

cobas[®] MTB-RIF/INH

Nukleinsyretest for bruk på cobas[®] 5800/6800/8800 Systems

For bruk til *in vitro*-diagnostikk

cobas[®] MTB-RIF/INH

P/N: 09040617190

For bruk på cobas[®] 5800 System

cobas[®] MTB-RIF/INH Positive Control Kit

P/N: 09040625190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

For bruk på cobas[®] 6800/8800 Systems

cobas[®] MTB-RIF/INH Positive Control Kit

P/N: 07833342190 eller
P/N: 09040625190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 07002238190 eller
P/N: 09051953190

Innholdsfortegnelse

Tiltent bruk	4
Oppsummering og forklaring av testen	4
Reagenser og materialer	7
cobas® MTB-RIF/INH reagenser og kontroller	7
cobas omni-reagenser for prøvepreparering	9
Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser	10
Krav til håndtering av reagenser for cobas® 5800 System	10
Krav til håndtering av reagenser for cobas® 6800/8800 Systems	11
Ytterligere materiell som kreves for cobas® 5800 System	12
Ytterligere materiell som kreves for cobas® 6800/8800 Systems	12
Instrumentering og programvare som kreves	13
Krav til oppbevaring og håndtering	14
Advarsler og forholdsregler	14
Håndtering av reagenser	15
God laboratoriepraksis	15
Prøvetaking, -transport og -oppbevaring	16
Prøve	16
Transport og oppbevaring av prøver	16
Oppbevaring av inaktiverede prøver	16
Bruksanvisning	16
Merknader til prosedyren	16
Prosessering av prøver med ubehandlet sputum	19
Prosessering av sputum og BAL-sedimenter	19
Sonikering av prøver	20
Kjøre cobas® MTB-RIF/INH på cobas® 5800 System	21
Kjøre cobas® MTB-RIF/INH på cobas® 6800/8800 Systems	23
Resultater	25
Kvalitetskontroll og gyldighet av resultater på cobas® 5800 System	25
Kontrollresultater på cobas® 5800 System	25

Kvalitetskontroll og gyldighet av resultater fra cobas ® 6800/8800 Systems.....	25
Tolkning av resultater	26
Tolkning av resultater på cobas ® 5800 System.....	27
Tolkning av resultater på cobas ® 6800/8800 Systems	28
Testens begrensninger	29
Evalueringsav ytelse	31
Viktige ytelseskarakteristika utført på cobas ® 6800/8800 Systems	31
Prøveinaktivering.....	31
Deteksjonsgrense (LoD)	31
Heteroresistens.....	31
Inklusivitet for resistensassosierte mutasjoner	32
Spesifisitet for villtype-MTB-kompleks	32
Presisjon	33
Analytisk spesifisitet / kryssreaktivitet.....	34
Interferens.....	36
Systemfeil	37
Krysskontaminering.....	38
Ytelse ved bruk av kliniske prøver	38
Systemekvivalens/systemsammenligning	40
Tilleggsinformasjon	41
Viktige analysefunksjoner	41
Symboler	42
Teknisk support.....	43
Produsent	43
Varemerker og patenter.....	43
Copyright.....	43
Referanser.....	44
Dokumentrevisjon	45

Tiltenkt bruk

cobas® MTB-RIF/INH for bruk på **cobas® 5800/6800/8800 Systems** er en automatisk, kvalitativ in vitro-diagnostisk analyse som bruker polymerasekjedereaksjon (PCR) i sanntid for direkte deteksjon av rifampicin-resistensassosierte mutasjoner i *rpoB*-genet, og isoniazid-resistensassosierte mutasjoner i *katG*- og *inhA*-genene i *Mycobacterium tuberculosis* fra humane luftveisprøver. Analysen skal brukes på ubehandlet sputum eller forbehandlet og dekontaminert (N-acetyl-L-cystein/NaOH-behandlet) sputum eller BAL-prøver som testet positivt for *Mycobacterium tuberculosis*-kompleks (MTBC) med **cobas® MTB**. Denne analysen skal brukes sammen med dyrkning- og medikamentfølsomhetstesting og som en refleksanalyse sammen med **cobas® MTB**, som et hjelpemiddel ved diagnostisering av infeksjon med multiresistent *M. tuberculosis* (MDR-TB).

Oppsummering og forklaring av testen

Bakgrunn

Tuberkulose er en bakterieinfeksjon forårsaket av *Mycobacterium tuberculosis*-kompleks (MTBC). Tuberkulose er et alvorlig globalt helseproblem og en ledende årsak til dødsfall grunnet infeksjonssykdommer verden over.¹ Verdens helseorganisasjon (WHO) anslår at det var 9,9 millioner nye aktive TB-infeksjoner og 1,5 millioner dødsfall i 2020.¹

M. tuberculosis-komplekset består av en gruppe nært beslektede arter i *Mycobacterium*-genuset som fører til sykdom hos mennesker og dyr. Komplekset omfatter *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG (Bacillus Calmette-Guérin), *M. africanum*, *M. canetti*, *M. microti*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. mungi*, *M. suricattae*, *M. orygis*, *dassie bacillus* og chimpanzee bacillus. Infeksjon med alle medlemmene av MTB-komplekset kan føre til tuberkulose, men det er *M. tuberculosis* som er den vanligste årsaken. Lungesykdom er den vanligste sykdommen som forårsakes av MTB-komplekset. Sykdom utenfor lungene kan forekomme, men dette er mer vanlig hos barn. *M. bovis* er årsaken til tuberkulose hos opptil 2,8 % av pasienter i ulike geografiske steder.² Andre medlemmer av MTB-komplekset enn *M. bovis* og *M. tuberculosis* er mindre vanlige årsaker til sykdom hos mennesker. *M. africanum* er forbundet med tuberkulose i land i Vest-Afrika, *M. canetti* i Afrikas Horn og *M. orygis* fører til tuberkulose hos mennesker og dyr fra Afrika til Sør-Asia. *M. caprae* betraktes som en underart av *M. bovis*. *M. microti* fører primært til sykdom hos gnagere, *M. pinnipedii* er forbundet med sykdom hos sel og *M. suricattae* fører til tuberkulose hos surikater i Sør-Afrika. *M. mungi* ble identifisert som årsak til tuberkulose hos sebramangust.³

Tuberkulose spres fra person til person med dråpesmitte fra luftveiene. De fleste som er smittet med *M. tuberculosis*, er asymptomatiske og kan være bærere av sykdommen etter primærinfeksjon. Dette kalles "latent" tuberkuloseinfeksjon. Latente infeksjoner kan vare i tiår, og i de fleste tilfeller vil de aldri føre til klinisk sykdom. Hos enkelte mennesker overvinnes organismen immunforsvaret, noe som fører til progresjon fra latent tuberkulose til aktiv tuberkulose. Dette skjer vanligvis enten innen de to første årene etter infeksjon, eller etter lange latensperioder. Samlet er det 5–10 % risiko for at pasienter med latent infeksjon vil utvikle aktiv TB-sykdom. Risikoen varierer imidlertid avhengig av mange faktorer, og kan være betydelig økt ved immunsuppresjon, f.eks. ved behandling med biologiske legemidler⁴ (dvs. TNF-hemmere) og ved HIV-infeksjon.^{5,6} Personer med aktiv lungetuberkulose kan avgi dråpesmitte når de hoster, snakker eller under medisinske prosedyrer. Personer med aktiv lungetuberkulose vurderes som svært infeksiose, så derfor er det meget viktig å få stilt en diagnose.

Diagnostisering av aktiv tuberkulose baseres på kliniske funn/mistanke, samt laboratorieundersøkelser og bilde-diagnostiske undersøkelser. Pasienter kan bli bedt om å avgi luftveisprøver for syrefast bakterie-utstryk og mykobakteriell dyrking, samt direkte nukleinsyreamplifikasjonstesting. Det er avgjørende at det utføres mykobakteriell dyrking i tillegg til nukleinsyretesting, for å redusere risikoen for falske negative resultater, og for å gjøre det mulig med medikamentfølsomhetstesting for pasienter som er positive.

En medikamentresistent TB-stamme defineres som resistent mot minst ett medikament som brukes for å behandle tuberkulose. En multiresistent TB (MDR-TB) defineres som resistent mot minst isoniazid og rifampicin, de to mest effektive anti-TB-medikamentene, og en utvidet medikamentresistent TB-stamme (XDR-TB) er også resistent mot rifampicin og alle fluoroquinoloner og minst ett av legemidlene bedakvilin og linezolid. Globalt i 2020 ble 71 % (2,1/3,0 millioner) av pasienter diagnostisert med bakteriologisk bekreftet lungetuberkulose testet for rifampicinresistens. Blant disse ble det påvist 132 222 tilfeller av MDR-/rifampicinresistent TB og 25 681 tilfeller av pre-XDR-TB eller XDR-TB.¹

Frekvensen av MDR-TB varierer fra region til region. Forekomsten av MDR-TB er høyere blant tidligere behandlede pasienter. Behandling av tuberkulose medfører langvarig administrasjon av flere medikamenter og vil vanligvis ha god effekt. Det er imidlertid vanskeligere å behandle MTB-stammer som er resistente mot ett eller flere medikamenter. Behandling av MDR-TB og XDR-TB krever administrasjon av flere toksiske medikamenter i en lengre periode enn for pasienter med medikamentfølsom TB. Det er også lavere sannsynlighet for at behandlingen vil være vellykket.⁷

TB kan diagnostiseres basert på kliniske funn, laboratorie- og bildediagnostikkfunn, inkludert syrefast bakterie-utstryk, mykobakteriell dyrking, samt nukleinsyreamplifikasjonstester. Det kan også brukes analyser som måler antistoff- eller antigenrespons (f.eks. pirquetprøve, interferon-gamma (INF γ)-release-analyse (IGRA)).⁸ Pirquetprøver og IGRA-analyser er imidlertid ofte negative ved aktiv sykdom og kan ikke skille mellom latent infeksjon og aktiv sykdom. Sikker diagnostisering av sykdommen bekreftes ved deteksjon av organismen i en dyrkning eller ved direkte deteksjon av MTB-kompleks-nukleinsyre i en klinisk prøve. Medikamentfølsomhetstesting (DST) er påkrevd for å bekrefte riktig empirisk behandling, men det er en tidkrevende prosess – avhengig av metode kan det ta flere uker før man har oppnådd resultater. Alternativt kan medikamentresistensassosierte genetiske markører detekteres direkte fra kliniske prøver eller fra dyrkede isolater ved bruk av molekylære metoder for å få raskere resultater. Siden MTB er så smittsomt og utvikler stadig mer resistens, er rask og nøyaktig diagnose meget viktig ved MTB-behandling og -kontroll.⁸

Forklaring av testen

cobas® MTB-RIF/INH for bruk på **cobas® 5800/6800/8800 Systems** er en automatisk, kvalitativ PCR-analyse i sanntid som er utformet som en refleksanalyse sammen med **cobas® MTB** for deteksjon av rifampicin-resistensassosierte mutasjoner i *rpoB*-genet og isoniazid-resistensassosierte mutasjoner i *katG*- og *inhA*-genene i *Mycobacterium tuberculosis*-komplekset. Analysen skal brukes på ubehandlet sputum eller forbehandlet og dekontaminert (N-acetyl-L-cystein/NaOH-behandlet) sputum eller BAL-prøver som testet positivt for *Mycobacterium tuberculosis*-kompleks (MTBC) med **cobas® MTB**. Deteksjon av villtype MTB-kompleks-DNA fungerer som en internkontroll for å overvåke hele prøvepreparerings- og PCR-amplifikasjonsprosessen. I tillegg bruker analysen en lavtiter positiv kontroll og en negativ kontroll.

Testprinsipper

cobas® MTB-RIF/INH er basert på preanalytisk forbehandling, for å gjøre prøven flytende, og inaktivering av mykobakterier, etterfulgt av sonikering av prøvene og helautomatisk prøvepreparering (nukleinsyreekstraksjon og -isolering), samt PCR-amplifikasjon og -deteksjon. Prøvene gjøres flytende og mykobakterier inaktiveres samtidig når de inkuberes med **cobas®** Microbial Inactivation Solution (MIS). Sonikering av flytende og inaktiverte prøver utføres før prøvene lastes inn på **cobas®** 5800/6800/8800 Systems. **cobas®** 5800 System er utformet som ett integrert system. **cobas®** 6800/8800 Systems består av prøveforsyningsmodulen, overføringsmodulen, prosesseringsmodulen og analysemodulen. Automatisk databehandling utføres av **cobas®** 5800 eller **cobas®** 6800/8800 Systems-programvaren, som tilordner analyseresultater for alle analyser som positive, negative eller ugyldige. Resultatene kan vises direkte på systemskjermen, eksporteres eller skrives ut som en rapport.

Nukleinsyre fra pasientprøver og eksterne kontroller blir ekstrahert samtidig. Bakteriens nukleinsyrer frigjøres ved kjemisk (MIS, **cobas omni** Lysis Reagent), enzymatisk (proteinase) og fysisk (sonikering) lysing av bakterien. Den frigjorte nukleinsyren bindes til silikaoverflaten på de tilsatte magnetiske glasspartiklene. Ubundne substanser og urenheter, som denaturert protein, cellerester og potensielle PCR-hemmere, fjernes under de påfølgende vasketrinnene. Rensede nukleinsyrer elueres fra de magnetiske glasspartiklene med elueringsbuffer ved høy temperatur.

Målnukleinsyren amplifiseres og detekteres selektivt fra prøven ved bruk av målgenespesifikke oppstrøms- og nedstrøms-primere. 18 rifampicin-resistensassosierte mutasjoner (*rpoB*-genet) detekteres av ett sett med primere og flere mutasjonsspesifikke prober. Sju isoniazid-resistensassosierte mutasjoner (*katG*-genet og *inhA*-genaktivatorregionen) detekteres av to sett med primere og flere mutasjonsspesifikke prober. MTB detekteres av ett sett med primere og én probe rettet mot en høykonservert enkeltkopi-genomsekvens av MTB-komplekset. Et termostabilt DNA-polymeraseenzym brukes til PCR-amplifikasjon. Mål-sekvensene amplifiseres samtidig ved bruk av en universell PCR-amplifikasjonsprofil med forhåndsdefinerte temperaturtrinn og antall sykluser. Master Mix inneholder deoksyuridintrifosfat (dUTP) i stedet for deoksytimidintrifosfat (dTTP), som inngår i det nylig syntetiserte DNA-et (amplikon). Eventuell kontaminerende amplikon fra tidligere PCR-kjøringer elimineres av AmpErase-enzymet, som er inkludert i PCR Master Mix, under temperaturøkningen i det første varmetrinnet.⁹ Det nydannede amplikonet blir imidlertid ikke eliminert, siden AmpErase-enzymet blir inaktivert når det eksponeres for temperaturer over 55 °C.

cobas® MTB-RIF/INH Master Mix inneholder flere prober som er spesifikke for rifampicin-resistensassosierte mutasjoner og isoniazid-resistensassosierte mutasjoner, og én probe som er spesifikk for MTB-komplekset. Probene er merket med målspesifikke rapporteringsfluoroforer, som muliggjør samtidig deteksjon av rifampicin-resistensassosierte mutasjoner, isoniazid-resistensassosierte mutasjoner og MTB-kompleks-målet i fem ulike målkanaler (rifampicin-resistensassosierte mutasjoner detekteres i tre av de fem deteksjonskanalene).^{10, 11} Når det ikke er bundet til målsekvensen, undertrykkes fluorescenssignalet til de intakte probene av et slukkerfluorofor. Under PCR-amplifikasjonstrinnet hybridiseres probene til det spesifikke enkelttrådet DNA-templatet, slik at proben splittes av 5'-til-3'-eksonukleaseaktiviteten til DNA-polymerasen. Dette fører til at rapporterings- og slukkerfluoroforene separeres og at det genereres et fluorescenssignal. Ved hver PCR-syklus blir det generert stadig flere splittede prober, og det samlede signalet for rapporteringsfluoroforen økes samtidig. Sanntidsdeteksjon og differensiering av PCR-produkter oppnås ved å måle fluorescensen fra de frigjorte rapporteringsfluoroforene for henholdsvis rifampicin-resistensassosierte mutasjoner, isoniazid-resistensassosierte mutasjoner og MTB-kompleks-målet.

Reagenser og materialer

cobas® MTB-RIF/INH reagenser og kontroller

Materialer som leveres for cobas® MTB-RIF/INH, finner du i Tabell 1. Alle uåpnede reagenser og kontroller skal oppbevares som anbefalt i Tabell 1 til Tabell 4. Materialer som kreves, men som ikke medfølger, finner du i Tabell 2 til Tabell 4 og Tabell 8 til Tabell 9.

Tabell 1 cobas® MTB-RIF/INH

cobas® MTB-RIF/INH

Oppbevares ved 2–8 °C

Kassett med 192 tester (P/N 09040617190)

Komponenter i kitet	Reagensingredienser	Antall per kit
Proteinaseløsning (PASE)	Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, kalsiumklorid, kalsiumacetat, 8 % proteinase, glyserol EUH210: Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på anmodning. EUH208: Inneholder subtilisin fra <i>Bacillus subtilis</i> . Kan utløse en allergisk reaksjon.	22,3 ml
Generic Specimen Diluent (Generisk prøvediluent) (GSD)	Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % ikke-MTB relatert pansret RNA-konstruksjon, 0,002 % Poly rA RNA (syntetisk), < 0,1 % natriumazid	21,2 ml
Elueringsbuffer (EB)	Tris-buffer, 0,2 % metyl-4-hydroksibenzoat	21,2 ml
Master Mix-reagens 1 (MMX-R1)	Manganacetat, kaliumhydroksid, < 0,1 % natriumazid	7,5 ml
MTB-RIF/INH Master Mix-reagens 2 (MTB-RIF/INH MMX-R2)	Trisinbuffer, kaliumacetat, EDTA, glyserol, 18 % dimetylsulfoksid, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,1 % Tween 20, < 0,1 % natriumazid, < 0,1 % Z05 DNA-polymerase, < 0,1 % AmpErase (uracil-N-glykosylase) enzym (mikrobielt), < 0,01 % oppstrøms- og nedstrømsprimere, < 0,01 % fluoroformerkede oligonukleotidprober spesifikke for rifampicin-resistensassosierte mutasjoner, isoniazid-resistensassosierte mutasjoner og MTB-kompleks, < 0,01 % oligonukleotidaptamer	9,7 ml

Tabell 2 cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit**cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit**

Oppbevares ved 2–8 °C

For bruk på cobas® 5800-systemet (P/N 09040625190)

For bruk på cobas® 6800/8800-systemene (P/N 07833342190 eller P/N 09040625190)

Komponenter i kitet	Reagensingredienser	Antall per kit
MTB-RIF/INH Positive Control (MTB-RIF/INH (+) C)	Tris-buffer, < 0,05 % natriumazid, < 0,05 % EDTA, 0,002 % Poly rA, < 0,01 % ikke-infeksiøst plasmid-DNA (mikrobielt) som inneholder <i>M. tuberculosis</i> genomsekvenser (16S, mutert <i>rpoB</i> - og mutert <i>inhA</i> -aktivatorregion)	16 ml (16 × 1 ml)

Tabell 3 cobas® Buffer Negative Control Kit**cobas® Buffer Negative Control Kit**

Oppbevares ved 2–8 °C

For bruk på cobas® 5800-systemet (P/N 09051953190)

For bruk på cobas® 6800/8800-systemene (P/N 07002238190 eller P/N 09051953190)

Komponenter i kitet	Reagensingredienser	Antall per kit
cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)	Tris-buffer, < 0,1 % natriumazid, EDTA, 0,002 % Poly rA RNA (syntetisk)	16 ml (16 × 1 ml)

cobas omni-reagenser for prøvepreparering

Tabell 4 cobas omni-reagenser for prøvepreparering*

Reagenser	Reagensingredienser	Antall per kit	Sikkerhetssymbol og advarsel**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Oppbevares ved 2–8 °C (P/N 06997546190)	Magnetiske glasspartikler, Tris-buffer, 0,1 % metyl-4- hydroksybenzoat, < 0,1 % natriumazid	480 tester	Ikke relevant
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Oppbevares ved 2–8 °C (P/N 06997511190)	Tris-buffer, 0,1 % metyl-4- hydroksybenzoat, < 0,1 % natriumazid	4 × 875 ml	Ikke relevant
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Oppbevares ved 2–8 °C (P/N 06997538190)	43 % (vekt per vekt) guanidintiocyanat***, 5 % (vekt/volum) polidokanol***, 2 % (vekt/volum) ditiotreitol***, dihydro-natriumsitrat	4 × 875 ml	 FARE H302: Farlig ved svelging. H314: Gir alvorlige etseskader på hud og øyne. H411: Giftig, med langtidsvirkning, for liv i vann. EUH032: Ved kontakt med syre utvikles meget giftig gass. EUH071: Etsende for luftveiene. P273: Unngå utslipp til miljøet. P280: Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern/hørselvern. P303 + P361 + P353: VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann. P304 + P340 + P310: VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONS-SENTER/en lege. P305 + P351 + P338 + P310: VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONS-SENTER/en lege. P391: Samle opp spill. 593-84-0 Guanidiniumthiocyanat 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutane-2,3-diol
cobas omni Wash Reagent (WASH) Oppbevares ved 15–30 °C (P/N 06997503190)	Natriumsitratdihydrat, 0,1 % metyl-4 hydroksy- benzoat	4,2 l	Ikke relevant

* Disse reagensene er ikke inkludert i cobas® MTB-RIF/INH-testkitet. Se listen over ytterligere materiell som kreves (Tabell 8 til Tabell 10).

** Produktsikkerhetsmerking følger primært EUs GHS-retningslinjer.

*** Farlig stoff.

Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser

Reagenser skal oppbevares og håndteres som beskrevet i Tabell 5, Tabell 6 og Tabell 7.

Når reagenser ikke er plassert i cobas® 5800 eller cobas® 6800/8800 Systems, skal de oppbevares ved temperaturene som er angitt i Tabell 5.

Tabell 5 Reagenslagring (når reagens ikke er på systemet)

Reagens	Oppbevaringstemperatur
cobas® MTB-RIF/INH	2–8 °C
cobas® MTB-RIF/INH 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

Krav til håndtering av reagenser for cobas® 5800 System

Reagenser som er plassert på cobas® 5800 System, oppbevares ved riktige temperaturer, og utløpsdatoen overvåkes av systemet. Systemet tillater kun at reagenser brukes hvis alle betingelsene som vises i Tabell 6, er oppfylt. Systemet hindrer automatisk bruk av utløpte reagenser. Tabell 6 informerer brukeren om betingelsene for reagensoppbevaring som håndheves av cobas® 5800 System.

Tabell 6 Betingelser for reagensholdbarhet som håndheves av cobas® 5800 System

Reagens	Kitets utløpsdato	Holdbarhet for åpent kit	Antall kjøringar som dette kitet kan brukes for	Holdbarhet på systemet
cobas® MTB-RIF/INH	Dato ikke passert	90 dager fra første gangs bruk	Maks. 40 kjøringar	Maks. 36 dager ^b
cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit	Dato ikke passert	Ikke relevant ^a	Ikke relevant	Maks. 36 dager ^b
cobas® Buffer Negative Control Kit	Dato ikke passert	Ikke relevant ^a	Ikke relevant	Maks. 36 dager ^b
cobas omni Lysis Reagent	Dato ikke passert	30 dager etter innmating ^b	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni MGP Reagent	Dato ikke passert	30 dager etter innmating ^b	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni Specimen Diluent	Dato ikke passert	30 dager etter innmating ^b	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni Wash Reagent	Dato ikke passert	30 dager etter innmating ^b	Ikke relevant	Ikke relevant

^a Reagenser for engangsbruk.

^b Tiden måles fra første gang reagentet settes inn i cobas® 5800 System.

Krav til håndtering av reagenser for cobas® 6800/8800 Systems

Reagenser som er plassert på cobas® 6800/8800 Systems, oppbevares ved riktige temperaturer, og utløpsdatoen overvåkes av systemet. cobas® 6800/8800 Systems tillater kun at reagenser brukes hvis alle betingelsene som vises i Tabell 7, er oppfylt. Systemet hindrer automatisk bruk av utløpte reagenser. Tabell 7 informerer brukeren om betingelsene for reagensoppbevaring som håndheves av cobas® 6800/8800 Systems.

Tabell 7 Betingelser for reagensholdbarhet som håndheves av cobas® 6800/8800 Systems

Reagens	Kitets utløpsdato	Holdbarhet for åpent kit	Antall kjøringar som dette kitet kan brukes for	Holdbarhet på systemet (samlet tid på systemet ute av kjøleskap)
cobas® MTB-RIF/INH	Dato ikke passert	90 dager fra første gangs bruk	Maks. 40 kjøringar	Maks. 40 timer
cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit	Dato ikke passert	Ikke relevant ^a	Ikke relevant	Maks. 10 timer
cobas® Buffer Negative Control Kit	Dato ikke passert	Ikke relevant ^a	Ikke relevant	Maks. 10 timer
cobas omni Lysis Reagent	Dato ikke passert	30 dager etter innmating ^b	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni MGP Reagent	Dato ikke passert	30 dager etter innmating ^b	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni Specimen Diluent	Dato ikke passert	30 dager etter innmating ^b	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni Wash Reagent	Dato ikke passert	30 dager etter innmating ^b	Ikke relevant	Ikke relevant

^a Reagenser for engangsbruk.

^b Tiden måles fra første gang reagent settes inn i cobas® 6800/8800 Systems.

Ytterligere materiell som kreves for cobas® 5800 System

Tabell 8 Materialer og forbruksartikler som brukes på **cobas® 5800 System**

Materiale	P/N
cobas omni Processing Plate 24	08413975001
cobas omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Tip CORE TIPS with Filter, 1 ml	04639642001
Tip CORE TIPS with Filter, 300 µl	07345607001
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
Pose for fastavfall eller Pose for fastavfall med innsats	07435967001 eller 08030073001

Ytterligere materiell som kreves for cobas® 6800/8800 Systems

Tabell 9 Materialer og forbruksartikler som brukes på **cobas® 6800/8800 Systems**

Materiale	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
Pose for fastavfall og beholder for fast avfall eller Pose for fastavfall med innsats og oppdatert skuff for fast avfall for kit	07435967001 og 07094361001 eller 08030073001 og 08387281001

Tabell 10 Andre materialer og forbruksartikler som kreves før analysering

Materiell
cobas® Microbial Inactivation Solution (P/N 08185476001)
Sonikator for rør TS 5 (Rinco Ultrasonics AG – P/N 46690)
5 ml polypropylenrør med skrukork 75 × 13 mm, rundbunnet (Sarstedt – rør P/N 60.504.010, kork P/N 65.163)*
MPA RACK 13 MM LIGHT GREEN 7001-7050 (Roche – P/N 03118878001 eller tilsvarende)**
Sentrifuge (tilleggsutstyr for å begrense RCF til maks. 3000 × g, kompatibel med 75 × 13 mm rør med skrukork)
Vortexmikser
Termostabile strekkodeetiketter (OPAL Associates AG, P/N 20300824 TTR PE-Folie Pharma eller tilsvarende)***

* Bruk av andre rør enn de som er anbefalt ovenfor, må verifiseres av brukeren før de brukes for **cobas®** MTB-RIF/INH-arbeidsflyten i laboratoriet.

** MPA 13 mm-rack er påkrevde for å kunne benyttes i sonikatoren TS 5. Kontakt din lokale Roche-representant for en detaljert ordreliste for tilsvarende prøverack i andre farger eller nummerområder. Vær oppmerksom på at RD5-rack ikke er compatible med sonikatoren TS 5.

*** Se brukerhjelpen og/eller brukerveiledningen for **cobas®** 5800/6800/8800 Systems for mer informasjon om strekkodespesifisering. Bruk av andre strekkodeetiketter enn de som er anbefalt ovenfor, må verifiseres av brukeren før de brukes for **cobas®** MTB-RIF/INH-arbeidsflyten i laboratoriet. Kontakt din lokale Roche-representant for mer informasjon om compatible strekkodeetiketter og anbefalinger om verifisering av kompatibilitet. Bruk av strekkodeetiketter som ikke er compatible, kan føre til skade på rør under sonikering og påfølgende kontaminering av instrumentet.

Instrumentering og programvare som kreves

cobas® 5800 System-programvaren og **cobas®** MTB-RIF/INH-analysepakken for **cobas®** 5800 System må være installert på **cobas®** 5800-instrumentet. Data Manager-programvaren og PC-en for **cobas®** 5800 System leveres med systemet.

cobas® 6800/8800 System-programvaren og **cobas®** MTB-RIF/INH-analysepakken for **cobas®** 6800/8800 System må være installert på **cobas®** 6800/8800-instrumentet. IG-serveren (Instrument Gateway-server) følger med systemet.

Tabell 11 Instrumentering

Utstyr	P/N
cobas® 5800 System	08707464001
cobas® 6800 System (flyttbart alternativ)	06379672001
cobas® 6800 System (fast)	05524245001
cobas® 8800 System	05412722001
Prøveforsyningsmodul	06301037001

Se brukerhjelpen og/eller brukerveiledningen for **cobas®** 5800 System eller **cobas®** 6800/8800 Systems for mer informasjon.

Krav til oppbevaring og håndtering

Advarsler og forholdsregler

Som med alle laboratorieprosedyrer er god laboratoriepraksis essensielt for å sikre optimal ytelse for denne analysen. På grunn av testens høye sensitivitet, må det utvises aktsomhet for å sikre at reagenser og amplifikasjonsblandinger ikke kontamineres.

- Kun for bruk til *in vitro*-diagnostikk.
- Alle pasientprøver skal betraktes som potensielt infeksiose. Alle biologiske prøver skal derfor håndteres som potensielt infeksiose, og gode laboratorierutiner må følges og gode risikovurderinger må tas. Disse er beskrevet i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, i CLSI-dokumentet M29-A4 og i Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual fra WHO.¹²⁻¹⁴ Kun personell som har opplæring i håndtering av infeksjøst materiale og i bruk av cobas® MTB-RIF/INH og cobas® 5800/6800/8800 Systems, skal utføre denne prosedyren.
- Alt personell skal bruke personlig verneutstyr, deriblant laboratoriefrakk, engangshansker, vernebriller og åndedrettsvern, i samsvar med arbeidsstedets sikkerhetsprosedyrer og praksis, og skal følge institusjonens sikkerhetsprosedyrer for arbeid med kjemikalier og biologiske prøver.
- Når prøven gjøres flytende og ved mykobakteriell inaktivering med MIS utføres dette i et avtrekkskabinett for biologisk sikkerhet (BSC) innenfor biosikkerhetsnivå B3¹² i tråd med lokale og institusjonelle retningslinjer¹⁴ eller forskrifter, og bør være basert på en adekvat risikovurdering.
- Vellykket TB-inaktivering avhenger av at prosedyren som beskrives i dette dokumentet, følges, og at prøven blandes fullstendig med MIS. Preanalytisk behandling av pasientprøver med MIS reduserer risikoen for TB-infeksjon, men vil ikke eliminere risikoen fullstendig.
- Alt materiale med human opprinnelse skal betraktes som potensielt infeksjøst og skal håndteres i samsvar med universelle forholdsregler. Hvis det søles materiale, desinfiser straks i samsvar med laboratoriets gjeldende prosedyrer.
- Hvis det søles prøvemateriale i MIS (som inneholder guanidintiocyanat), må det ikke komme i kontakt med desinfeksjonsmidler som inneholder natriumhypokloritt, som f.eks. klormidler. Denne blandingen kan produsere en svært giftig gass.
- Hvis det søles prøvemateriale i MIS, må man FØRST rengjøre med et egnet laboratorierengjøringsmiddel og vann og deretter med 70 % etanol.
- MIS er lyssensitivt og leveres i lysbeskyttede flasker. MIS må oppbevares stående.
- Bruk kun medfølgende eller spesifiserte forbruksartikler, for å sikre optimal analyseytelse.
- Følg angitte prosedyrer og retningslinjer nøye for å sikre at testen utføres korrekt. Eventuelle avvik fra prosedyrene og retningslinjene kan påvirke analyseytelsen.
- Falske positive resultater kan oppstå hvis krysskontaminering av prøver ikke forhindres under prøvehåndtering og prøveprosessering.
- Sikkerhetsdatablad (SDS) er tilgjengelig fra ditt lokale Roche kontor på forespørsel.
- Informer lokale kompetente myndigheter om eventuelle alvorlige hendelser som kan oppstå når du bruker denne analysen.

Håndtering av reagenser

- Håndter alle reagenser, kontroller og prøver i henhold til god laboratoriepraksis, for å unngå krysskontaminering av prøver, reagenser eller kontroller.
- Inspiser visuelt hver enkelt reagenskassett, diluent, lyseringsreagens og vaskereagens før bruk for å sikre at det ikke er tegn på lekkasje. Ikke bruk materialet til testing hvis det er tegn på lekkasje.
- **cobas omni** Lysis Reagent og MIS inneholder guanidintiocyanat, et potensielt farlig kjemikalium. Unngå at reagensene kommer i kontakt med hud, øyne eller slimhinner. Skyll umiddelbart med mye vann hvis slik kontakt oppstår, ellers kan det oppstå brannskade.
- Sørg for at **cobas omni** Lysis Reagent og MIS, som inneholder guanidintiocyanat, ikke kommer i kontakt med natriumhypokloritt (klorløsning). Denne blandingen kan produsere en svært giftig gass.
- Brukte kontrollkit har perforerte hetteglass med rester av reagens. Vær spesielt forsiktig under kassering, for å unngå søl og kontakt med reagens.
- **cobas**® MTB-RIF/INH, **cobas**® MTB-RIF/INH Positive Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent og **cobas omni** Specimen Diluent inneholder natriumazid som konserveringsmiddel. Unngå at reagensene kommer i kontakt med hud, øyne eller slimhinner. Skyll umiddelbart med mye vann hvis slik kontakt oppstår, ellers kan det oppstå brannskade. Fortynn med vann før du tørker opp eventuelt søl av reagensene.
- Kast alle materialer som har vært i kontakt med prøver og reagenser, i henhold til nasjonalt, regionalt, og lokalt regelverk.

God laboratoriepraksis

- Ikke pipetter med munnen.
- Ikke spis, drikk eller røyk i angitte arbeidsområder.
- Prøveinaktivering med MIS skal utføres i et avtrekkskabinett for biologisk sikkerhet (BSC) i et laboratorium med biosikkerhetsnivå B3¹² eller i et annet biosikkerhetskontrollert miljø, i tråd med lokale og institusjonelle retningslinjer eller forskrifter, og bør være basert på en adekvat risikovurdering.
- Bruk laboratoriehansker, laboratoriefrakk, vernebriller og åndedrettsvern når du håndterer prøver og reagenser, i samsvar med arbeidsstedets sikkerhetsprosedyrer. Unngå kontaminering av hanskene når prøver og kontroller håndteres. Bytt hansker mellom håndtering av prøver og **cobas**® MTB-RIF/INH, **cobas**® MTB-RIF/INH Positive Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, **cobas omni**-reagenser og forbruksartikler, for å unngå kontaminering.
- Desinfiser og vask hendene nøye etter håndtering av prøver og reagenser og etter at hanskene er tatt av.
- Rengjør og desinfiser alle arbeidsoverflater nøye med en nylaget løsning av 0,6 % natrium- eller kaliumhypokloritt i destillert eller deionisert vann. Tørk deretter av overflaten med 70 % etanol.
- Hvis det søles på **cobas**® 5800/6800/8800 Systems, følg instruksjonene i brukerhjelpen og/eller brukerveiledningen for **cobas**® Systems for å sørge for tilstrekkelig rengjøring og dekontaminering av instrumentoverflatene.

Prøvetaking, -transport og -oppbevaring

Merk: Alle prøver og kontroller må behandles som om de er potensielt infeksiose.

Prøve

Ubehandlet sputum, NALC-NaOH-behandlet sputum og BAL-sedimenter kan brukes med **cobas**® MTB-RIF/INH.

Transport og oppbevaring av prøver

Prøver av ubehandlet sputum kan oppbevares og/eller transporteres i opptil 3 dager ved 2 °C til 35 °C, etterfulgt av opptil 7 dager ved 2 °C til 8 °C, før forbehandling og inaktivering med MIS. For langvarig oppbevaring av sputumprøver som ikke er behandlet med MIS, anbefales temperaturer ≤ -20 °C.

NALC-NaOH-behandlede sputum- og BAL-sedimentprøver kan oppbevares i opptil 7 dager ved 2 °C til 8 °C før prøvene inaktiveres med MIS. For langvarig oppbevaring av sputum og BAL-sedimenter som ikke er behandlet med MIS, kan prøver oppbevares fryst ved ≤ -20 °C i opptil 9 måneder, inkludert to fryse-/tinesykluser.

Hvis prøver skal sendes, må de pakkes og merkes i henhold til gjeldende nasjonalt og internasjonalt regelverk for transport av prøver og biologisk materiale.

Oppbevaring av inaktiverte prøver

Ubehandlet sputum, NALC-NaOH-behandlede sputum- og BAL-sedimentprøver som er behandlet med MIS (inaktivert), kan oppbevares i opptil 12 timer ved 15 °C til 35 °C, etterfulgt av opptil 7 dager ved 2 °C til 8 °C og 30 dager ved ≤ -20 °C, inkludert to fryse-/tinesykluser før behandling på **cobas**® 5800/6800/8800 Systems.

Merk: MIS-behandlede prøver vil kanskje ikke fryse, grunnet det høye innholdet av isopropanol.

Merk: Sonikering av prøver kan utføres når som helst etter en innledende inkubering med MIS i minst 60 minutter. Se avsnittet "Sonikering av prøver" for mer informasjon.

Bruksanvisning

Merknader til prosedyren

- Ikke bruk **cobas**® MTB-RIF/INH, **cobas**® MTB-RIF/INH Positive Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, MIS eller **cobas** **omni**-reagenser etter de respektive utløpsdatoene.
- Forbruksartikler skal ikke gjenbrukes. De er kun for engangsbruk.
- Sørg for at de termostabile strekkodeetikettene på prøverørene vender ut og vises gjennom åpningene øverst på siden av MPA-prøverackene. Se Figur 1 og brukerhjelpen og/eller brukerveiledningen for **cobas**® 5800/6800/8800 Systems for informasjon om riktig spesifisering av strekkodeetiketter og tilleggsinformasjon om innlasting av prøverør.
- Sørg for at korkene er tatt av prøverørene etter sonikering og før de lastes inn på **cobas**® 5800/6800/8800 Systems.
- Se brukerhjelpen og/eller brukerveiledningen for **cobas**® 5800/6800/8800 Systems for informasjon om riktig vedlikehold av instrumenter.

Før **cobas**® MTB-RIF/INH kjøres på **cobas**® 5800/6800/8800 Systems, må prøvene prosesseres i samsvar med anvisningene i de følgende avsnittene: “Prosessering av prøver med ubehandlet sputum”, “Prosessering av sputum og BAL-sedimenter” og “Sonikering av prøver”. Forkortelser av representative arbeidsflyter vises i Tabell 12 for prøver med ubehandlet sputum og i Tabell 13 for sedimentprøver. Se de påfølgende avsnittene for mer informasjon.

Merk: Prøveinaktivering med MIS bør utføres i et avtrekkskabinett for biologisk sikkerhet (BSC) innenfor biosikkerhetsnivå B3¹² eller annet biosikkerhetskontrollert miljø i tråd med lokale og institusjonelle retningslinjer¹⁴ eller forskrifter, og bør være basert på en adekvat risikovurdering.

Merk: Sonikering av MIS-behandlede prøver kan utføres i et laboratorium med biosikkerhetsnivå 2 eller annet biosikkerhetskontrollert miljø, i samsvar med nasjonale forskrifter og laboratoriets retningslinjer.

Tabell 12 Oversikt over arbeidsflyt – prøvetypen “Raw sputum” (Ubehandlet sputum)

BSL-3 (BSC)	1				Tilsett 2 deler MIS til 1 del ubehandlet sputum
	2		30–60 sekunder		Rist kraftig, eller vortex i 30–60 sekunder
	3		≥ 60 minutter		Inkuber prøven i minst 60 minutter ved 15–30 °C (romtemperatur)
	4		30–60 sekunder		Rist kraftig, eller vortex i 30–60 sekunder
	5		1,2 ml for 1 analyse 2,4 ml for 2 analyser 3,6 ml for 3 analyser		Overfør 1,2 til 3,6 ml av MIS-behandlet prøve til et sekundærrør med skrukork
BSL-2	6		5 minutter		Sonikere den MIS-behandlede prøven
	7		Maks. 1 minutt		Sentrifuger prøven i maks. 1 minutt ved en maks. RCF på 3000 × g
	8				Last inn prøven uten kork på cobas ® 5800 eller cobas ® 6800/8800 Systems og start kjøringen ved å bruke prøvetypen “Raw sputum” (Ubehandlet sputum)

Tabell 13 Oversikt over arbeidsflyt – sedimentprøve

BSL-3 (BSC)	1		0,2 ml for 1 analyse 0,4 ml for 2 analyser 0,6 ml for 3 analyser	Vortex og overfør 0,2 til 0,6 ml av sedimentprøven til et sekundærrør med skrukork
	2	  		Tilsett 5 deler MIS til 1 del sedimentprøve • 1 ml MIS for 1 analyse (0,2 ml sedimentprøve) • 2 ml MIS for 2 analyser (0,4 ml sedimentprøve) • 3 ml MIS for 3 analyser (0,6 ml sedimentprøve)
	3		30–60 sekunder	Rist kraftig, eller vortex i 30–60 sekunder
	4		≥ 60 minutter	Inkuber prøven i minst 60 minutter ved 15–30 °C (romtemperatur)
	5		30–60 sekunder	Rist kraftig, eller vortex i 30–60 sekunder
BSL-2	6		5 minutter	Sonikere den MIS-behandlede prøven
	7		Maks. 1 minutt	Sentrifuger prøven i maks. 1 minutt ved en maks. RCF på 3000 × g
	8			Last inn prøven uten kork på cobas ® 5800 eller cobas ® 6800/8800 Systems og start kjøringen ved å bruke prøvetypen “Sediment specimen” (Sedimentprøve)

Prosessering av prøver med ubehandlet sputum

- Kontroller at beholderen med ubehandlet sputum er riktig merket og inneholder minst 0,4 ml sputum. Hvis prøven har vært fryst, må den tines og romtempereres.
- Vend MIS-flasken opp-ned fra to til fire ganger før bruk.
- Åpne beholderen med sputum og tilsett ca. to deler MIS til én del sputumprøve (f.eks. 2 ml MIS til 1 ml sputumprøve) ved å anslå volumet visuelt og bruke en engangspipette. Lukk beholderen med sputum godt.
- Sett kork på MIS-flasken umiddelbart etter bruk.
- Rist kraftig, eller vortex i 30–60 sekunder.

Merk: Kontroller at hele sputumprøven er blandet med MIS.
- Inkuber prøven i minst 60 minutter ved 15–30 °C (romtemperatur).

Merk: Se avsnittet “Oppbevaring av inaktiverte prøver” for informasjon om maksimale oppbevaringsforhold.
- Rist kraftig eller vortex i 30–60 sekunder, eller til prøven er helt homogenisert.
- Overfør minst 1,2 ml og maks. 3,6 ml MIS-behandlet sputumprøve til et 5 ml rundbunnet polypropylenrør med skrukork 75 × 13 mm (Sarstedt – rør P/N 60.504.010, kork P/N 65.163) merket med termostabil strekkodeetikett. Lukk røret godt.

Merk: Før prøvene overføres må det kontrolleres at strekkodeinformasjonen på primærprøvebeholderen stemmer med informasjonen på det 5 ml sekundærrøret.

Merk: Se Tabell 14.
- Sonikere den inaktiverte prøven i samsvar med instruksjonene i avsnittet “Sonikering av prøver” før cobas® MTB-RIF/INH kjøres.

Prosessering av sputum og BAL-sedimenter

- Kontroller at beholderen med NALC-NaOH-behandlet sputum og BAL-sediment er riktig merket og inneholder minst 0,2 ml prøve. Hvis prøven har vært fryst, må den tines og romtempereres.
- Vortex sedimentprøven i minst 10 sekunder.
- Overfør minst 0,2 ml og maks. 0,6 ml av sedimentprøven til et 5 ml rundbunnet polypropylenrør med skrukork 75 × 13 mm (Sarstedt – rør P/N 60.504.010, kork P/N 65.163) merket med strekkodeetikett.

Merk: Før prøvene overføres må det kontrolleres at strekkodeinformasjonen på prøvebeholderen stemmer med informasjonen på det 5 ml sekundærrøret.
- Vend MIS-flasken opp-ned fra to til fire ganger før bruk.
- Tilsett fem deler MIS til én del prøve (f.eks. 1 ml MIS til 0,2 ml prøve). Lukk røret godt.

Merk: Se Tabell 14.
- Sett kork på MIS-flasken umiddelbart etter bruk.
- Rist kraftig, eller vortex i 30–60 sekunder.

Merk: Kontroller at hele prøven er blandet med MIS.
- Inkuber prøven i minst 60 minutter ved 15–30 °C (romtemperatur).

Merk: Se avsnittet “Oppbevaring av inaktiverte prøver” for informasjon om maksimale oppbevaringsforhold.
- Rist kraftig, eller vortex i 30–60 sekunder.
- Sonikere den inaktiverte prøven i samsvar med instruksjonene i avsnittet “Sonikering av prøver” før cobas® MTB-RIF/INH kjøres.

Tabell 14 Krav til volum av **cobas®** Microbial Inactivation Solution-behandlet prøve for kjøring av **cobas®** MTB-RIF/INH

Antall analyser som skal utføres fra sekundærrør	Minste påkrevde volum av MIS-behandlet prøve	Maks. påkrevde volum av MIS-behandlet prøve
1 analysebestilling	1,2 ml	3,6 ml
2 analysebestillinger*	2,4 ml	3,6 ml
3 analysebestillinger*	3,6 ml	3,6 ml

* Kan brukes til prosessering i blandet batch med andre **cobas®** 5800/6800/8800-analyser ved bruk av samme prøvetype eller for gjentatt testing.

Sonikering av prøver

- Sonikering av prøver for kjøring av **cobas®** MTB-RIF/INH må utføres ved å bruke sonikator for rør TS 5 fra Rinco Ultrasonics AG (P/N 46690). Bruk av andre sonikatoren kan føre til falske positive, falske negative og/eller ugyldige resultater. Betjening av sonikatoren beskrives i detalj i brukerveiledningen fra produsenten.
- Plasser fem strekkodemerkede lukkede rør med skrukork som inneholder fra 1,2 ml til 3,6 ml MIS-behandlet prøve, i et MPA-rack.

Merk: Sørg for at de termostabile strekkodeetikettene på prøverørene vender ut og vises gjennom åpningene øverst på siden av MPA-prøverackene (se Figur 1).

Merk: Sørg for at hvert rør har én termostabil strekkodeetikett.

Merk: Sørg for at alle de fem rørposisjonene på MPA-racket er fylt. Hvis det er færre enn fem rør med MIS-behandlet prøve tilgjengelig, må de resterende posisjonene fylles med vannfylte eller MIS-fylte “dummy-rør” av samme rørtype og med en termostabil strekkodeetikett.

Figur 1 Riktig plassering av prøverør i MPA-rack før sonikering

- Start sonikatoren.
- Velg den forhåndsdefinerte sonikeringprofilen “Respiratory Samples” (Luftveisprøver).
- Åpne sonikatoren og sett inn MPA-racket i samsvar med produsentens instruksjoner.
- Lukk sonikatoren.
- Start sonikeringen.
- Kontroller at sonikeringen var vellykket og ta ut MPA-racket.

Merk: Prøverørene vil bli oppvarmet under sonikeringen. Vær forsiktig når du tar ut MPA-racket med prøverør.

Merk: Hvis sonikeringen mislykkes: Se produsentens instruksjoner, korrigér årsaken, la prøvene nedkjøles i minst 15 minutter og gjenta sonikeringen.

- MIS-behandlede og sonikerede prøver kan nå kjøres med **cobas®** MTB-RIF/INH, eller de kan settes til oppbevaring i samsvar med instruksjonene i avsnittet “Oppbevaring av inaktiverede prøver”.

Kjøre **cobas®** MTB-RIF/INH på **cobas®** 5800 System

cobas® MTB-RIF/INH kan kjøres med et minimum prøvevolum på 1,2 ml, hvorav 850 µl behandles. Testprosedyren beskrives i detalj i brukerhjelpen og/eller brukerveiledningen for **cobas®** 5800 System. Figur 2 nedenfor viser et sammendrag av prosedyren.

- Før man fjerner korker fra rør og laster inn prøver i **cobas®** 5800 System, anbefales det å spinne ned celler og cellerester ved sentrifugering i maks. 1 minutt ved en maks. RCF på $3000 \times g$.
- En enkelt kjøring kan ha hvilken som helst kombinasjon av prøve (ubehandlet sputum, sediment).

Merk: Vortex prøver i minst 10 sekunder hvis prøvene har vært oppbevart i mer enn 1 time etter sonikering og før sentrifugering.

Merk: Hvis sentrifugeringstrinnet utelates, kan det føre til økt forekomst av klumper i prøvene på **cobas®** 5800 System.

Figur 2 cobas® MTB-RIF/INH-testprosedyre på cobas® 5800 System

1	Logg på systemet.
2	Mat inn prøver i systemet. • Ta av korken fra røret. • Overfør røret direkte til racket. • Mat inn prøverack i systemet. • Systemet klargjør automatisk. • Bestill tester. • Velg "Raw sputum" for bestilling av MIS-behandlede prøver med ubehandlet sputum. • Velg "Sediment" for å bestille MIS-behandlede sputum-/BAL-sedimentprøver.
3	Fyll på reagenser og forbruksartikler som anvist av systemet. • Mat inn testspesifikke reagenskasset(er). • Mat inn kontrollminirack. • Mat inn prosesseringsspisser. • Mat inn elueringsspisser. • Mat inn prosesseringsbrett. • Mat inn væskeavfallsplater. • Mat inn mikrobrønnplater. • Mat inn MGP-kassett. • Etterfyll Specimen Diluent. • Etterfyll Lysis Reagent. • Etterfyll Wash Reagent.
4	Start analyseserien ved å velge knappen "Start processing" i brukergrensesnittet. Alle etterfølgende analyseserier starter automatisk hvis de ikke utsettes manuelt.
5	Gjennomgå og eksportere resultater.
6	Ta ut og sett kork på eventuelle prøverør som oppfyller minstekravene til volum, ved behov, og oppbevar dem for fremtidig bruk. Rydd instrumentet. • Mat ut tomme kontrollminirack. • Mat ut tomme testspesifikke reagenskassetter. • Tøm mikrobrønnplateskuffen. • Tøm væskeavfall. • Tøm fastavfall.

Kjøre cobas® MTB-RIF/INH på cobas® 6800/8800 Systems

cobas® MTB-RIF/INH kan kjøres med et minimum påkrevd prøvevolum på 1,2 ml, hvorav 850 µl behandles. Betjening av instrumentet beskrives i detalj i brukerhjelpen og/eller brukerveiledningen for cobas® 6800/8800 Systems. Figur 3 nedenfor viser et sammendrag av prosedyren.

- Før man fjerner korker fra rør og laster inn prøver i cobas® 6800/8800 Systems, anbefales det å spinne ned celler og cellerester ved sentrifugering i maks. 1 minutt ved en maks. RCF på $3000 \times g$.
- En enkelt kjøring kan ha hvilken som helst kombinasjon av prøve (ubehandlet sputum, sediment).

Merk: Vortex prøver i minst 10 sekunder hvis prøvene har vært oppbevart i mer enn 1 time etter sonikering og før sentrifugering.

Merk: Hvis sentrifugeringstrinnet utelates, kan det føre til økt forekomst av klumper i prøvene på cobas® 6800/8800 Systems.

Figur 3 cobas® MTB-RIF/INH-testprosedyre på cobas® 6800/8800 Systems

1	Logg på systemet. Trykk på Start for å klargjøre systemet. Bestill tester. • Velg "Raw sputum" for bestilling av MIS-behandlede prøver med ubehandlet sputum. • Velg "Sediment" for å bestille MIS-behandlede sputum-/BAL-sedimentprøver.
2	Fyll på reagenser og forbruksartikler som anvist av systemet. • Mat inn testspesifikke reagenskassetter. • Mat inn kontrollkassetter. • Mat inn pipettespisser. • Mat inn prosesseringsbrett. • Mat inn MGP Reagent. • Mat inn mikrobørnplater. • Etterfyll Specimen Diluent. • Etterfyll Lysis Reagent. • Etterfyll Wash Reagent.
3	Mat inn prøver i systemet. • For hver prøve ◦ Ta av korken fra røret. ◦ Overfør røret til racket. • Mat inn prøveracket og racket for tilstoppede spisser i prøvforsyningsmodulen • Kontroller at prøvene er godtatt i overføringsmodulen.
4	Start analysering.
5	Gjennomgå og eksportere resultater.
6	Ta ut og sett kork på eventuelle prøverør som oppfyller minstekravene til volum, ved behov, og oppbevar dem for fremtidig bruk. Rengjør instrumentet: • Mat ut tomme kontrollkassetter. • Tøm mikrobørnplateskuffen. • Tøm væskeavfall. • Tøm fastavfall.

Resultater

cobas® MTB-RIF/INH detekterer automatisk rifampicin-resistensassosierte mutasjoner og isoniazid-resistensassosierte mutasjoner for prøver og kontroller og viser analysevaliditet samt individuelle målresultater.

Kvalitetskontroll og gyldighet av resultater på cobas® 5800 System

- Én negativ kontroll [(-) Ctrl] og én positiv kontroll [MTB-RIF/INH (+) C] må prosesseres minst hver 72. time og med hver ny kitlot. Positive og/eller negative kontroller kan planlegges oftere basert på laboratorierutiner og/eller lokale forskrifter.
- Sjekk for flagg og deres tilhørende resultater i cobas® 5800-programvaren og/eller rapporten for å sikre at resultatet er gyldig.

Resultatene gjøres automatisk ugyldige av cobas® 5800-programvaren hvis den negative eller positive kontrollen ikke blir godkjent.

MERK: cobas® 5800 System leveres med standardinnstillingen for kjøring av et sett kontroller (positiv og negativ) med hver analyseserie, men kan konfigureres til å kjøres sjeldnere, maksimalt hver 72. time basert på laboratorierutiner og/eller lokale forskrifter. Kontakt din lokale Roche-servicetekniker og/eller Roche teknisk support for å få mer informasjon.

Kontrollresultater på cobas® 5800 System

Resultatene av kontrollene vises i cobas® 5800-programvaren i appen “Controls”.

- Kontroller er merket med “Valid” i kolonnen “Control result” hvis alle mål for kontrollen er rapportert som gyldige. Kontroller er merket med “Invalid” i kolonnen “Control result” hvis et eller flere mål for kontrollen er rapportert som ugyldige.
- Kontroller merket med “Invalid” har et flagg i kolonnen “Flags”. Det står mer informasjon om hvorfor kontrollen er rapportert som ugyldig, inkludert flagginformasjon, i detaljvisningen.
- Hvis en av kontrollene er ugyldig, er gjentatt testing av alle kontrollene og alle tilhørende prøver påkrevd.

Kvalitetskontroll og gyldighet av resultater fra cobas® 6800/8800 Systems

- Én negativ kontroll [(-) Ctrl] og én positiv kontroll [MTB-RIF/INH (+) C] prosesseres med hver analyseserie av en bestilt resultattype.
- Sjekk for flagg og deres tilhørende resultater i cobas® 6800/8800-programvaren og/eller rapporten for å sikre at analyseserien er gyldig.
- Alle flagg beskrives i brukerhjelpen og/eller brukerveiledningen for cobas® 6800/8800 Systems.
- Analyseserien er gyldig hvis det ikke vises noen flagg for noen av kontrollene. Hvis analyseserien er ugyldig, må hele analyseserien testes på nytt.

Resultatene valideres automatisk av cobas® 6800/8800 Systems-programvaren avhengig av resultatene av den negative og positive kontrollen.

[illegible]

Target 1	Target 2	Target 3	Target 4	Tolkning
INH Positive	RIF 1 Negative	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	INH-resultatet er gyldig. INH-resistensassosiert(e) mutasjon(er) detektert. RIF-resultatet er gyldig. RIF-resistensassosiert(e) mutasjon(er) detektert.
INH Positive	Invalid	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	INH-resultatet er gyldig. INH-resistensassosiert(e) mutasjon(er) detektert. RIF-resultatet er gyldig. RIF-resistensassosiert(e) mutasjon(er) detektert.
INH Positive	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	INH-resultatet er gyldig. INH-resistensassosiert(e) mutasjon(er) detektert. RIF-resultatet er gyldig. RIF-resistensassosiert(e) mutasjon(er) detektert.
INH Positive	Invalid	Invalid	Invalid	INH-resultatet er gyldig. INH-resistensassosiert(e) mutasjon(er) detektert. RIF-resultatet er ugyldig. Se instruksjonene ovenfor.
Invalid	RIF 1 Positive	Invalid	Invalid	INH-resultatet er ugyldig. Se instruksjonene ovenfor. RIF-resultatet er gyldig. RIF-resistensassosiert(e) mutasjon(er) detektert.
Invalid	Invalid	RIF 2 Positive	Invalid	INH-resultatet er ugyldig. Se instruksjonene ovenfor. RIF-resultatet er gyldig. RIF-resistensassosiert(e) mutasjon(er) detektert.
Invalid	Invalid	Invalid	RIF 3 Positive	INH-resultatet er ugyldig. Se instruksjonene ovenfor. RIF-resultatet er gyldig. RIF-resistensassosiert(e) mutasjon(er) detektert.
Invalid	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	Invalid	INH-resultatet er ugyldig. Se instruksjonene ovenfor. RIF-resultatet er gyldig. RIF-resistensassosiert(e) mutasjon(er) detektert.
Invalid	RIF 1 Positive	Invalid	RIF 3 Positive	INH-resultatet er ugyldig. Se instruksjonene ovenfor. RIF-resultatet er gyldig. RIF-resistensassosiert(e) mutasjon(er) detektert.
Invalid	Invalid	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	INH-resultatet er ugyldig. Se instruksjonene ovenfor. RIF-resultatet er gyldig. RIF-resistensassosiert(e) mutasjon(er) detektert.
Invalid	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	INH-resultatet er ugyldig. Se instruksjonene ovenfor. RIF-resultatet er gyldig. RIF-resistensassosiert(e) mutasjon(er) detektert.
INH Positive	RIF 1 Negative	Invalid	RIF 3 Positive	INH-resultatet er gyldig. INH-resistensassosiert(e) mutasjon(er) detektert. RIF-resultatet er gyldig. RIF-resistensassosiert(e) mutasjon(er) detektert.
Invalid	Invalid	Invalid	Invalid	INH-resultatet er ugyldig. Se instruksjonene ovenfor. RIF-resultatet er ugyldig. Se instruksjonene ovenfor.

Tolkning av resultater på cobas® 5800 System

Resultatene av prøvene vises i cobas® 5800-programvaren i appen “Results”.

For en gyldig kontrollanalyseserie, sjekk hver enkelt prøve for flagg i cobas® 5800-programvaren og/eller rapporten.

Resultatene skal tolkes på følgende måte:

- Prøver som tilhører en gyldig kontrollanalyseserie, vises som “Valid” i kolonnen “Control result” hvis alle kontrollresultater rapporteres som gyldige. Prøver som tilhører en mislykket kontrollanalyseserie, vises som “Invalid” i kolonnen “Control result” hvis alle kontrollresultater rapporteres som ugyldige.
- Hvis de tilhørende kontrollene for et prøveresultat er ugyldige, legges det til et spesifikt flagg for prøveresultatet som følger:
 - Q05D: Mislykket resultatvalidering på grunn av en ugyldig positiv kontroll
 - Q06D: Mislykket resultatvalidering på grunn av en ugyldig negativ kontroll
- Verdiene i kolonnen “Results” for enkelte prøveresultater skal tolkes som vist i Tabell 15 over.

Hvis ett eller flere prøvemål er merket med “Invalid”, viser **cobas**® 5800-programvaren et flagg i kolonnen “Flags”. Det står mer informasjon om hvorfor ett eller flere prøvemål er rapportert som ugyldige, inkludert flagginformasjon, i detaljvisningen.

Figur 4 Eksempel på **cobas**® MTB-RIF/INH-resultater på **cobas**® 5800 System

Sample ID	Test	Control result	Flag	Status	Result				Creation date/time
MRI_RS_inv-01	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Invalid	RIF1 Invalid	RIF2 Invalid	RIF3 Invalid	7/1/2022 11:45:19 AM
MRI_RS_neg-01	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Negative	RIF1 Negative	RIF2 Negative	RIF3 Negative	7/1/2022 11:45:20 AM
MRI_RS_neg-02	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Negative	RIF1 Negative	RIF2 Negative	RIF3 Negative	7/1/2022 11:45:20 AM
MRI_RS_pos-01	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Positive (Ct 41.56)	RIF1 Positive (Ct 40.12)	RIF2 Positive (Ct 41.08)	RIF3 Positive (Ct 40.38)	7/1/2022 11:45:18 AM
MRI_RS_pos-02	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Positive (Ct 40.22)	RIF1 Positive (Ct 42.00)	RIF2 Positive (Ct 42.78)	RIF3 Positive (Ct 42.77)	7/1/2022 11:45:19 AM
MRI_S_inv-01	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Invalid	RIF1 Invalid	RIF2 Invalid	RIF3 Invalid	7/1/2022 11:45:18 AM
MRI_S_neg-01	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Negative	RIF1 Negative	RIF2 Negative	INH Negative	7/1/2022 11:45:18 AM

Tolkning av resultater på **cobas**® 6800/8800 Systems

For en gyldig analyseserie, sjekk hver enkelt prøve for flagg i **cobas**® 6800/8800 Systems-programvaren eller rapporten. Resultatene skal tolkes på følgende måte:

- En gyldig analyseserie kan omfatte både gyldige og ugyldige prøveresultater.
- Kolonnene “Valid” og “Overall Result” er ikke relevante (NA) for prøveresultater for **cobas**® MTB-RIF/INH og er merket med “NA”. Verdiene som rapporteres i disse kolonnene, er ikke relevante, og har **ingen** innvirkning på gyldigheten av resultatene som rapporteres i de enkelte målresultatkolonnene.
- Rapporterte målresultater for enkeltprøver er gyldige med mindre de er angitt som “Invalid” i den aktuelle målresultatkolonnen. Vær oppmerksom på at rapporterbare resultater for RIF-resistensassosierte mutasjoner kan inneholde ett eller to individuelle målresultater, som vist i Tabell 15.
- Mer enn én RIF-resistensassosiert mutasjon kan være til stede og detekteres i en av RIF-deteksjonskanalene (Target 2, Target 3, Target 4 – Mål 2, Mål 3, Mål 4). **cobas**® MTB-RIF/INH skiller ikke mellom de spesifikke RIF-resistensassosierte mutasjonene.
- Mer enn én INH-resistensassosiert mutasjon kan være til stede og detekteres i INH-deteksjonskanalen (Target 1 – Mål 1). **cobas**® MTB-RIF/INH skiller ikke mellom de spesifikke INH-resistensassosierte mutasjonene.
- **cobas**® MTB-RIF/INH er en refleksanalyse for **cobas**® MTB og anvender derfor deteksjon av villtype MTB-kompleks-DNA for å overvåke hele prøvepreparerings- og PCR-amplifikasjonsprosessen. **cobas**® MTB skiller seg fra **cobas**® MTB-RIF/INH ved at den har høyere sensitivitet for deteksjon av MTB-kompleks-DNA, fordi den bruker en metode med to målområder, der ett mål finnes i flere genomkopier. Så i enkelte situasjoner der verken MTB eller de respektive resistensassosierte mutasjonene blir detektert, kan ikke tilstedeværelse eller fravær av resistensassosierte mutasjoner bestemmes med **cobas**® MTB-RIF/INH (resultatet “Invalid” i den respektive målresultatkolonnen, Tabell 15). Hvis dette skjer:
 - Sjekk for tilknyttede flagg. Ved fravær av andre flagg indikerer “C02H1-H5”-flaggene utilstrekkelig MTB-kompleks-DNA.

- Analyser den inaktiverte prøven på nytt hvis tilstrekkelig prøvevolum er tilgjengelig, i samsvar med Tabell 14, og hvis den inaktiverte prøven har vært lagret i samsvar med avsnittet “Oppbevaring av inaktiverte prøver”. Hvis ikke, analyser på nytt med en fersk prøve.
- Vurder å berike *M. tuberculosis*-bakteriemengden med dyrkning, eller bruk alternative metoder hvis det observeres ugyldige resultater flere ganger for samme pasient.
- Testresultatene skal bare tolkes i sammenheng med opplysninger fra klinisk vurdering av pasienten og pasientanamnesen.

Resultater og resultattolkning for deteksjon av rifampicin- og isoniazid-resistensassosierte mutasjoner vises i Tabell 15.

Figur 5 Eksempel på cobas® MTB-RIF/INH-resultater på cobas® 6800/8800 Systems

Test	Sample ID	Valid	Flags	Sample type	Overall result	Target 1	Target 2	Target 3	Target 4
MTB-RIF/INH 850 µL	MDR_Suspect_R_0001	NA		Raw Sputum	NA	INH Negative	RIF1 Negative	RIF2 Positive	RIF3 Negative
MTB-RIF/INH 850 µL	MDR_Suspect_R_0002	NA		Raw Sputum	NA	INH Positive	RIF1 Negative	RIF2 Negative	RIF3 Positive
MTB-RIF/INH 850 µL	MDR_Suspect_R_0003	NA	P02T	Raw Sputum	NA	Invalid	Invalid	Invalid	Invalid
MTB-RIF/INH 850 µL	MDR_Suspect_S_0001	NA		Sediment	NA	INH Negative	RIF1 Negative	RIF2 Positive	RIF3 Negative
MTB-RIF/INH 850 µL	MDR_Suspect_S_0002	NA		Sediment	NA	INH Positive	RIF1 Negative	RIF2 Negative	RIF3 Positive
MTB-RIF/INH 850 µL	MDR_Suspect_S_0003	NA	C02H1	Sediment	NA	Invalid	Invalid	Invalid	Invalid
MTB-RIF/INH 850 µL	C161420284090428828404	Yes		(-) Ctrl	Valid	Valid	Valid	Valid	Valid
MTB-RIF/INH 850 µL	C161420284093009580264	Yes		MTB-RIF/INH (+) C	Valid	Valid	Valid	Valid	Valid

Testens begrensninger

- cobas® MTB-RIF/INH skal alltid kjøres sammen med mykobakteriell dyrking og medikamentfølsomhetstesting, og som en refleksanalyse sammen med cobas® MTB (prøver som er bestemt positive med cobas® MTB), for å minimere risikoen for falske positive, falske negative og/eller ugyldige resultater. Ytelsen til cobas® MTB-RIF/INH er validert for ubehandlet sputum og for sputum og BAL-sedimentprøver som er gjort flytende, dekontaminert og konsentrert ved bruk av NALC-NaOH. Bruk av andre prøvetyper kan føre til falske positive, falske negative og/eller ugyldige resultater. Forbehandling og dekontaminering skal utføres ved å bruke NALC-NaOH-prosedyrene som anbefales av CDC.¹⁵ Bruk av andre preanalytiske prøveprepareringsprosedyrer kan føre til falske positive, falske negative og/eller ugyldige resultater.
- cobas® MTB-RIF/INH er validert for bruk med ubehandlet sputum og NALC-NaOH-behandlede sputum- og BAL-sedimentprøver som er kjemisk inaktivert ved bruk av MIS. Bruk av andre prosedyrer for inaktivering er ikke evaluert og kan føre til falske positive, falske negative og/eller ugyldige resultater.
- Vellykket TB-inaktivering avhenger av at prosedyren som beskrives i dette dokumentet, følges, og at prøven blandes fullstendig med MIS. Preanalytisk behandling av pasientprøver med MIS reduserer risikoen for TB-infeksjon, men vil ikke eliminere risikoen fullstendig.

- Overskridelse av volumgrensene og/eller avvik fra prosedyretrinnene som beskrives i avsnittene “Prosessering av prøver med ubehandlet sputum”, “Prosessering av sputum og BAL-sedimenter” og “Sonikering av prøver” kan føre til falske positive, falske negative og/eller ugyldige resultater.
- Nukleinsyreamplifikasjonsanalyser kan ikke bestemme organismens levedyktighet.
- Denne analysen kan ikke gi svar på om antituberkulosebehandlingen lykkes eller ikke.
- Dette produktet må kun brukes av personell som har fått opplæring i PCR-teknikker og i bruken av **cobas**® 5800/6800/8800 Systems.
- **cobas**® MTB-RIF/INH er kun evaluert for bruk i kombinasjon med **cobas**® MTB-RIF/INH Positive Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent, **cobas omni** Lysis Reagent, **cobas omni** Specimen Diluent og **cobas omni** Wash Reagent for bruk på **cobas**® 5800/6800/8800 Systems, MIS og sonikatoren TS 5 fra Rinco Ultrasonics AG.
- Pålitelige resultater avhenger av riktige prosedyrer for prøvetaking, oppbevaring og håndtering av prøver.
- **cobas**® MTB-RIF/INH er ikke evaluert for pasienter yngre enn 18 år.
- **cobas**® MTB-RIF/INH er ikke indisert for bruk med luftveisprøver som test for en behandling.
- **cobas**® MTB-RIF/INH skiller ikke mellom de ulike artene av MTB-komplekset.
- Deteksjon av rifampicin-resistensassosierte mutasjoner og isoniazid-resistensassosierte mutasjoner avhenger av hvor mange MTB-kompleksorganismer som finnes i prøven, og kan påvirkes av prøvetakingsmetoder og pasientfaktorer (dvs. alder, sykdommens alvorlighetsgrad, HIV-status).
- For pasienter som er smittet med både MTB og HIV, er det økt sannsynlighet for at prøver er negative ved utstryksundersøkelser, og at de derfor kan inneholde MTB-kompleks på nivåer under analysens deteksjonsgrense.
- Helsepersonell må tolke resultatene i sammenheng med pasientens anamnese, kliniske presentasjon samt andre laboratorie- og radiologiresultater.
- Falske negative eller ugyldige resultater kan forekomme som følge av polymerasehemming. Deteksjon av MTB-kompleks-DNA i en prøve er inkludert som en internkontroll i utformingen av **cobas**® MTB-RIF/INH for å sikre at prøvene inneholder tilstrekkelig MTB-kompleks-DNA.
- Tilsetning av AmpErase-enzym i **cobas**® MTB-RIF/INH Master Mix-reagenset muliggjør selektiv amplifikasjon av mål-DNA. Kontaminering av reagensene kan imidlertid bare unngås gjennom gode laboratorierutiner og ved å følge prosedyrene som er spesifisert i denne bruksanvisningen, nøye.
- Selv om det forekommer sjelden, kan det hende resistensassosierte mutasjoner ikke blir detektert hvis det finnes andre nærliggende mutasjoner.
- På grunn av iboende forskjeller mellom teknologier anbefales det at brukerne utfører metodekorrelasjonsstudier i laboratoriet for å bestemme de teknologiske forskjellene før en ny teknologi tas i bruk. 100 prosent samsvar mellom resultatene kan ikke forventes, grunnet de tidligere nevnte forskjellene mellom teknologiene.
- Bruk av andre rør enn de som er anbefalt i Tabell 10, må verifiseres av brukeren før de brukes for **cobas**® MTB-RIF/INH-arbeidsflyten i laboratoriet. Bruk av andre rør kan føre til skade på rør og kontaminering av overflatene på sonikatoren. Det kan også forekomme falske negative resultater grunnet utilstrekkelig sonikering.
- Bruk av andre strekkoder enn de som er anbefalt i Tabell 10, må verifiseres av brukeren før de brukes for **cobas**® MTB-RIF/INH-arbeidsflyten i laboratoriet. Bruk av andre strekkodetyper kan føre til skade på strekkoden.

Evaluering av ytelse

Viktige ytelseskarakteristika utført på cobas® 6800/8800 Systems

Prøveinaktivering

Reduksjon av risikoen for MTB-infeksjon ved å behandle prøver med MIS ble evaluert ved bruk av høyt positive dyrkninger av to MTB-kompleksstammer (MTB CDC268 og MTB H37) på tre forskjellige teststeder med tre ulike MIS-reagenslot. For hver betingelse ble fem dyrkningsalikvoter med konsentrasjonsnivåer opptil 5×10^7 CFU/ml behandlet med MIS i et forhold på 1:2 i 60 minutter ved romtemperatur. Prøvene ble så sentrifugert i 15 minutter ved $3000 \times g$, vasket to ganger med sterilt PBS og til slutt resuspendert i 0,5 ml sterilt PBS. På to teststeder ble hele den inaktiverte prøven inokulert og testet for vekst ved bruk av BACTEC™ MGIT™ 320 Mycobacterial Detection System (Becton Dickinson). På det tredje teststedet ble MTB-levedyktigheten testet på fast Löwenstein-Jensen-medium (LJ-medium). Ingen av de inaktiverte prøvene viste vekst av *M. tuberculosis*-kompleks-bakterien på slutten av den 56-dagers inkubasjonsperioden.

Deteksjonsgrense (LoD)

Deteksjonsgrensen for cobas® MTB-RIF/INH ble bestemt ved å analysere serielle fortynninger av en mutant-MTB-kompleks-stamme som er bærer av den mest prevalente rifampicin-resistensassosierte (*rpoB*-genet) mutasjonen S531L, og den mest prevalente isoniazid-resistensassosierte (*katG*-genet) mutasjonen S315T, i to poolde kliniske matrikser – ubehandlet sputum og sputum-/BAL-sedimenter. Paneler med ti til elleve konsentrasjonsnivåer pluss en blank ble testet i totalt 72 replikater per konsentrasjonsnivå og prøvetype ved bruk av tre lot med cobas® MTB-RIF/INH-analysereagenser over flere kjøring, dager, operatører og instrumenter.

LoD for deteksjon av RIF-resistent *M. tuberculosis* var i området fra 94,0 CFU/ml (sputum-/BAL-sediment) til 182 CFU/ml (ubehandlet sputum).

LoD for deteksjon av INH-resistent *M. tuberculosis* var i området fra 12,6 CFU/ml (sputum-/BAL-sediment) til 27,5 CFU/ml (ubehandlet sputum).

Heteroresistens

Evnen til å detektere mutant-MTB i en kombinert infeksjon med villtype-MTB ble bekreftet ved å analysere ulike mutant-til villtype-forhold. Lave konsentrasjonsnivåer av MDR MTB-kulturisolat ($\sim 3 \times \text{LoD}$) i en bakgrunn av opptil 60 % villtype-MTB detekteres av cobas® MTB-RIF/INH i ubehandlet sputum-, sputum- og BAL-sedimentprøver.

Inklusivitet for resistensassosierte mutasjoner

Inklusiviteten for mutasjoner i *rpoB*-genet assosiert med rifampicinresistens, og i *katG*-gen- og *inhA*-genaktivatorregionen assosiert med isoniazidresistens i MTB-kompleks-organismer ble verifisert ved å analysere kulturer av rifampicin- og/eller isoniazidresistente MTB-kompleks-stammer som er bærere av de følgende 23 mutasjonene:

- *rpoB*-genmutasjoner assosiert med fenotypisk rifampicinresistens:
 - L511P
 - Q513K, Q513L, Q513P
 - D516V, D516Y
 - S522L, S522Q
 - H526D, H526L, H526N, H526R, H526Y
 - S531L, S531W
 - L533P
- *katG*-genmutasjoner og mutasjoner i *inhA*-genaktivatorregionen assosiert med fenotypisk isoniazidresistens:
 - *katG*-genet:
 - S315I, S315N, S315T, S315T2
 - *inhA*-genaktivatorregionen:
 - T-8A, T-8C
 - C-15T

Alle mutasjoner ble detektert med 545 CFU/ml i ubehandlet sputum og med 282 CFU/ml i sputum- og BAL-sediment-prøver.

Inklusiviteten for ytterligere to *rpoB*-genmutasjoner assosiert med rifampicinresistens – S522W og D516G – ble verifisert ved å analysere plasmider. Begge ble detektert med 77 kopier/ml.

Spesifisitet for villtype-MTB-kompleks

Den analytiske spesifisiteten for villtype-MTB-kompleks ble verifisert ved å analysere 13 MTB-stammer ved høye konsentrasjonsnivåer (~1,00E+04 CFU/ml) i ubehandlet sputum, sputum og BAL-sediment, og for de følgende MTB-kompleks-stammene ved lave konsentrasjonsnivåer (~3 × LoD) i sediment:

- *M. tuberculosis* (H37 ATCC® 25177™)
- *M. bovis* BCG (understamme Tokyo 172 NIBSC 07/272 WHO og understamme Moscow NIBSC 07/274 WHO)
- *M. africanum* (ATCC® 25420™)
- *M. bovis* subsp. *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™)

Alle villtype-stammene genererte gyldige negative resultater for RIF og INH.

Presisjon

Den interne presisjonen ble undersøkt ved å bruke et panel som besto av en dyrket mutant-MTB-kompleks-stamme som er bærer av den mest prevalente rifampicin-resistensassosierte (*rpoB*-genet) mutasjonen S531L, og den mest prevalente isoniazid-resistensassosierte (*katG*-genet) mutasjonen S315T, fortynnet i to poolede negative kliniske matrikser – ubehandlet sputum og sputum-/BAL-sedimenter. Kilder til variabilitet ble undersøkt med paneler som besto av tre konsentrasjonsnivåer (inkludert blank), ved bruk av tre lot med cobas® MTB-RIF/INH-reagenser og to instrumenter over en tidsperiode på 12 dager og med til sammen 24 kjøring. En beskrivelse av presisjonspanelene og observerte positivitetsrater vises i Tabell 16. Alle negative panelprøver testet negativt i studien. Analyse av standardavvik og prosentvis variasjonskoeffisient for Ct-verdiene fra analyser utført på positive panelprøver (se Tabell 17) gav samlet CV (%) i området fra 1,8 % til 2,7 % for deteksjon av INH-resistensassosierte mutasjoner og fra 1,5 % til 2,1 % for deteksjon av RIF-resistensassosierte mutasjoner.

Tabell 16 Sammendrag av presisjon innen laboratoriet

Målkonsentrasjon	N testet	N positiv	Positivitetsrate	95 % konfidensintervall	
				Nedre grense	Øvre grense
M. tuberculosis – ubehandlet sputum for RIF-mål					
Negativ	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
182 CFU/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %
545 CFU/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %
M. tuberculosis – sediment for RIF-mål					
Negativ	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
94,0 CFU/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %
282 CFU/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %
M. tuberculosis – ubehandlet sputum for INH-mål					
Negativ	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
27,5 CFU/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %
82,5 CFU/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %
M. tuberculosis – sediment for INH-mål					
Negativ	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
12,6 CFU/ml	48	47	97,9 %	88,9 %	99,9 %
37,8 CFU/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %

Tabell 17 Samlede middelerverdier, standardavvik og variasjonskoeffisienter (%) for syklusterskel, MTBC-positive paneler

Mål- konsentrasjon	Posi- tivitets- rate	Gjennom- snitt Ct	Innen serie		Mellom serier		Mellom dager		Mellom instrumenter		Mellom lot		Totalt	
			SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
M. tuberculosis – ubehandlet sputum for RIF-mål														
182 CFU/ml	100 %	37,3	0,48	1,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,34	0,9	0,00	0,0	0,59	1,6
545 CFU/ml	100 %	35,6	0,40	1,1	0,00	0,0	0,29	0,8	0,00	0,0	0,24	0,7	0,55	1,5
M. tuberculosis – sediment for RIF-mål														
94,0 CFU/ml	100 %	39,3	0,36	0,9	0,14	0,3	0,45	1,1	0,00	0,0	0,42	1,1	0,72	1,8
282 CFU/ml	100 %	38,0	0,40	1,0	0,12	0,3	0,54	1,4	0,41	1,1	0,00	0,0	0,80	2,1
M. tuberculosis – ubehandlet sputum for INH-mål														
27,5 CFU/ml	100 %	37,5	0,74	2,0	0,00	0,0	0,31	0,8	0,17	0,5	0,00	0,0	0,82	2,2
82,5 CFU/ml	100 %	35,9	0,52	1,5	0,00	0,0	0,43	1,2	0,31	0,9	0,00	0,0	0,74	2,1
M. tuberculosis – sediment for INH-mål														
12,6 CFU/ml	97,9 %	39,4	0,75	1,9	0,66	1,7	0,00	0,0	0,34	0,9	0,00	0,0	1,06	2,7
37,8 CFU/ml	100 %	37,5	0,56	1,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,31	0,8	0,15	0,4	0,66	1,8

Analytisk spesifisitet / kryssreaktivitet

Et panel med 145 bakterier, sopp og virus, inkludert slike som er vanlig forekommende i luftveiene, ble testet med **cobas**® MTB-RIF/INH for å vurdere analytisk spesifisitet og evnen til å detektere lave konsentrasjoner av mutant- og villtype-MTB ved nærvær av andre organismer. Organismene som er oppført i Tabell 18, ble spiket i konsentrasjoner på ca. 1×10^6 enheter/ml for bakterier og ca. 1×10^5 enheter/ml for virus. Testingen ble utført med hver potensielt interfererende organisme ved fravær og tilstedeværelse av mutant-MTB-kompleks-målet (spiket med 282 CFU/ml) og villtype-MTB-kompleks-målet (spiket med 200 CFU/ml). Ingen av organismene interfererte med analysens ytelse ved å generere falske positive resultater. Deteksjon av lave konsentrasjoner av mutant-MTB-kompleks-målet ble ikke påvirket av de testede organismene, med unntak av *M. asiaticum*, *M. fuerth*, *M. intermedium*, *M. marseillense*, *M. peregrinum* og *M. szulgai* ved konsentrasjonsnivåer $> 1 \times 10^5$ CFU/ml, og *M. chubuense* ved konsentrasjonsnivåer $> 1 \times 10^4$ CFU/ml. Deteksjon av lave konsentrasjoner av villtype-MTB-kompleks-målet ble ikke påvirket av de testede organismene, med unntak av *M. avium* subsp. *hominissuis*, *M. avium* subsp. *silvaticum*, *M. colombiense*, *M. gastri*, *M. lentiflavum* og *M. marinum* ved konsentrasjonsnivåer $> 1 \times 10^5$ CFU/ml, og *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, *M. bouchardurhonense* og *M. vulneris* ved konsentrasjonsnivåer $> 1 \times 10^4$ CFU/ml. Potensiell kryssreaktivitet for *Histoplasma capsulatum*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium mantenii* og *Mycobacterium timonense* ble evaluert *in silico*. Resultatene av *in silico*-analysene predikerer svært liten sannsynlighet for amplifikasjon og deteksjon av disse organismene ved bruk av **cobas**® MTB-RIF/INH.

Tabell 18 Mikroorganismer som ble testet for analytisk spesifisitet / kryssreaktivitet

Mikroorganisme	Konsentrasjon	Mikroorganisme	Konsentrasjon
<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>	8,5E+05 CFU/ml	<i>Mycobacterium holsaticum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Adenovirus</i>	1,0E+05 kopier/ml	<i>Mycobacterium indicus pranii</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium intermedium</i>	1,0E+05 CFU/ml*

Mikroorganisme	Konsentrasjon	Mikroorganisme	Konsentrasjon
<i>Bacillus cereus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium kansasii</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Bactericides fragilis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium kumamontense</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	1,0E+06 geq/ml	<i>Mycobacterium lentiflavum</i>	1,0E+05 CFU/ml*
<i>Burkholderia cepacia</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium malmoeense</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium marinum</i>	1,0E+05 CFU/ml*
<i>Candida glabrata</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium marseillense</i>	1,0E+05 CFU/ml*
<i>Candida krusei</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium mucogenicum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Candida parapsilosis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium neoaurum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Candida tropicalis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium nonchromogenicum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	1,0E+06 IFU/ml	<i>Mycobacterium peregrinum</i>	1,0E+05 CFU/ml*
<i>Citrobacter freundii</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium simiae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium szulgai</i>	1,0E+05 CFU/ml*
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium terrae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Eikenella corrodens</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium triviale</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium vaccae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i> subsp. <i>cloacae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium vulneris</i>	1,0E+04 CFU/ml*
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium xenopi</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Enterococcus faecium</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium yongonense</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,0E+06 ccu/ml
<i>Escherichia coli</i> produserende CTX-M-15 ESBL	1,0E+06 CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i> subsp. <i>nucleatum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Neisseria lactamica</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Neisseria mucosa</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Neisseria sicca</i>	1,0E+06 CFU/ml
Humant immunsviktivirus	1,0E+05 kopier/ml	<i>Nocardia brasiliensis</i>	1,0E+06 geq/ml
Humant influensavirus A	1,0E+05 U/ml	<i>Nocardia farcinica</i>	1,0E+06 CFU/ml
Humant influensavirus B	1,0E+05 U/ml	<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	1,0E+06 CFU/ml
Humant metapneumovirus	1,0E+05 U/ml	<i>Pediococcus acidilactici</i>	1,0E+06 geq/ml
Humant parainfluenzavirus type 1	1,0E+05 U/ml	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	1,0E+06 CFU/ml
Humant parainfluenzavirus type 2	1,0E+05 U/ml	<i>Penicillium</i> spp.	1,0E+06 CFU/ml
Humant parainfluenzavirus type 3	1,0E+05 U/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1,0E+06 CFU/ml
Humant parainfluenzavirus type 4	1,0E+05 U/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1,0E+06 CFU/ml
Humant respiratorisk syncytialt virus type A	1,0E+05 U/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1,0E+06 CFU/ml
Humant respiratorisk syncytialt virus type B	1,0E+05 U/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1,0E+06 CFU/ml
Humant rhinovirus	1,0E+05 U/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Kingella kingae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Rhizopus</i> spp.	1,0E+06 CFU/ml
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Rhodococcus equi</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i> produserende KPC-3 carbapenemase	1,0E+06 CFU/ml	<i>Rubellavirus</i>	1,0E+05 U/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Rubeolavirus</i>	1,0E+05 U/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Rubulavirus</i>	1,0E+05 U/ml
<i>Lactobacillus casei</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Scedosporium</i> spp.	1,0E+06 CFU/ml
<i>Legionella micdadei</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Serratia marcescens</i> subsp. <i>marcescens</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Legionella pneumophila</i> subsp. <i>pneumophila</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	1,0E+06 CFU/ml

Mikroorganisme	Konsentrasjon	Mikroorganisme	Konsentrasjon
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium abscessus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium arosiense</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium asiaticum</i>	1,0E+05 CFU/ml*	<i>Streptococcus constellatus</i> subsp. <i>constellatus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>avium</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>equi</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>hominissuis</i>	1,0E+05 CFU/ml*	<i>Streptococcus mitis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>silvaticum</i>	1,0E+05 CFU/ml*	<i>Streptococcus mutans</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i>	1,0E+04 CFU/ml*	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium bouchardurhonense</i>	1,0E+04 CFU/ml*	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium celatum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium chelonae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium chimaera</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium chubuense</i>	1,0E+04 CFU/ml*	<i>Streptococcus uberis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium colombiense</i>	1,0E+05 CFU/ml*	<i>Streptomyces anulatus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium confluentis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Tsukamurella</i> spp.	1,0E+06 geq/ml
<i>Mycobacterium flavescens</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Varicella-Zoster-virus</i>	1,0E+05 kopier/ml
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Veillonella atypica</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium fuerth</i>	1,0E+05 CFU/ml*	<i>Veillonella parvula</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium gastri</i>	1,0E+05 CFU/ml*	-	-

* Nivå der det ikke ble observert noen interferens med *M. tuberculosis*-deteksjon, også testet ved 1,0E+06 CFU/ml, som viste interferens.

Interferens

Effekten av eksogene substanser som kan utskilles i luftveisprøver, ble evaluert (Tabell 19). Hver potensielt interfererende substans ble testet ved eller over klinisk relevante nivåer i konstruerte sputumprøver ved fravær og tilstedeværelse av mutant-MTB-kompleks-målet (spiket ved 545 CFU/ml) og villtype-MTB-kompleks-målet (spiket ved 200 CFU/ml).

Ingen av de testede substansene interfererte med analysens ytelse ved å generere falske negative eller falske positive resultater. Ingen av substansene interfererte med analysens ytelse ved å generere ugyldige/ikke-rapportbare resultater, med unntak av Butterbur ved konsentrasjonsnivåer > 25 mg/ml.

Tabell 19 Liste over eksogene substanser testet for interferens

Substans	Konsentrasjon	Substans	Konsentrasjon
Albuterolsulfat	0,5 µg/ml	Kanamycinmonosulfat	240 µg/ml
Amikacin	80,1 µg/ml	Levofloksacin	5 mg/ml
Amoksisillin	86,4 µg/ml	Lidokain HCl	1,2 % (vekt/volum)
Beklometason	3459 µg/ml	Mentol	0,50 % (vekt/volum)
Bensokain	1,2 % (vekt/volum)	Metylsalicylat	0,06 % (volum/volum)
Budesonid	3 mg/ml	Mometason	100 µg/ml
Pestrotekstrakt	25 mg/ml*	Moksifloksacin	15 µg/ml
Capreomycin	80 µg/ml	Mupirocin	0,05 % (vekt/volum)
Cetylpyridiniumklorid	0,5 % (vekt/volum)	NaCl	5 % (vekt/volum)
Klorheksidinglukonat	1 % (volum/volum)	Nikotin	1 µg/ml

Cikloserin (cykloserin)	105 µg/ml	Nystatin	1 % (volum/volum)
Klaritromycin	20 µg/ml	Oksymetazolin	12 ng/ml
Deksametason	601 ng/ml	Pentamidin	1366 ng/ml
Efedrinhydroklorid	1 mg/ml	Fenylefrin	5 mg/ml
Epinefrin	100 pg/ml	Prednisolon	3 µg/ml
Etambutol	50 µg/ml	Pyrazinamid	240 µg/ml
Etionamid	15 µg/ml	Rifampicin	25 µg/ml
Eucalyptol	0,002 % (volum/volum)	Brennesleekstrakt (500 mg)	5 mg/ml
Flunisolid	400 µg/ml	Streptomycin	240 µg/ml
Flutikasonpropionat	5 µg/ml	Svovel	0,01 % (vekt/volum)
Formoterolfumaratdihydrat	66 µg/ml	Tetreolje	0,50 % (volum/volum)
Hydrasinurt (kapsler 570 mg)	5,7 mg/ml	Teofyllin	20 µg/ml
Guaifenesin	2,5 mg/ml	Tobramycin	24,1 µg/ml
Isoniazid	50 µg/ml	Zanamivir	0,1 mg/ml

* Høyeste nivå der det ikke ble observert noen interferens

Endogene substanser som kan forekomme i luftveisprøver, ble testet for interferens (Tabell 20). Hver potensielt interfererende substans ble testet ved eller over klinisk relevante nivåer i konstruerte sputumprøver ved fravær og tilstedeværelse av mutant-MTB-kompleks-målet (spiket ved opptil 545 CFU/ml) og villtype-MTB-kompleks-målet (spiket ved 200 CFU/ml).

Ingen av de testede substansene interfererte med analysens ytelse ved å generere falske negative, falske positive eller ugyldige/ikke-rapporterbare resultater.

Tabell 20 Liste over endogene substanser testet for interferens

Substans	Konsentrasjon	Substans	Konsentrasjon
Magesaft	10 % (volum/volum)	Slim	5 % (vekt/volum)
Hemoglobin	2 g/l	Puss	5 % (volum/volum)
Humant fullblod	5 % (volum/volum)	Spytt	10 % (volum/volum)
hDNA	4 mg/l	-	-

Systemfeil

Prøvene som ble testet i systemfeilstudien, var konstruerte sputumprøver og sputumsedimentprøver spiket med en mutant-MTB-kompleks-stamme som er bærer av den mest prevalente rifampicin-resistensassosierte (*rpoB*-genet) mutasjonen S531L, og den mest prevalente isoniazid-resistensassosierte (*katG*-genet) mutasjonen S315T, til en konsentrasjon på ca. $3 \times \text{LoD}$ av cobas® MTB-RIF/INH i den respektive matriksen. Alle de 100 testede replikatene per prøvetype var gyldige og positive for MTB-komplekset, noe som gav en systemfeilfrekvens på 0,0 % med et øvre ensidig 95 % konfidensintervall på 3,0 %.

Krysskontaminering

Krysskontamineringsraten fra prøve til prøve ble bestemt til 0,0 % (0/240) da vekselvis svært høyt positive villtype-MTB-prøver og negative prøver ble testet i flere kjøringer med **cobas**® MTB. Testingen ble utført med konstruerte sputum-sedimentprøver spiket med MTB-kompleks-målet ved 2×10^6 CFU/ml, en prøvekonsentrasjon som genererte Ct-verdier tidligere enn i 95 % av prøvene fra smittede pasienter i den tiltenkte populasjonen.

Ytelse ved bruk av kliniske prøver

Ytelsen til **cobas**® MTB-RIF/INH ved bruk av kliniske prøver ble evaluert ved å teste prospektive og lagrede prøver (ubehandlet sputum og sputumprøver behandlet med NaOH-NALC) fra forsøkspersoner med antatt TB tatt i Peru, Ukraina, Russland, Sør-Afrika og Uganda. Det ble utført side ved side-sammenligningstesting med Abbott RealTime MTB RIF/INH Resistance-analysen.

Resultatene vises i Tabell 21 og Tabell 22.

Tabell 21 Sensitivitet og spesifisitet for **cobas®** MTB-RIF/INH ved bruk av kliniske prøver – RIF-resistens

		Roche cobas® MTB-RIF/INH	Abbott RealTime MTB RIF/INH Resistance
Sensitivitet	Ubehandlet sputum	116/120 96,7 % [91,7–99,1 %]	115/120 95,8 % [90,5–98,6 %]
Sensitivitet	Sediment	23/23 100 % [85,2–100 %]	23/23 100 % [85,2–100 %]
Sensitivitet	Kombinert	139/143 97,2 % [93,0–99,2 %]	138/143 96,5 % [92,0–98,9 %]
Spesifisitet	Ubehandlet sputum	331/338 97,9 % [95,8–99,2 %]	329/338 97,3 % [95,0–98,8 %]
Spesifisitet	Sediment	219/220 99,5 % [97,5–100 %]	219/220 99,5 % [97,5–100 %]
Spesifisitet	Kombinert	550/558 98,6 % [97,2–99,4 %]	548/558 98,2 % [96,7–99,1 %]
Positiv prediktiv verdi	Ubehandlet sputum	116/123 94,3 % [88,6–97,7 %]	115/124 92,7 % [86,7–96,6 %]
Positiv prediktiv verdi	Sediment	23/24 95,8 % [78,8–99,9 %]	23/24 95,8 % [78,8–99,9 %]
Positiv prediktiv verdi	Kombinert	139/147 94,5 % [89,5–97,6 %]	138/148 93,2 % [87,9–96,7 %]
Negativ prediktiv verdi	Ubehandlet sputum	331/335 98,8 % [97,0–99,7 %]	329/334 98,5 % [96,6–99,5 %]
Negativ prediktiv verdi	Sediment	219/219 100 % [98,3–100 %]	219/219 100 % [98,3–100 %]
Negativ prediktiv verdi	Kombinert	550/554 99,3 % [98,3–99,8 %]	548/553 99,1 % [97,9–99,7 %]

Tabell 22 Sensitivitet og spesifisitet for **cobas®** MTB-RIF/INH ved bruk av kliniske prøver – INH-resistens

		Roche cobas® MTB-RIF/INH	Abbott RealTime MTB RIF/INH Resistance
Sensitivitet	Ubehandlet sputum	150/154 97,4 % [93,5–99,3 %]	147/154 95,5 % [90,9–98,2 %]
Sensitivitet	Sediment	35/37 94,6 % [81,8–99,3 %]	32/37 86,5 % [71,2–95,5 %]
Sensitivitet	Kombinert	185/191 96,9 % [93,3–98,8 %]	179/191 93,7 % [89,3–96,7 %]
Spesifisitet	Ubehandlet sputum	297/299 99,3 % [97,6–99,9 %]	297/299 99,3 % [97,6–99,9 %]
Spesifisitet	Sediment	206/207 99,5 % [97,3–100 %]	206/207 99,5 % [97,3–100 %]
Spesifisitet	Kombinert	503/506 99,4 % [98,3–99,9 %]	503/506 99,4 % [98,3–99,9 %]
Positiv prediktiv verdi	Ubehandlet sputum	150/152 98,7 % [95,3–99,8 %]	147/149 98,7 % [95,2–99,8 %]
Positiv prediktiv verdi	Sediment	35/36 97,2 % [85,5–99,9 %]	32/33 97,0 % [84,2–99,9 %]
Positiv prediktiv verdi	Kombinert	185/188 98,4 % [95,4–99,7 %]	179/182 98,4 % [95,3–99,7 %]
Negativ prediktiv verdi	Ubehandlet sputum	297/301 98,7 % [96,6–99,7 %]	297/304 97,7 % [95,3–99,1 %]
Negativ prediktiv verdi	Sediment	206/208 99,0 % [96,6–100 %]	206/211 97,6 % [94,6–99,2 %]
Negativ prediktiv verdi	Kombinert	503/509 98,8 % [97,5–99,6 %]	503/515 97,7 % [96,0–98,9 %]

Systemekvivalens/systemsammenligning

Systemekvivalens for **cobas®** 5800, **cobas®** 6800 og **cobas®** 8800 Systems ble vist via ytelsesstudier. Resultatene presentert i bruksanvisningen støtter ekvivalent ytelse for alle systemer.

Tilleggsinformasjon

Viktige analysefunksjoner

Prøvetyper

- Ubehandlet sputum
- NALC-NaOH-behandlede sputum- og BAL-sedimenter

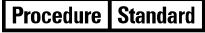
Mengde prosessert prøve

- $\geq 0,4$ ml av pasientprøve behandlet med MIS i et forhold på 1:2 (totalt volum $\geq 1,2$ ml) påkrevd i prøverør for ubehandlet sputum, instrumentet prosesserer 0,85 ml
- $\geq 0,2$ ml av pasientprøve behandlet med MIS i et forhold på 1:5 (totalt volum $\geq 1,2$ ml) påkrevd i prøverør for sputum-/BAL-sediment, instrumentet prosesserer 0,85 ml

Symboler

Følgende symboler brukes ved merking for Roche PCR-diagnostiske produkter.

Tabell 23 Symboler brukt ved merking av Roche PCR-diagnostiske produkter

 Age/DOB	Alder eller fødselsdato	 Utstyr ikke for pasientnær testing	 Utstyr ikke for selvtesting	 QS IU/PCR	QS IU per PCR-reaksjon, bruk QS internasjonale enheter (IU) per PCR-reaksjon ved beregning av resultatene.
 SW	Tilleggsprogramvare	 Distributør (Merk: Gjeldende land/region kan være angitt under symbolet.)	 Skal ikke brukes om igjen	 SN	Serienummer
 Assigned Range [copies/mL]	Angitt område (kopier/ml)	 Kvinne	 Kun for evaluering av IVD-ytelse	 Site	Sted
 Assigned Range [IU/mL]	Angitt område (IU/ml)	 Mann	 GTIN	 Procedure Standard	Standardprosedyre
 EC REP	Autorisert representant i EU	 Importør	 IVD	 STERILE EO	Sterilisert med etylenoksid
 BARCODE	Strekкодedataark	 In vitro -diagnostisk medisinsk utstyr	 LLR	 Oppbevares på et mørkt sted	
 LOT	Lotnummer	 Mann	 Produsent	 Temperaturbegrensning	
 Biologisk risiko		 CONTROL -	 Ikke-steril	 TDF	Testdefinisjonsfil
 REF	Katalognummer	 Pasientnavn	 Pasientnummer	 Denne siden opp	
 CE-samsvarsmerking; dette utstyret er i samsvar med gjeldende krav til CE-merking av <i>in vitro</i> -diagnostisk medisinsk utstyr		 Riv av her	 CONTROL +	 Procedure UltraSensitive	UltraSensitive-prosedyre
 Collect Date	Prøvetakingsdato	 QS copies / PCR		 UDI	Unik utstyrs-ID
 Vennligst se brukerhjelpen				 ULR	Øvre grense for akseptområdet
 Inneholder tilstrekkelig til <n> tester				 Urine Fill Line	Fyllestrek for urin
 CONTENT	Innhold i kitet			 Rx Only	Kun USA: Føderal lov begrenser salg eller bestilling av dette utstyret til leger.
 CONTROL	Kontroll			 Utløpsdato	
 Produksjonsdato					
 Utstyr for pasientnær testing					
 Utstyr for selvtesting					

Teknisk support

For teknisk support/assistanse, kontakt din lokale Roche-representant:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Produsent

Tabell 24 Produsent

Produsert i USA



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

Laget i USA

Varemerker og patenter

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

Copyright

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Referanser

1. World Health Organization. *World Health Organization Global Tuberculosis Report 2021*. WHO: Geneva, Switzerland; 2021.
2. Sithidhet Tharinjaroen C, Intorasoot S, Anukool U, et al. Novel targeting of the *lepB* gene using PCR with confronting two-pair primers for simultaneous detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and *Mycobacterium bovis*. *J Med Microbiol*. 2016;65:36-43.
3. Alexander KA, Laver PN, Michel AL, et al. Novel *Mycobacterium tuberculosis* complex pathogen, *M. mungi*. *Emerg Infect Dis*. 2010;16:1296-9.
4. 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.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *MMWR Recomm Rep*. 2000;49:1-51.
6. 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;60:1650-3.
7. Orenstein EW, Basu S, Shah NS, et al. Treatment outcomes among patients with multidrug-resistant tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2009;9:153-61.
8. Pai M, Schito M. Tuberculosis diagnostics in 2015: landscape, priorities, needs, and prospects. *J Infect Dis*. 2015;211 Suppl 2:S21-8.
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 (N Y)*. 1992;10:413-7.
11. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
12. 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.
13. 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.
14. World Health Organization. *Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual*. WHO: Geneva, Switzerland; 2012.
15. Kent PT, Kubica GP. *Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory*. Centers for Disease Control: Atlanta, GA; 1985.

Dokumentrevisjon

Informasjon om dokumentrevisjon	
Doc Rev. 1.0 10/2022	Første utgivelse.

Sammendraget av sikkerhets- og ytelsesrapporten finner du på følgende lenke: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>