hacim tahmini yoluyla ve tek kullanımlık bir pipet kullanarak bir ölçü balgam numunesine yaklaşık iki ölçü MIS ekleyin (ör., 1 mL balgam numunesine 2 mL MIS). Balgam kabını sıkıca kapatın.
- MIS şişelerini kullandıktan hemen sonra kapatın.
- 30–60 saniye boyunca kuvvetlice çalkalayın veya vorteksleyin.

Not: Tüm balgam numunesinin MIS ile karıştırıldığından emin olun.

- Numuneyi en az 60 dakika 15–30°C'de (oda sıcaklığı) inkübe edin.

Not: Maksimum saklama koşulları için “İnaktif numune saklama” bölümüne bakın.

- Numune tamamen homojen hale gelinceye kadar 30–60 saniye boyunca kuvvetlice çalkalayın veya vorteksleyin.

- En az 1,2 mL ve en fazla 3,6 mL MIS ile işlenmiş balgam numunesini termostabil bir barkod etiketli 5 mL'lik polipropilen vidalı kapaklı 75×13 mm, yuvarlak tabanlı tüpe (Sarstedt – tüp P/N 60.504.010, kapak P/N 65.163) aktarın. Tüpü sıkıca kapatın.

Not: Numunenin aktarılmasından önce, balgam kabı ve 5 mL sekonder tüp üzerindeki barkod bilgilerinin eşleştiğini doğrulayın.

Not: Bkz. Tablo 16.

- İnaktif numuneyi cobas® MAI'de çalıştırmadan önce “Numunenin sonikasyonu” bölümüne göre sonike edin.

Balgam ve BAL sedimentlerinin işlenmesi

- NALC-NaOH ile işlenmiş balgam ve BAL sedimenti kabının doğru etiketlendiğini ve en az 0,2 mL numune içerdiğini doğrulayın. Dondurulmuş olarak saklanmışsa, numuneyi çözündürerek ortam sıcaklığına gelmesine izin verin.
- Sediment numunesini en az 10 saniye vorteksleyin.
- En az 0,2 mL ve en fazla 0,6 mL sediment numunesini, barkod etiketli 5 mL'lik polipropilen vidalı kapaklı 75×13 mm, yuvarlak tabanlı tüpe (Sarstedt – tüp P/N 60.504.010, kapak P/N 65.163) aktarın.

Not: Numunenin aktarılmasından önce, numune kabı ve 5 mL sekonder tüp üzerindeki barkod bilgilerinin eşleştiğini doğrulayın.

- Kullanmadan önce MIS şişelerini iki ila dört kez ters düz edin.
- Bir ölçü numuneye beş ölçü MIS ekleyin (ör., 0,2 mL numuneye 1 mL MIS). Tüpü sıkıca kapatın.

Not: Bkz. Tablo 16.

- MIS şişelerini kullandıktan hemen sonra kapatın.
- 10 ila 20 kez kuvvetlice çalkalayın veya 30–60 saniye boyunca vorteksleyin.

Not: Tüm numunenin MIS ile karıştırıldığından emin olun.

- Numuneyi en az 60 dakika 15–30°C'de (oda sıcaklığı) inkübe edin.

Not: Maksimum saklama koşulları için “İnaktif numune saklama” bölümüne bakın.

- 30–60 saniye boyunca kuvvetlice çalkalayın veya vorteksleyin.
- İnaktif numuneyi cobas® MAI'de çalıştırmadan önce “Numunelerin sonikasyonu” bölümüne göre sonike edin.

Tablo 16 cobas® MAI'de çalıştırmak için cobas® Microbial Inactivation Solution ile işlenmiş numune hacmi gereklilikleri

Sekonder tüpten yapılacak test sayısı	Gerekli olan en düşük MIS ile işlenmiş numune hacmi	İzin verilen en yüksek MIS ile işlenmiş numune hacmi
1 test istemi	1,2 mL	3,6 mL
2 test istemi*	2,4 mL	3,6 mL
3 test istemi*	3,6 mL	3,6 mL

* Aynı numune tipini kullanan diğer cobas® 5800/6800/8800 testleriyle karışık batch halinde işlem için veya testin tekrarı için kullanılabilir.

Numunelerin sonikasyonu

- **cobas®** MAI'nin çalıştırılması için numunelerin sonikasyonu, Rinco Ultrasonics AG (P/N 46690) tüp sonikatörü TS 5 cihazı kullanılarak yapılmalıdır. Diğer sonikasyon cihazlarının kullanılması yanlış pozitif, yanlış negatif ve/veya geçersiz sonuçlara yol açabilir. Sonikatörün kullanımı, üreticinin Kullanıcı Kılavuzunda ayrıntılı olarak açıklanmıştır.
- 1,2 mL ila 3,6 mL MIS ile işlenmiş numuneyi içeren beş barkod etiketli kapalı vidalı kapaklı tüpü bir MPA rakına yerleştirin.

Not: Numune tüpleri üzerindeki termostabil barkod etiketlerinin, MPA numune raklarının yan tarafının üstünde açık olan yarıklara doğru yönlendirildiğinden ve bu yarıklardan görüldüğünden emin olun (bkz. Şekil 1).

Not: Her tüpün bir barkod etiketi olduğundan emin olun.

Not: MPA rakının beş tüp konumunun tamamen dolu olduğundan emin olun. MIS ile işlenmiş numuneyi içeren beşten az tüp varsa, kalan konumlar aynı tüp tipinde ve barkod etiketli, suyla veya MIS ile doldurulmuş “sahte” tüplerle doldurulmalıdır.

Şekil 1 Sonikasyondan önce MPA rakına numune tüplerinin doğru yerleşimi



- Tüp sonikatörünü başlatın.
- Önceden tanımlanmış “Solunum numuneleri” sonikasyon profilini seçin.
- Tüp sonikatörü cihazını açın ve MPA rakını üreticinin talimatlarına göre yerleştirin.
- Tüp sonikatörünü kapatın.
- Sonikasyonun çalışmasını başlatın.
- Sonikasyon çalışmasının başarılı olduğunu doğrulayın ve MPA rakını çıkarın.

Not: Numune tüplerinin sonikasyon çalışması sırasında ısınması beklenir. Numune tüpleriyle birlikte MPA rakını çıkarırken dikkatli olun.

Not: Sonikasyon hatası durumunda, üreticinin talimatlarına bakın, nedenini düzeltin ve numunelerin en az 15 dakika soğumasını bekledikten sonra sonikasyon çalışmasını tekrarlayın.

- MIS ile işlenmiş ve sonike edilmiş numuneler artık **cobas®** MAI'de çalıştırılabilir veya “İnaktif numune saklama” bölümüne göre saklanabilir.

cobas® 5800/6800/8800 sistemleri üzerinde cobas® MAI testini çalıştırma

- Cihazların çalışması, detaylı olarak **cobas® 5800** sistemi veya **cobas® 6800/8800** sistemleri Yardım Asistanında açıklanmıştır.
- Doğru cihaz bakımı için **cobas® 5800** sistemi veya **cobas® 6800/8800** sistemleri Yardım Asistanına bakın.
- Tüplerin kapaklarının çıkarılmasından ve numunelerin **cobas® 5800** sistemine yüklenmesinden önce, en fazla 3000 × g RCF'de maksimum 1 dakika boyunca numunenin santrifüjlenmesi yoluyla hücre ve matris birikintilerinin pelletlenmesi önerilir.
- Tek bir çalışmada numune kombinasyonu (ham balgam, sediment) kullanılabilir.
- Numune tüpleri üzerindeki numune barkod etiketlerinin, RD5 veya MPA numune raklarının yan kısımlarındaki açıklıklardan görüldüğünden emin olun. Doğru barkod spesifikasyonları ve numune tüplerinin yüklenmesine ilişkin ek bilgiler için **cobas® 5800** sistemi veya **cobas® 6800/8800** sistemleri Yardım Asistanına bakın.

Not: Numuneler sonikasyondan sonra ve santrifüjden önce 1 saatten fazla saklandıysa, numuneleri en az 10 saniye vorteksleyin.

Not: Santrifüjleme adımının atlanması, **cobas® 5800** sisteminde numune pıhtılarının oranının artmasına neden olabilir.

Şekil 2 cobas® 5800 sistemi üzerinde cobas® MAI test prosedürü

1	Sistemde oturum açın
2	Numuneleri sisteme yükleme: • Tüplerin kapağını çıkarın • Tüpü doğrudan raka transfer edin • Numune raklarını sisteme yükleyin • Sistem otomatik olarak hazırlar • Test istemi gönderin • MIS eklenen ham balgam numunelerini tanımlamak için “Raw sputum” (Ham balgam) seçin • MIS eklenen balgam/BAL sedimenti numunelerini tanımlamak için “Sediment”i seçin
3	Sistem tarafından komut verilen şekilde reaktifleri ve sarf malzemelerini tekrar doldurun: • Teste özel reaktif kasetlerini yükleyin • Kontrol mini raklarını yükleyin • İşleme uçlarını yükleyin • Elüsyon uçlarını yükleyin • İşleme plakalarını yükleyin • Sıvı atık plakalarını yükleyin • Amplifikasyon plakalarını yükleyin • MGP kasetini yükleyin • Numune dilüentini doldurun • Lizis reaktifini doldurun • Yıkama reaktifini doldurun
4	Kullanıcı arayüzünden “Start processing” (İşlemi başlat) düğmesini seçerek çalışmayı başlatın; sonraki tüm çalışmalar, manuel olarak ertelenmediği sürece otomatik olarak çalıştırılacaktır
5	Sonuçları inceleyip dışa aktarın
6	Tekrar kullanım için gerekliyse minimum hacmi yeterli olan tüm numune tüplerini çıkarıp kapaklarını kapatın Cihazı temizleyin: • Boş kontrol mini raklarını çıkarın • Teste özel boş reaktif kasetlerini çıkarın • Amplifikasyon plakası çekmecesini boşaltın • Sıvı atığı boşaltın • Katı atığı boşaltın

Şekil 3 cobas® 6800/8800 sistemlerinde üzerinde cobas® MAI test prosedürü

1	Sistemde oturum açın Sistemi hazırlamak için “Start” (Başlat) düğmesine basın Test istemi gönderin - MIS eklenen ham balgam numunelerini tanımlamak için “Raw sputum” (Ham balgam) seçin - MIS eklenen balgam/BAL sedimenti numunelerini tanımlamak için “Sediment”i seçin
2	Sistem tarafından komut verilen şekilde reaktifleri ve sarf malzemelerini tekrar doldurun: - Teste özel reaktif kasetini yükleyin - Kontrol kasetlerini yükleyin - Pipet uçlarını yükleyin - İşleme plakalarını yükleyin - MGP reaktifini yükleyin - Amplifikasyon plakalarını yükleyin - Numune dilüentini doldurun - Lizis reaktifini doldurun - Yıkama reaktifini doldurun
3	Numuneleri sisteme yükleme: - Her numune için - Tüpün kapağını çıkarın - Tüpü raka transfer edin - Numune rakını ve pıhtı uç raklarını numune besleme modülüne yükleyin - Numunelerin aktarma modülüne kabul edildiğini onaylayın
4	Çalışmayı başlatın
5	Sonuçları inceleyip dışa aktarın
6	Tekrar kullanım için gerekliyse minimum hacmi yeterli olan tüm numune tüplerini çıkarıp kapaklarını kapatın Cihazı temizleyin - Boş kontrol kasetlerini çıkarın - Amplifikasyon plakası çekmecesini boşaltın - Sıvı atığı boşaltın - Katı atığı boşaltın

Sonuçlar

cobas® MAI, testin geçerliliğini ve ayrı hedef sonuçlarını görüntüleyerek numuneler ve kontroller için *M. avium* ve *M. intracellulare* DNA'yı otomatik olarak saptar ve ayırt eder.

- Yazılım sürümü 2.0 veya üzeri olan **cobas® 5800** sistemi ve **cobas® 6800/8800** sistemleri ile alınan sonuçların kalite kontrolü ve geçerliliği.
- En az her 72 saatte bir ve her yeni kit lotu ile bir **cobas® Buffer Negative Control** [(-) Ctrl] ve bir **cobas® MAI Positive Control** [MAI (+) C] işlenir. Pozitif ve/veya negatif kontroller, laboratuvar prosedürlerine ve/veya yerel düzenlemelere göre daha sık olacak şekilde planlanabilir.
- Yazılımda ve/veya raporda, sonuç geçerliliğinden emin olmak için işaretlerini ve ilgili sonuçlarını kontrol edin ("İşareti kodlarının listesi" için x800 Data Manager Yardım Asistanına bakın).
- Kontrolün ilgili hedefleri geçerli olarak rapor edilirse kontroller, "Control result" (Kontrol sonucu) sütununda "Valid" (Geçerli) olarak işaretlenir. Kontrollerin ilgili Hedefleri geçersiz olarak rapor edilirse kontroller, "Control result" sütununda "Invalid" (Geçersiz) olarak işaretlenir.
- "Invalid" işaretli kontroller, "Flags" (İşaretleri) sütununda bir işareti gösterir. İşareti bilgileri dahil olmak üzere kontrolün neden geçersiz olarak rapor edildiğine dair daha fazla bilgi, ayrıntılı görünüm içinde gösterilir.
- Kontrollerden biri geçersiz olursa, tüm kontrollerin ve tüm ilişkili numunelerin test işleminin tekrarlanması gerekir.

Sonuçların validasyonu, kontrol sonuçlarına göre cihaz yazılımı tarafından otomatik olarak gerçekleştirilir.

NOT: Yazılım sürümü 2.0 veya üzeri olan **cobas® 5800** sistemi ve **cobas® 6800/8800** sistemleri, her çalışmada kontrol seti (pozitif ve negatif) çalıştırılacak şekilde belirlenmiş standart ayarla temin edilir ancak laboratuvar prosedürlerinize ve/veya yerel düzenlemelere göre her 72 saatten daha az sıklıkta bir kontrol planına yapılandırılabilir. Daha fazla bilgi için Roche servis mühendisiniz ve/veya Roche müşteri teknik destek birimi ile iletişime geçin.

Yazılım sürümü 1.4 olan **cobas® 6800/8800** sistemleri ile alınan sonuçların kalite kontrolü ve geçerliliği

- İstenilen sonuç tipinin her batch'i ile birlikte bir **cobas® Buffer Negative Control** [(-) Ctrl] ve bir **cobas® MAI Positive Control** [MAI (+) C] işlenir.
- cobas® 6800/8800** sistemlerinin yazılımında ve/veya raporunda, batch geçerliliğinden emin olmak için işaretlerini ve bunlarla ilişkili sonuçları kontrol edin.
- Tüm işaretleri, **cobas® 6800/8800** sistemleri Yardım Asistanında açıklanmıştır.
- Hiçbir kontrol için işareti görünmüyorsa batch geçerlidir. Batch geçersizse tüm batch'te testin tekrarlanması gerekir.

Batch sonuçlarının validasyonu, kontrol sonuçlarına göre cihaz yazılımı tarafından otomatik olarak gerçekleştirilir.

cobas® 5800/6800/8800 sistemlerindeki sonuçların yorumlanması

Sonuçlar ve bunların MAI'nin saptanması için yorumlanması Tablo 17 içinde gösterilmiştir.

Tablo 17 cobas® MAI sonuçları ve yorumlanması

Hedef 1	Hedef 2	Yorum
MIN Positive	MAV Positive	İstenilen tüm sonuçlar geçerlidir. <i>M. intracellulare</i> ve <i>M. avium</i> DNA için hedef sinyal saptandı.
MIN Positive	MAV Negative	İstenilen tüm sonuçlar geçerlidir. <i>M. intracellulare</i> DNA için hedef sinyal saptandı. <i>M. avium</i> DNA için hedef sinyal saptanmadı.
MIN Positive	Invalid	İstenilen tüm sonuçlar geçerli değildir. <i>M. intracellulare</i> DNA için hedef sinyal saptandı. <i>M. intracellulare</i> sonucu geçerlidir. <i>M. avium</i> sonucu geçersizdir. Geçerli <i>M. avium</i> sonuçlarının elde edilmesi için orijinal numune tekrar test edilmelidir. Sonuç hala geçersizse yeni bir numune alınmalıdır.
MIN Negative	MAV Positive	İstenilen tüm sonuçlar geçerlidir. <i>M. intracellulare</i> DNA için hedef sinyal saptanmadı. <i>M. avium</i> DNA için hedef sinyal saptandı.
MIN Negative	MAV Negative	İstenilen tüm sonuçlar geçerlidir. <i>M. intracellulare</i> DNA için hedef sinyal saptanmadı. <i>M. avium</i> DNA için hedef sinyal saptanmadı.
MIN Negative	Invalid	İstenilen tüm sonuçlar geçerli değildir. <i>M. intracellulare</i> DNA için hedef sinyal saptanmadı. <i>M. intracellulare</i> sonucu geçerlidir. <i>M. avium</i> sonucu geçersizdir. Geçerli <i>M. avium</i> sonuçlarının elde edilmesi için orijinal numune tekrar test edilmelidir. Sonuç hala geçersizse yeni bir numune alınmalıdır.
Invalid	MAV Positive	İstenilen tüm sonuçlar geçerli değildir. <i>M. intracellulare</i> sonucu geçersizdir. Geçerli <i>M. intracellulare</i> sonuçlarının elde edilmesi için orijinal numune tekrar test edilmelidir. Sonuç hala geçersizse yeni bir numune alınmalıdır. <i>M. avium</i> DNA için hedef sinyal saptandı. <i>M. avium</i> sonucu geçerlidir.
Invalid	MAV Negative	İstenilen tüm sonuçlar geçerli değildir. <i>M. intracellulare</i> sonucu geçersizdir. Geçerli <i>M. intracellulare</i> sonuçlarının elde edilmesi için orijinal numune tekrar test edilmelidir. Sonuç hala geçersizse yeni bir numune alınmalıdır. <i>M. avium</i> DNA için hedef sinyal saptanmadı. <i>M. avium</i> sonucu geçerlidir.
Invalid	Invalid	Hem <i>M. intracellulare</i> hem de <i>M. avium</i> sonuçları geçersizdir. Geçerli <i>M. intracellulare</i> ve <i>M. avium</i> sonuçlarının elde edilmesi için orijinal numune tekrar test edilmelidir. Sonuçlar hala geçersizse yeni bir numune alınmalıdır.

Yazılım sürümü 2.0 veya üzeri olan cobas® 5800 sistemi ve cobas® 6800/8800 sistemleri ile alınan sonuçların yorumlanması

Numunelerin sonuçları, yazılımın “Results” uygulamasında gösterilir. Sonuç ekranı örnekleri Şekil 4 içerisinde verilmektedir.

Geçerli bir kontrol batch için yazılımda ve/veya raporda her bir numuneyi işaretleri açısından kontrol edin. Sonuç yorumu aşağıdaki şekilde olmalıdır:

- İlgili kontrol hedefi sonuçları geçerli olarak bildirildiyse geçerli bir kontrol batch ile ilişkili olan numuneler “Control result” (Kontrol sonucu) sütununda “Valid” (Geçerli) şeklinde gösterilir. İlgili kontrol hedefi sonuçları geçersiz olarak bildirildiyse başarısız bir kontrol batch ile ilişkili olan numuneler “Control result” sütununda “Invalid” (Geçersiz) şeklinde gösterilir.

- Bir numune sonucunun ilişkili kontrolleri geçersizse, numune sonucuna aşağıdaki gibi belirli bir işareti eklenir:
 - Q05D: Geçersiz pozitif kontrol nedeniyle sonuç validasyonu başarısız
 - Q06D: Geçersiz negatif kontrol nedeniyle sonuç validasyonu başarısız
- Ayrı numune hedef sonucu için “Results” (Sonuçlar) sütununda yer alan değerler, yukarıda Tablo 17 içinde gösterilen şekilde yorumlanmalıdır.
- Bir veya daha fazla numune hedefi “Invalid” (Geçersiz) olarak işaretlendiye yazılım, “Flags” (İşaretleri) sütununda bir işareti görüntüler. İşareti bilgileri dahil olmak üzere numune hedefinin/hedeflerinin neden geçersiz olarak rapor edildiğine dair daha fazla bilgi, ayrıntılı görünüm içinde gösterilmiştir.

Şekil 4 cobas® 5800 sistemi ve cobas® 6800/8800 sistemleri yazılım sürümü 2.0 üzerinde cobas® MAI sonuçlarının örneği

Numune kimliği	Test	Kontrol sonucu	İşareti	Durum	Sonuç		Oluşturma tarihi/saati
MIA_S_pos-02	MAI	Valid		Released	MIN Positive (Ct 38.51)	MAV Positive (Ct 39.27)	6/30/2022 1:33:50 PM
MAI_S_pos-01	MAI	Valid		Released	MIN Positive (Ct 37.15)	MAV Positive (Ct 37.42)	6/30/2022 1:33:51 PM
MAI_S_neg-02	MAI	Valid		Released	MIN Negative	MAV Negative	6/30/2022 1:33:52 PM
MAI_S_neg-01	MAI	Valid		Released	MIN Negative	MAV Negative	6/30/2022 1:33:51 PM
MAI_S_inv-01	MAI	Valid		Released	MIN Invalid	MAV Invalid	6/30/2022 1:33:53 PM
MAI_RS_pos-02	MAI	Valid		Released	MIN Positive (Ct 38.72)	MAV Positive (Ct 38.61)	6/30/2022 1:33:51 PM
MAI_RS_pos-01	MAI	Valid		Released	MIN Positive (Ct 37.39)	MAV Positive (Ct 37.49)	6/30/2022 1:33:51 PM

Yazılım sürümü 1.4 olan cobas® 6800/8800 sistemlerindeki sonuçların yorumlanması

Geçerli bir batch için, cobas® 6800/8800 sistemleri yazılımında ve/veya raporda her bir numuneyi işaretleri açısından kontrol edin. Sonuç yorumu aşağıdaki şekilde olmalıdır:

- Geçerli bir batch hem geçerli hem de geçersiz numune sonuçları içerebilir.
- “Valid” (Geçerli) ve “Overall Result” (Genel Sonuç) sütunları, cobas® MAI için numune sonuçlarında uygulanmaz ve “NA” (Uygulanmaz) olarak işaretlenir. Bu sütunlarda raporlanan değerler uygulanmaz ve ayrı Hedef Sonuç sütunlarında raporlanan sonuçların geçerliliğini etkilemez.
- Ayrı numuneler için raporlanan hedef sonuçlar, ayrı hedef sonucu sütununda “Invalid” (Geçersiz) olarak belirtilmediği sürece geçerlidir.
- Bu testin sonuçları yalnızca hastanın klinik değerlendirmesi ve hasta geçmişinde mevcut olan bilgilerle birlikte yorumlanmalıdır.

Şekil 5 cobas® 6800/8800 sistemleri yazılım sürümü 1.4 üzerinde cobas® MAI sonuçlarının örneği

Test	Numune kimliği	Geçerli	İşaretler	Numune tipi	Genel sonuç	Hedef 1	Hedef 2
MAI	MAI_R_0001	NA		Raw sputum	NA	MIN Negative	MAV Positive
MAI	MAI_R_0002	NA		Raw sputum	NA	MIN Positive	MAV Negative
MAI	MAI_R_0003	NA	P02T	Raw sputum	NA	Invalid	Invalid
MAI	MAI_S_0001	NA		Sediment	NA	MIN Negative	MAV Positive
MAI	MAI_S_0002	NA		Sediment	NA	MIN Positive	MAV Negative
MAI	MAI_S_0003	NA	C02H1	Sediment	NA	Invalid	Invalid
MAI	C161420284090428828404	Yes		(-) Ctrl	Valid	Valid	Valid
MAI	C161420284093009580264	Yes		MAI (+) C	Valid	Valid	Valid

Prosedür ile ilgili sınırlamalar

- **cobas® MAI**, yanlış negatif sonuç riskini en aza indirmek ve ayrıca hasta yönetimine yardımcı olmak amacıyla MAC izolasyonunun ilaç duyarlılığı testinin yapılmasını sağlamak için her zaman mikobakteriyel kültürle birlikte yapılmalıdır.
- **cobas® MAI**'nin performansı, ham balgam için ve NALC-NaOH kullanılarak sıvılaştırılan, dekontamine edilen ve konsantre hale getirilen balgam ve BAL sedimenti numuneleri için doğrulanmıştır. Diğer numune tiplerinin kullanılması yanlış pozitif, yanlış negatif ve/veya geçersiz sonuçlara yol açabilir.
- Sindirim ve dekontaminasyon, CDC tarafından önerilen NALC-NaOH prosedürleri kullanılarak gerçekleştirilmelidir.¹⁹ Pre-analitik alternatif numune hazırlama prosedürlerinin kullanılması yanlış pozitif, yanlış negatif ve/veya geçersiz sonuçlara neden olabilir.
- **cobas® MAI**, ham balgam ve MIS kullanılarak kimyasal olarak inaktive edilmiş BAL sedimenti ve NALC-NaOH ile işlenmiş balgam numuneleri ile kullanım için valide edilmiştir. Diğer inaktivasyon prosedürleri değerlendirilmemiştir ve yanlış pozitif, yanlış negatif ve/veya geçersiz sonuçlara yol açabilir.
- Mikobakteriyel inaktivasyondaki başarı, bu belgede tanımlanan prosedürlere uyulmasına ve numunenin tamamen MIS ile karıştırılmasına bağlıdır. MIS ile numune sıvılaştırma ve mikobakteriyel aktivasyon, yerel ve kurumsal kılavuzlara veya düzenlemelere göre ve uygun risk değerlendirmesine dayanılarak gerçekleştirilmelidir.
- Hacim kısıtlamalarının aşılması ve/veya “Ham balgam numunelerinin işlenmesi”, “Balgam ve BAL sedimentlerinin işlenmesi” ve “Numunelerin sonikasyonu” bölümlerinde belirtilen prosedür adımlarında sapma olması yanlış pozitif, yanlış negatif ve/veya geçersiz sonuçlara yol açabilir.
- Nükleik Asit Amplifikasyonu testleri, organizmaların canlılığını tespit edemeyebilir.
- Bu test kullanılarak terapötik başarı veya başarısızlık tespit edilemez.
- Bu ürünü sadece PCR tekniklerinde ve **cobas® 5800/6800/8800** sistemlerinin kullanımında eğitimli olan personel kullanılmalıdır.
- **cobas® MAI**, yalnızca **cobas® 5800/6800/8800** sistemleri ile kullanıma yönelik **cobas® MAI Positive Control Kit**, **cobas® Buffer Negative Control Kit**, **cobas® omni MGP Reagent**, **cobas® omni Lysis Reagent**, **cobas® omni Specimen Diluent** ve **cobas® omni Wash Reagent**, MIS ve Rinco Ultrasonics AG tüp sonikatörü TS 5 ile birlikte kullanım için değerlendirilmiştir.
- Güvenilir sonuçlar, doğru numune alma, saklama ve kullanım prosedürlerine dayalıdır.
- **cobas® MAI**, tedavi yanıtını izlemek amacıyla veya tedavi için bir test olarak solunum numuneleriyle kullanım için endike değildir.
- **cobas® MAI**, *M. intracellulare* ve *M. avium* arasında ayrım yapar. *M. avium* kompleksinin diğer türleri, **cobas® MAI** tarafından saptanır ancak ayırt edilmez. *M. intracellulare* veya *M. avium* hedefinde saptanırlar. Detaylı bilgi için “Performans Değerlendirmesi” bölümündeki kapsayıcılık çalışmasına bakın.
- *M. avium* kompleksinin saptanması, numunede bulunan organizmaların sayısına bağlıdır ve numune toplama yöntemleri ve hasta faktörlerinden (yaş, hastalığın şiddeti, HIV durumu) etkilenebilir.
- Hem MAC hem de HIV ile enfekte olan hastalarda, numunelerin smear mikroskopisinin negatif olma ve dolayısıyla testin saptama sınırının altındaki seviyelerde MAC DNA'sının bulunması olasılığı daha yüksektir.
- Sağlık hizmeti uzmanları, sonuçları hastanın öyküsü, klinik tablosu ve diğer laboratuvar ve radyografi test sonuçları ile birlikte yorumlamalıdır.
- Polimeraz inhibisyonu nedeniyle yanlış negatif veya geçersiz sonuçlar alınabilir. Nükleik asit izolasyonu ve PCR amplifikasyonuna engel olabilecek maddeler içeren numuneleri tanımlamaya yardımcı olması için dahili kontrol, **cobas® MAI**'ye eklenmiştir.

- AmpErase enziminin **cobas®** MAI Master Mix reaktifine eklenmesi, hedef DNA'nın selektif amplifikasyonunu sağlar; ancak iyi laboratuvar uygulamaları ve bu Kullanım Talimatları belgesinde belirtilen prosedürlere tam uyum, reaktiflerde kontaminasyondan kaçınmak için gereklidir.
- Nadir olsa da **cobas®** MAI primerleri ve/veya problemleri tarafından kapsanan *M. avium* kompleksinin genomik DNA'sının yüksek oranda korunan bölgelerindeki mutasyonlar, bakteri varlığının saptanamamasıyla sonuçlanabilir.
- Teknolojiler arasındaki içsel farklılıklardan ötürü, bir teknolojiye geçmeden önce kullanıcıların, teknoloji farklılıklarını değerlendirmek için kendi laboratuvarlarında yöntem korelasyon çalışmaları yapmaları önerilir. Teknolojiler arasında yukarıda belirtilen farklılıklar nedeniyle sonuçlar arasında yüzde yüz uyum beklenmemelidir.
- Tablo 10 içinde önerilenler dışında diğer tüplerin kullanılması, laboratuvarda **cobas®** MAI iş akışına uygulanmadan önce kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır. Diğer tüp tiplerinin kullanılması, tüplerin hasar görmesine ve sonikatör yüzeylerinin kontaminasyonuna neden olabilir. Yetersiz sonikasyon enerji aktarımı nedeniyle yanlış negatif sonuçlar da oluşabilir.
- Tablo 10 içinde önerilenler dışında diğer barkodların kullanılması, laboratuvarda **cobas®** MAI iş akışına uygulanmadan önce kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır. Diğer barkodların kullanılması barkodun zarar görmesine neden olabilir.

Performans değerlendirmesi

Sistem eşdeğerliği

cobas® 5800, **cobas® 6800** ve **cobas® 8800** sistemlerinin sistem eş değerliği, performans çalışmaları ile kanıtlanmıştır. Bu Kullanım Talimatlarında sunulan veriler, tüm sistemler için eş değer performansı destekler.

Temel performans zellikleri

Numune inaktivasyonu

Numunelerin MIS ile işlenmesiyle mikobakteriyel enfeksiyon riskinin azaltılması, üç farklı tesiste iki MTB kompleks suşunun (MTB CDC268 ve MTB H37) yüksek pozitif kültürleri ve üç farklı MIS reaktif lotu kullanılarak değerlendirilmiştir. Her durum için, 5×10^7 CFU/mL'ye kadar konsantrasyon seviyelerine sahip beş kültür alikotu, 1:2 oranında MIS ile oda sıcaklığında 60 dakika boyunca işlenmiştir. Numuneler daha sonra 15 dakika boyunca $3000 \times g$ 'de santrifüjlenmiş, iki kez steril PBS ile yıkanmış ve son olarak 0,5 mL steril PBS içinde yeniden süspanse edilmiştir. İki tesiste, inaktive edilmiş numunenin tamamı inoküle edilmiş ve BACTEC™ MGIT™ 320 mikobakteriyel saptama sistemi (Becton Dickinson) kullanılarak üreme açısından test edilmiştir. nc tesiste MTB canlılığı, katı Löwenstein-Jensen (LJ) besiyerinde test edilmiştir. İnaktive edilen numunelerin hiçbirinde, 56 günlük inkübasyon sresinin sonunda *M. tuberculosis* kompleks bakteri üremesi görülmemiştir.

Saptama sınırı (LoD)

cobas® MAI'nin saptama sınırı, iki havuzlanmış negatif klinik matriste (ham balgam ve balgam/BAL sedimentleri) bir *M. intracellulare* suşu (ATCC® 13209™) ve bir *M. avium* suşunun (ATCC® 19075™) seri dilüsyonlarının analizi ile tespit edilmiştir. Konsantrasyon seviyesi panelleri artı bir kr, birden fazla çalışma, gün, operatör ve cihaz üzerinde üç lot **cobas® MAI** test reaktifini kullanarak konsantrasyon başına toplam 72 kopya ile test edilmiştir.

M. intracellulare için LoD, 46,3 CFU/mL (balgam/BAL sedimenti) ile 46,6 CFU/mL (ham balgam) aralığındadır.

M. avium için LoD, 43,5 CFU/mL (balgam/BAL sedimenti) ile 44,9 CFU/mL (ham balgam) aralığındadır.

Kapsayıcılık

M. avium kompleksinin on bir yesi için **cobas® MAI**'nin kapsayıcılığı, toplam 25 suşun test edilmesiyle doğrulanmıştır.

Aşağıdaki türler saptanmış ve *M. intracellulare* pozitif sonuçlarını vermiştir:

- *M. intracellulare* (ATCC® 25130™, ATCC® 35763™, B99-03.25.0163, B99-04.23.0178, B00-08.20.1090, B99-05.19.0190, B98-10.30.0156)
- *M. arosiense* (E. Tortoli)
- *M. chimaera* (HO1421839)
- *M. colombiense* (DSM 45105)
- *M. indicus pranii* (DSM 45239)
- *M. marseillense* (CCUG 56325 T)
- *M. timonense* (11324/16)
- *M. vulneris* (DMS 45247)

- *M. yongonense* (B04-09.20.0164)

Aşağıdaki türler saptanmış ve *M. avium* pozitif sonuçlarını vermiştir:

- *M. avium* (N-315 ve N-337, Japon hastalardan kültür izolatu)
- *M. avium* alt türü *avium* (B95-X25 serotip 3, B95-25522 serotip 8, B95-18302 serotip 15, ATCC® 35718™)
- *M. avium* alt türü *hominissuis* (ITM 960255)
- *M. avium* alt türü *paratuberculosis* (B98-11.02.0221)
- *M. avium* alt türü *silvaticum* (DSM 44157)
- *M. bouchodurhonense* (CCUG 56331)

Tüm suşlar, sediment numune tipi kullanılarak sırasıyla *M. intracellulare* ve *M. avium* için 256 CFU/mL ve 241 CFU/mL'de saptanmıştır.

Kesinlik

Kurum içi kesinlik, iki havuzlanmış negatif klinik matriste (ham balgam ve balgam/BAL sedimentleri) seyreltilmiş *M. intracellulare* (ATCC® 13209™) ve *M. avium* (ATCC® 19075™) kültürlerinden oluşan bir panel kullanılarak incelenmiştir. Değişkenlik kaynakları, üç lot **cobas®** MAI reaktifi ve iki cihaz kullanılarak üç konsantrasyon seviyesinden oluşan bir panel ile 12 günlük bir süre boyunca ve toplam 24 çalışma ile incelenmiştir. Kesinlik panellerinin tanımı ve gözlenen pozitiflik oranları Tablo 18 ve Tablo 19 içinde gösterilmiştir. Tüm negatif panel ögeleri, çalışma boyunca negatif test sonucu vermiştir. Standart sapma analizi ve pozitif panel ögelerinde uygulanan testlerden Ct değerlerinin varyasyon katsayısı (CV) oranı (bkz. Tablo 20 ve Tablo 21), *M. intracellulare* için %1,5 ila %2,7 ve *M. avium* için %1,5 ila %2,5 arasında değişen genel CV (%) oranını vermiştir.

Tablo 18 Laboratuvar içi kesinlik özeti – *M. intracellulare*

Hedef konsantrasyon	Test edilen N	N MIN pozitif	MIN pozitiflik oranı	%95 güven aralığı	
				Alt sınır	Üst sınır
M. intracellulare – ham balgam					
Negatif	48	0	%0,0	%0,0	%7,4
77,4 CFU/mL	48	48	%100,0	%92,6	%100,0
232 CFU/mL	48	48	%100,0	%92,6	%100,0
M. intracellulare – sediment					
Negatif	48	0	%0,0	%0,0	%7,4
74,3 CFU/mL	48	48	%100,0	%92,6	%100,0
223 CFU/mL	48	48	%100,0	%92,6	%100,0

Tablo 19 Laboratuvar içi kesinlik özeti – *M. avium*

Hedef konsantrasyon	Test edilen N	N MAV pozitif	MAV pozitiflik oranı	%95 güven aralığı	
				Alt sınır	Üst sınır
M. avium – ham balgam					
Negatif	48	0	%0,0	%0,0	%7,4
88,0 CFU/mL	48	48	%100,0	%92,6	%100,0
264 CFU/mL	48	48	%100,0	%92,6	%100,0
M. avium – sediment					
Negatif	48	0	%0,0	%0,0	%7,4
71,1 CFU/mL	48	48	%100,0	%92,6	%100,0
213 CFU/mL	48	48	%100,0	%92,6	%100,0

Tablo 20 Döngü eşiği için genel ortalama, standart sapmalar ve varyasyon katsayıları (%), *M. intracellulare* pozitif paneller

Hedef konsantrasyon	Pozitiflik oranı	Ortalama Ct	Çalışma içi		Çalışma arası		Gün arası		Cihaz arası		Lot arası		Toplam	
			SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%
M. intracellulare – ham balgam														
77,4 CFU/mL	%100,0	37,6	0,83	2,2	0,00	0,0	0,48	1,3	0,20	0,5	0,00	0,0	0,98	2,6
232 CFU/mL	%100,0	36,5	0,74	2,0	0,47	1,3	0,33	0,9	0,00	0,0	0,29	0,8	0,98	2,7
M. intracellulare – sediment														
74,3 CFU/mL	%100,0	38,1	0,56	1,5	0,34	0,9	0,00	0,0	0,17	0,4	0,13	1,8	0,69	1,8
223 CFU/mL	%100,0	36,9	0,37	1,0	0,25	0,7	0,00	0,0	0,33	0,9	0,00	0,0	0,56	1,5

Tablo 21 Döngü eşiği için genel ortalama, standart sapmalar ve varyasyon katsayıları (%), *M. avium* pozitif paneller

Hedef konsantrasyon	Pozitiflik oranı	Ortalama Ct	Çalışma içi		Çalışma arası		Gün arası		Cihaz arası		Lot arası		Toplam	
			SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%
M. avium – ham balgam														
88,0 CFU/mL	%100,0	37,9	0,87	2,3	0,00	0,0	0,25	0,7	0,24	0,6	0,00	0,0	0,94	2,5
264 CFU/mL	%100,0	36,4	0,48	1,3	0,40	1,1	0,35	1,0	0,16	0,4	0,00	0,0	0,73	2,0
M. avium – sediment														
71,1 CFU/mL	%100,0	38,8	0,51	1,3	0,25	0,7	0,10	0,3	0,00	0,0	0,11	0,3	0,59	1,5
213 CFU/mL	%100,0	37,5	0,50	1,3	0,34	0,9	0,40	1,0	0,00	0,0	0,12	0,3	0,74	2,0

Analitik özgüllük/çapraz reaktivite

Solunum yolunda yaygın şekilde bulunanlar dahil, 173 bakteri, mantar ve virüslerden oluşan bir panel, analitik özgüllüğün değerlendirilmesi için cobas® MAI ile test edilmiştir. Tablo 22 içinde listelenen organizmalar, bakteriler için yaklaşık 1×10^6 birim/mL ve virüsler için yaklaşık 1×10^5 birim/mL konsantrasyonlarda test edilmiştir. Test, *M. intracellulare*/ *M. avium* hedefinin yokluğunda ve varlığında potansiyel olarak etkileşimde bulunan her organizma ile gerçekleştirilmiştir (200 CFU/mL'de). Organizmaların hiçbirisi, test performansı ile interferans oluşturarak yanlış pozitif sonuçlara neden olmamıştır. *M. intracellulare*/ *M. avium* hedefinin saptanması, konsantrasyon seviyeleri $> 1E+05$ CFU/mL'de *M. kansasii*

ve *M. szulgai* ve konsantrasyon seviyeleri $> 1E+04$ CFU/mL'de *M. gastri* haricinde test edilen organizmalardan etkilenmemiştir.

Histoplasma capsulatum, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium pinnipedii* ve *Mycobacterium suricattae* için potansiyel çapraz reaktivite, *in siliko* olarak değerlendirilmiştir. *In siliko* analizlerin sonuçları, cobas® MAI kullanırken bu organizmaların amplifikasyon ve saptama olasılığının düşük olduğunu tahmin eder.

Tablo 22 Analitik özgünlük/çapraz reaktivite için test edilen mikroorganizmalar

Mikroorganizma	Konsantrasyon	Mikroorganizma	Konsantrasyon
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium gordonae</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium haemophilum</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Actinomyces israelii</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium holsaticum</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium intermedium</i>	1,0E+06 CFU/mL
Adenovirüs	1,0E+05 U/mL	<i>Mycobacterium kansasii</i>	1,0E+05 CFU/mL*
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium kumamotoense</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium lentiflavum</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Bacillus cereus</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium malmoeense</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Bacillus subtilis</i> alt türü <i>subtilis</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium mantenii</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Bacteroides fragilis</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium marinum</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	1,0E+06 geq/mL	<i>Mycobacterium mucogenicum</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Bordetella parapertussis</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium neoaurum</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Bordetella pertussis</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium nonchromogenicum</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Burkholderia cepacia</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium orygis</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Campylobacter jejuni</i> alt türü <i>jejuni</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium peregrinum</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Candida albicans</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Candida glabrata</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium simiae</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Candida krusei</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Candida parapsilosis</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium szulgai</i>	1,0E+05 CFU/mL*
<i>Candida tropicalis</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium terrae</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1,0E+06 IFU/mL	<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	1,0E+06 IFU/mL	<i>Mycobacterium triviale</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Chromobacterium violaceum</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Citrobacter freundii</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium vaccae</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Clostridium perfringens</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycobacterium xenopi</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,0E+06 CCU/mL
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Neisseria lactamica</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Corynebacterium ulcerans</i>	1,0E+06 geq/mL	<i>Neisseria meningitidis</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Neisseria mucosa</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Neisseria sicca</i>	1,0E+06 CFU/mL
Sitomegalovirüs	1,0E+05 IFU/mL	<i>Nocardia asteroides</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Eikenella corrodens</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Nocardia brasiliensis</i>	1,0E+06 geq/mL
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Nocardia cyriacigeorgica</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Enterobacter cloacae</i> alt türü <i>cloacae</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Nocardia farcinica</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Enterococcus avium</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Nocardia nova</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Enterococcus faecium</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Nocardia transvalensis</i>	1,0E+06 CFU/mL
Enterovirüs tip 68/2007	1,0E+05 U/mL	<i>Pasteurella multocida</i> alt türü <i>tigris</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Escherichia coli</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Pediococcus acidilactici</i>	1,0E+06 geq/mL
CTX-M-15 ESBL üreten <i>Escherichia coli</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	1,0E+06 CFU/mL

Mikroorganizma	Konsantrasyon	Mikroorganizma	Konsantrasyon
<i>Fusobacterium nucleatum</i> alt türü <i>nucleatum</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Penicillium chermesinum</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Gordona rubropertinctus</i>	1,0E+06 geq/mL	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Prevotella melaninogenica</i>	1,0E+06 CFU/mL
Herpes simplex virüsü tip 1	1,0E+05 kopya/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1,0E+06 CFU/mL
Herpes simplex virüsü tip 2	1,0E+05 kopya/mL	<i>Proteus mirabilis</i>	1,0E+06 CFU/mL
İnsan immünyetmezlik virüsü	1,0E+05 kopya/mL	<i>Proteus vulgaris</i>	1,0E+06 CFU/mL
İnsan influenza virüsü A	1,0E+05 U/mL	<i>Providencia stuartii</i>	1,0E+06 CFU/mL
İnsan influenza virüsü B	1,0E+05 U/mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,0E+06 CFU/mL
İnsan metapnömovirüs	1,0E+05 U/mL	<i>Rhizopus</i> spp.	1,0E+06 CFU/mL
İnsan parainfluenza virüsü tip 1	1,0E+05 U/mL	<i>Rhodococcus equi</i>	1,0E+06 CFU/mL
İnsan parainfluenza virüsü tip 2	1,0E+05 U/mL	Rubella virüsü	1,0E+05 U/mL
İnsan parainfluenza virüsü tip 3	1,0E+05 U/mL	Rubeola virüsü	1,0E+05 U/mL
İnsan parainfluenza virüsü tip 4	1,0E+05 U/mL	Rubula virüsü	1,0E+05 U/mL
İnsan solunum sinsityal virüsü A	1,0E+05 U/mL	<i>Salmonella enterica</i> alt türü <i>enterica</i> Dublin serotipi	1,0E+06 CFU/mL
İnsan solunum sinsityal virüsü B	1,0E+05 U/mL	<i>Scedosporium</i> spp.	1,0E+06 CFU/mL
İnsan rinovirüs 16	1,0E+05 U/mL	<i>Serratia marcescens</i> alt türü <i>marcescens</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Kingella kingae</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Shigella flexneri</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Kingella oralis</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Shigella sonnei</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Staphylococcus aureus</i> alt türü <i>aureus</i>	1,0E+06 CFU/mL
KPC-3 carbapenemase üreten <i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Staphylococcus capitis</i> alt türü <i>capitis</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Klebsiella pneumoniae</i> alt türü <i>pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Lactobacillus casei</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Staphylococcus hominis</i> alt türü <i>hominis</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Legionella micdadei</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Legionella pneumophila</i> alt türü <i>pneumophila</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> alt türü <i>mesenteroides</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Streptococcus constellatus</i> alt türü <i>constellatus</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Streptococcus equi</i> alt türü <i>equi</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Morganella morganii</i> alt türü <i>morganii</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Streptococcus mitis</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Mycobacterium abscessus</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Streptococcus mutans</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Mycobacterium asiaticum</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Mycobacterium bovis</i> BCG	1,0E+06 CFU/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Mycobacterium bovis</i> alt türü <i>bovis</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Mycobacterium bovis</i> alt türü <i>caprae</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Streptococcus salivarius</i> alt türü <i>salivarius</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Mycobacterium canettii</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Mycobacterium caprae</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Streptococcus uberis</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Mycobacterium celatum</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Streptomyces anulatus</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Mycobacterium chelonae</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Streptomyces griseus</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Mycobacterium chubuense</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Tsukamurella</i> spp.	1,0E+06 geq/mL
<i>Mycobacterium confluentis</i>	1,0E+06 CFU/mL	Varicella Zoster virüsü	1,0E+05 kopya/mL
<i>Mycobacterium flavescens</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Veillonella atypica</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Veillonella parvula</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Mycobacterium fuerthi</i>	1,0E+06 CFU/mL	<i>Weissella paramesenteroides</i>	1,0E+06 CFU/mL
<i>Mycobacterium gastri</i>	1,0E+04 CFU/mL*	-	-

* *M. intracellulare* ve *M. avium* saptaması ile hiçbir interferansın gözlemlenmediği seviye, 1,0E+06 CFU/mL'de test edilmiştir ve hem *M. intracellulare* hem *M. avium* hedefleriyle interferans göstermiştir.

İnterferans

Solunum numunelerine salgılanma potansiyeli olan egzojen maddelerin etkisi değerlendirilmiştir (Tablo 23). Potansiyel olarak etkileşimde bulunan her madde, *M. intracellulare* ve *M. avium* hedefinin (200 CFU/mL'de birlikte eklenmiş) varlığında ve yokluğunda, yapay balgam numunelerinde klinik olarak ilgili seviyelerde veya üzerinde test edilmiştir.

Maddelerin hiçbirisi, test performansı ile interferans oluşturarak yanlış negatif veya yanlış pozitif sonuçlara neden olmamıştır.

Tablo 23 İnterferans açısından test edilen egzojen maddelerin listesi

Madde	Konsantrasyon	Madde	Konsantrasyon
Albüterol sülfat	0,5 µg/mL	Kanamisin monosülfat	240 µg/mL
Amikasin	80,1 µg/mL	Levofloksasin	5 mg/mL
Amoksisilin	86,4 µg/mL	Lidokain HCl	%1,2 (a/h)
Beklometazon	3459 pg/mL	Mentol	%0,50 (a/h)
Benzokain	%1,2 (a/h)	Metil salisilat	%0,06 (h/h)
Budezonid	3 mg/mL	Mometazon	100 µg/mL
Öksürük otu	225 mg/mL	Moksifloksasin	15 µg/mL
Kapreomisin	80 µg/mL	Mupirosin	%5 (a/h)
Setilpiridinyum klorür	%0,5 (a/h)	NaCl	%5 (a/h)
Klorheksidin glukonat	%1 (h/h)	Nikotin	1 µg/mL
Sikloserin	105 µg/mL	Nistatin	%1 (h/h)
Klaritromisin	20 µg/mL	Oksimetazolin	12 ng/mL
Dekzametazon	601 ng/mL	Pentamidin	1366 ng/mL
Efedrin hidroklorür	1 mg/mL	Fenilefrin	5 mg/mL
Epinefrin	100 pg/mL	Prednizolon	3 µg/mL
Etambutol	50 µg/mL	Pirazinamid	240 µg/mL
Etiyonamid	15 µg/mL	Rifampisin	25 µg/mL
Ökaliptol	%0,002 (h/h)	Isırganotu özü (500 mg)	5 mg
Flunisolid	400 µg/mL	Streptomisin	240 µg/mL
Flutikazon Propiyonat	5 µg/mL	Sülfür	%0,01 (a/h)
Formoterol Fumarat Dihidrat	66 µg/mL	Çay Çiçeği Yağı	%0,50 (h/h)
Goldenseal kökü (kapsül 570 mg)	5,7 mg	Teofilin	20 µg/mL
Guaifenesin	5 mg/mL	Tobramisin	24,1 µg/mL
İzoniiazid	50 µg/mL	Zanamivir	10 mg/mL

Solunum numunelerinde mevcut olabilecek endojen maddeler interferans açısından test edilmiştir (Tablo 24). Potansiyel olarak etkileşimde bulunan her madde, *M. intracellulare* ve *M. avium* hedefinin (200 CFU/mL'de birlikte eklenmiş) varlığında ve yokluğunda, yapay balgam numunelerinde klinik olarak ilgili seviyelerde veya üzerinde test edilmiştir.

Maddelerin hiçbirisi, test performansı ile etkileşime girerek yanlış pozitif sonuçlara neden olmamıştır. %5 müsün haricindeki maddelerin hiçbirisi, test performansı ile etkileşime girerek yanlış negatif sonuçlara neden olmamıştır. %4 veya altındaki konsantrasyon seviyelerinde müsün için interferans gözlenmemiştir.

Tablo 24 İnterferans açısından test edilen endojen maddelerin listesi

Madde	Konsantrasyon	Madde	Konsantrasyon
Mide suyu	%10 (h/h)	Müsin	%4*
Hemoglobin	2 g/L	İltihap	%5
İnsan Tam Kanı	%5 (h/h)	Tükürük	%10 (h/h)
hDNA	4 mg/L	-	-

* *M. intracellulare* ve *M. avium* saptanması ile hiçbir interferansın gözlenmediği seviye, %5'te de test edilerek hem *M. intracellulare* hem *M. avium* hedefleriyle kısmi interferans görülmüştür.

Tüm sistem hatası

Tüm sistem hatası çalışmasında test edilen numuneler, ilgili matrisin yaklaşık $3 \times \text{LoD}$ konsantrasyonuna *M. intracellulare* ve *M. avium* hedefi ile birlikte eklenmiş yapay balgam ve balgam sedimenti numuneleridir. Bu çalışmanın sonuçları, tüm kopyaların geçerli ve *M. intracellulare* ve *M. avium* için pozitif olduğunu belirlemiş ve tüm sistem hata oranı, üst tek taraflı %95 güven aralığı %3,0 ile %0 olarak bulunmuştur.

Çapraz kontaminasyon

cobas® MAI kullanılan **cobas® 6800/8800** sistemlerindeki potansiyel çapraz kontaminasyon, eş numune tipleri ve iş akışları ile **cobas® MTB** testi kullanılarak çalışılmıştır. Çapraz kontaminasyon, yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir. Bu performans çalışmasında, çok yüksek pozitif ve negatif numuneler dönüşümlü olarak birden fazla çalışmada test edildiğinde numuneden numuneye çapraz kontaminasyon oranı %0,0 (0/240) olarak belirlenmiştir. Test, 2×10^6 CFU/mL'de MTB kompleksi hedefi eklenmiş yapay balgam sedimenti numuneleri kullanılarak yapılmıştır; bu numune konsantrasyonu da amaçlanan kullanım popülasyonunda enfekte hastalardan alınan numunelerin %95'inden daha erken Ct değerleri üretir.

Klinik numuneler kullanılarak performans

cobas® MAI'nin klinik numuneler kullanılarak performansı, Almanya, Japonya, Güney Afrika, İsviçre ve Teksas'ta prospektif olarak toplanan olası mikobakteriyel solunum yolu enfeksiyonu olan en az 18 yaşındaki gönüllülerden, arşivlenmiş numunelerin (ham balgam, balgam/BAL sedimentleri) test edilmesiyle değerlendirilmiştir. COBAS® TaqMan® MAI Testi ile birlikte karşılaştırma testi yapılmıştır. Hassasiyet ve özgüllük, mikobakteriyel kültüre kıyasla belirlenmiştir. Hassasiyet için hasta popülasyonu, toplam 81 balgam sedimenti ve 23 BAL sedimenti ile balgam/BAL sedimentleri için 51 ARB smear testi negatif (%49), 13 ARB smear testi yetersiz (%13), 19 ARB smear testi 1+ (%18), 15 ARB smear testi 2+ (%14), 4 ARB smear testi 3+ (%4) ve 2 ARB smear testi belirsiz (%2) öğelerini içermiştir. Ham balgam için 26 ARB smear testi negatif (%47), 5 ARB smear testi yetersiz (%9), 8 ARB smear testi 1+ (%15), 12 ARB smear testi 2+ (%22) ve 4 ARB smear testi 3+ (%7) test edilmiştir.

Sonuçlar, Tablo 25 içinde gösterilmiştir.

Tablo 25 Klinik numuneler kullanılarak **cobas® MAI**'nin hassasiyeti ve özgüllüğü

				Roche cobas® MAI	Roche COBAS® TaqMan® MAI
Hassasiyet	Ham balgam	MIN K+	MIN	16/24 %66,7 [%44,7–84,4]	Yok
		MAV K+	MAV	27/31 %87,1 [%70,1–96,3]	Yok
		MIN ve/veya MAV K+	MIN/MAV	44/55 %80,0 [%67,0–89,6]	Yok
	Sediment	MIN K+	MIN	27/46 %58,7 [%43,2–73,0]	32/46 %69,6 [%54,2–82,3]
		MAV K+	MAV	35/58 %60,3 [%46,6–72,9]	36/58 %62,1 [%48,4–74,5]
		MIN ve/veya MAV K+	MIN/MAV	62/104 %59,6 [%49,5–69,1]	68/104 %65,4 [%55,4–74,4]
Özgüllük	Ham balgam	MIN K-	MIN	350/350 %100,0 [%99,0–100,0]	Yok
		MAV K-	MAV	350/350 %100,0 [%99,0–100,0]	Yok
		MIN ve MAV K-	MIN/MAV	350/350 %100,0 [%99,0–100,0]	Yok
	Sediment	MIN K-	MIN	412/412 %100,0 [%99,1–100,0]	408/412 %99,0 [%97,5–99,7]
		MAV K-	MAV	412/412 %100,0 [%99,1–100,0]	411/412 %99,8 [%98,7–100,0]
		MIN ve MAV K-	MIN/MAV	412/412 %100,0 [%99,1–100,0]	407/412 %98,8 [%97,2–99,6]

				Roche cobas® MAI	Roche COBAS® TaqMan® MAI
PPV	Ham balgam	MIN PCR+	MIN	16/16 %100,0 [%79,4–100]	Yok
		MAV PCR+	MAV	27/27 %100,0 [%87,2–100]	Yok
		MIN ve/veya MAV PCR+	MIN/MAV	44/44 %100,0 [%92,0–100]	Yok
	Sediment	MIN PCR+	MIN	27/27 %100,0 [%87,2–100]	32/36 %88,9 [%73,9–96,9]
		MAV PCR+	MAV	35/35 %100,0 [%90,0–100]	36/37 %97,3 [%85,8–99,9]
		MIN ve/veya MAV PCR+	MIN/MAV	62/62 %100,0 [%94,2–100]	68/73 %93,2 [%84,7–97,7]
NPV	Ham balgam	MIN PCR-	MIN	350/358 %97,7 [%95,6–99,0]	Yok
		MAV PCR-	MAV	350/354 %98,9 [%97,1–99,7]	Yok
		MIN ve/veya MAV PCR-	MIN/MAV	350/361 %96,7 [%94,6–98,5]	Yok
	Sediment	MIN PCR-	MIN	412/431 %95,6 [%93,2–97,3]	408/422 %96,7 [%94,5–98,2]
		MAV PCR-	MAV	412/435 %94,7 [%92,2–96,6]	411/433 %94,9 [%92,4–96,7]
		MIN ve/veya MAV PCR-	MIN/MAV	412/454 %90,7 [%87,7–93,3]	407/443 %91,9 [%88,9–94,2]

K = kültür, MIN = *Mycobacterium intracellulare*, MAV = *Mycobacterium avium*

Ek bilgiler

Temel test özellikleri

Numune tipleri

- Ham balgam
- NALC-NaOH ile işlenmiş balgam ve BAL sedimentleri

İşlenen numune miktarı

- Ham balgam için numune tüpünde gerekli olan 1:2 oranında (toplam hacim $\geq 1,2$ mL) MIS ile işlenen $\geq 0,4$ mL hasta numunesi, cihaz, 0,85 mL'yi işler
- Balgam/BAL sedimenti için numune tüpünde gerekli olan 1:5 oranında (toplam hacim $\geq 1,2$ mL) MIS ile işlenen $\geq 0,2$ mL hasta numunesi, cihaz, 0,85 mL'yi işler

Semboller

Aşağıdaki semboller Roche PCR diagnostik ürünlerinin etiketlenmesinde kullanılır.

Tablo 26 Roche PCR diagnostik ürünlerinin etiketlenmesinde kullanılan semboller

Age/DOB Yaş veya doğum tarihi	Hasta yanında test için uygun olmayan cihaz	QS IU/PCR PCR reaksiyonu başına QS IU, sonuçların hesaplanmasında PCR reaksiyonu başına QS ulusal birimlerini (IU) kullanın.
Yardımcı yazılım	Kendi kendine test için uygun olmayan cihaz	SN Seri numarası
Assigned Range [copies/mL] Atanan aralık (kopya/mL)	Distribütör (Not: Sembolün altında geçerli ülke/bölge belirtilmiş olabilir)	Site Tesis
Assigned Range [IU/mL] Atanan aralık (IU/mL)	Tekrar kullanmayın	Procedure Standard Standart prosedür
EC REP Avrupa Topluluğundaki yetkili temsilci	Kadın	STERILE EO Etilen oksit ile sterilize edilmiştir
BARCODE Barkod Veri Sayfası	Sadece IVD performans değerlendirmesi için	Karanlık ortamda muhafaza edin
LOT Lot kodu	GTIN Global Ticari Ürün Numarası	Sıcaklık sınırı
Biyolojik riskler	İthalatçı	Test tanım dosyası
REF Katalog numarası	IVD <i>In vitro</i> tıbbi tanı cihazı	Burası yukarı gelecek
CE uygunluk işareti; bu cihaz, <i>in vitro</i> tıbbi tanı cihazı için geçerli CE işareti gerekliliklerine uygundur	LLR Belirlenen aralığın alt sınırı	Procedure UltraSensitive Ultra hassas prosedür
Collect Date Numune alma tarihi	Erkek	UDI Benzersiz cihaz tanımlayıcı
Kullanım talimatlarına bakın	Üretici	ULR Belirlenen aralığın üst sınırı
$<n>$ test için yeterli miktarda içerir	CONTROL - Negatif kontrol	Urine Fill Line İdrar dolum çizgisi
CONTENT Kit içeriği	Steril değil	Rx Only ABD için: Dikkat: Federal yasalar, bu cihazın yalnızca bir hekim tarafından veya hekimin siparişiyle satışına izin verir.
CONTROL Kontrol	Hasta adı	Son kullanma tarihi
Üretim tarihi	Hasta numarası	
Hasta yanında test için uygun cihaz	Buradan soyarak açın	
Kendi kendine test için uygun cihaz	CONTROL + Pozitif kontrol	
	QS copies / PCR PCR reaksiyonu başına QS kopya, sonuçların hesaplanmasında PCR reaksiyonu başına QS kopyalarını kullanın.	

Teknik destek

Teknik destek için lütfen yerel bağlı şirket ile iletişime geçin:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Üretici

Tablo 27 Üretici

Amerika Birleşik Devletleri'nde üretilmiştir



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

ABD'de imal edilir

Ticari markalar ve patentler

Bkz. <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

Telif hakkı

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Referanslar

1. Goslee S, Wolinsky E. Water as a source of potentially pathogenic mycobacteria. *Am Rev Respir Dis*. 1976;113:287-92.
2. Wolinsky E, Rynearson TK. Mycobacteria in soil and their relation to disease-associated strains. *Am Rev Respir Dis*. 1968;97:1032-7.
3. Chapman JS. The ecology of the atypical mycobacteria. *Arch Environ Health*. 1971;22:41-6.
4. Gruft H, Falkinham JO, 3rd, Parker BC. Recent experience in the epidemiology of disease caused by atypical mycobacteria. *Rev Infect Dis*. 1981;3:990-6.
5. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;175:367-416.
6. Cayrou C, Turenne C, Behr MA, Drancourt M. Genotyping of *Mycobacterium avium* complex organisms using multispacer sequence typing. *Microbiology (Reading)*. 2010;156:687-94.
7. Tortoli E. Microbiological features and clinical relevance of new species of the genus *Mycobacterium*. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27:727-52.
8. Saito H, Tomioka H, Sato K, Tasaka H, Dawson DJ. Identification of various serovar strains of *Mycobacterium avium* complex by using DNA probes specific for *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare*. *J Clin Microbiol*. 1990;28:1694-7.
9. Horsburgh Jr CR. Epidemiology of *Mycobacterium avium* complex disease. *Am J Med*. 1997;102:11-5.
10. Cassidy PM, Hedberg K, Saulson A, McNelly E, Winthrop KL. Nontuberculous mycobacterial disease prevalence and risk factors: a changing epidemiology. *Clin Infect Dis*. 2009;49:e124-9.
11. Maugein J, Dailloux M, Carbonnelle B, et al. Sentinel-site surveillance of *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease. *Eur Respir J*. 2005;26:1092-6.
12. Freeman J, Morris A, Blackmore T, et al. Incidence of nontuberculous mycobacterial disease in New Zealand, 2004. *N Z Med J*. 2007;120:U2580.
13. 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.
14. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7.
15. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
16. World Health Organization. *Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual*. WHO: Geneva, Switzerland; 2012.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*. 4th ed. M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; 2014.
18. Chosewood LC, Wilson DE, eds. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. US Department of Health and Human Services; 2009.
19. Kent PT, Kubica GP. *Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory*: Centers for Disease Control: Atlanta, GA; 1985.

Belge revizyonu

Belge revizyonu bilgileri	
Doc Rev. 2.0 05/2024	Yerel düzenlemelere uygun hale getirmeye yönelik biyogüvenlik talimatı güncellendi, dilbilgisi düzeltmeleri yapıldı ve DSÖ verileri/referansı güncellendi. Prosedür ile ilgili sınırlamalar bölümündeki “en az 18 yaşındaki” ifadesi Klinik numuneler kullanılarak performans bölümüne taşındı. cobas® markası güncellendi. Yetkili makam beyanı güncellendi. Ön sayfadan Rx Only kaldırıldı. Uyumlaştırılmış sembol sayfası güncellendi. Herhangi bir sorunuz varsa lütfen Roche temsilciniz ile iletişime geçin.
Doc Rev. 3.0 12/2024	cobas® 6800/8800 sistemleri için sistem yazılımı sürüm 2.0 bilgileri eklendi. Yazılım sürümü 1.4 olan cobas® 6800/8800 sistemlerindeki örnek sonuçların görüntülenmesi güncellendi. Tüketim malzemelerinin P/N'leri çıkarıldı, cobas® 5800 ve cobas® 6800/8800 sistemleri Yardım Asistanında tüketim malzemelerine ilişkin ayrıntılı bilgiler belirtildi. Herhangi bir sorunuz varsa lütfen Roche temsilciniz ile iletişime geçin.

Güvenlik ve performans raporunun özeti, aşağıdaki bağlantı adresi kullanılarak bulunabilir:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>