

cobas[®] MTB-RIF/INH

Nukleinsyratest för användning på systemen cobas[®] 5800/6800/8800

För *in vitro*-diagnostisk användning

cobas[®] MTB-RIF/INH

P/N: 09040617190

För användning på systemet cobas[®] 5800

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

P/N: 09040625190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

För användning på systemen cobas[®] 6800/8800

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

Innehållsförteckning

Användningsområde	4
Sammanfattning och förklaring av testet	4
Reagens och material	7
cobas® MTB-RIF/INH-reagens och -kontroller.....	7
cobas® omni-reagens för provberedning.....	9
Förvaring av reagens.....	10
Reagenshantering för systemet cobas® 5800 eller systemen cobas® 6800/8800	10
Extramaterial som behövs för systemen cobas® 5800/6800/8800	11
Instrument och programvara som behövs.....	13
Försiktighetsåtgärder och information om hantering.....	13
Varningar och säkerhetsåtgärder	13
Reagenshantering.....	14
God laboratoriesed.....	14
Provtagning, transport och förvaring av prover	15
Prov	15
Transport och förvaring av prover.....	15
Förvaring av inaktiverade prover.....	15
Bruksanvisning	16
Anmärkningar om testet	16
Bearbetning av prover med obehandlad sputum.....	18
Bearbetning av sputum- och BAL-sediment	19
Sonikering av prover.....	20
Köra cobas® MTB-RIF/INH på systemen cobas® 5800/6800/8800.....	21
Resultat	24
Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på systemet cobas® 5800 och systemen cobas® 6800/8800 med programversion 2.0 eller högre.....	24
Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på systemen cobas® 6800/8800 med programversion 1.4.....	24
Tolkning av resultat för systemen cobas® 5800/6800/8800	25

Tolkning av resultat för systemet cobas ® 5800 och systemen cobas ® 6800/8800 med programversion 2.0 eller högre	26
Tolkning av resultat på systemen cobas ® 6800/8800 med programversion 1.4.....	27
Testets begränsningar	28
Utvärdering av prestanda.....	30
Systemekvivalens.....	30
Viktiga prestandaegenskaper.....	30
Provinaktivering	30
Detektionsgräns (LoD)	30
Heteroresistens.....	30
Inklusivitet för mutationer som är associerade med resistens.....	31
Specificitet för vildtyp-MTB-komplexet.....	31
Precision.....	32
Analytisk specificitet/korsreaktivitet.....	33
Interferens.....	35
Felfrekvens inom hela systemet	37
Korskontamination	37
Prestanda med kliniska prover.....	37
Ytterligare information.....	40
Viktiga analyssegenskaper	40
Symboler.....	41
Teknisk support.....	42
Tillverkare	42
Varumärken och patent.....	42
Copyright.....	42
Referenser.....	43
Revidering av dokumentet.....	44

Användningsområde

cobas® MTB-RIF/INH för användning på systemen **cobas®** 5800/6800/8800 är ett automatiskt, kvalitativt *in vitro*-diagnostiskt test som använder PCR (*Polymerase Chain Reaction*) i realtid för direkt detektion av mutationer som är associerade med rifampicinresistens i *rpoB*-genen och mutationer som är associerade med isoniazidresistens i *katG*- och *inhA*-generna av *Mycobacterium tuberculosis* från humana luftvägsprover. Testet är avsett för användning med prover med obehandlad sputum samt med nedbrutna och dekontaminerade (N-acetyl-L-cystein/NaOH-behandlade) sputum- och bronkoalveolärt lavage-prover (BAL) som har testats positiva för *Mycobacterium tuberculosis*-komplexet (MTBC) med **cobas®** MTB. Testet är avsett att användas i kombination med odlingsbaserad testning av känslighet mot läkemedel, och som ett reflextest tillsammans med **cobas®** MTB, som ett hjälpmedel vid diagnos av infektion med multiresistent *M. tuberculosis* (MDR-TB).

Sammanfattning och förklaring av testet

Bakgrund

Tuberkulos är en bakterieinfektion orsakad av MTBC och är ett stort globalt hälsoproblem och en ledande orsak till dödsfall genom infektionssjukdom världen över.¹ Världshälsoorganisationen (WHO) bedömer att cirka en fjärdedel av jordens befolkning är infekterade med MTB, med uppskattningsvis 10,6 miljoner nya TB-infektioner och 1,3 miljoner dödsfall 2022.¹ Av dessa 1,3 miljoner dödsfall bedömdes 167 000 ha förekommit hos personer som lever med HIV (PLHIV).¹

M. tuberculosis-komplexet består av en grupp närbesläktade arter inom släktet *Mycobacterium* som orsakar sjukdom hos människor och djur och som inkluderar *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*, klipphyrax-baciller och schimpans-baciller. Samtliga arter i MTB-komplexet kan leda till tuberkulosinfektion, men *M. tuberculosis* är den vanligaste orsaken. Lungsjukdom är den vanligaste sjukdomen orsakad av MTB-komplexet. Sjukdom utanför lungorna kan förekomma, men är generellt mer förekommande hos barn. *M. bovis* är orsaken till tuberkulos hos upp till 2,8 % av patienterna i olika geografiska områden.² Andra arter än *M. bovis* och *M. tuberculosis* i MTB-komplexet orsakar i lägre grad sjukdom hos människor. *M. africanum* har associerats med tuberkulos i västafrikanska länder, *M. canetti* på Afrikas horn och *M. orygis* orsakar tuberkulos hos människor och djur från Afrika och Sydasien. *M. caprae* betraktas som en underart till *M. bovis*. *M. microti* orsakar primärt sjukdom hos gnagare, *M. pinnipedii* associeras med sjukdom hos sälar och *M. suricattae* orsakar tuberkulos hos surikater i Sydafrika. *M. mungi* har identifierats som en orsak till tuberkulos-sjukdom hos sebramanguster.³

Tuberkulos sprids från människa till människa via droppar från luftvägarna. De flesta som är infekterade med *M. tuberculosis* är asymptomatiska och kan bära på sjukdomen efter primär infektion. Detta kallas för latent tuberkulos-infektion. Latenta infektioner kan finnas kvar under årtionden och i de flesta fall resulterar de aldrig i klinisk sjukdom. Hos vissa personer tar sig organismerna förbi immunförsvaret, vilket resulterar i progress från latent tuberkulos till aktiv tuberkulos. Detta sker antingen inom de första två åren med infektion eller efter långa perioder av latens. Generellt föreligger en risk på 5–10 % för patienter med latent infektion att utveckla aktiv TB-sjukdom, men risken varierar på grund av en rad faktorer och kan öka avsevärt genom dämpning av immunförsvaret såsom behandling med biologiska läkemedel⁴ (dvs. TNF-hämmare) och HIV-infektion.^{5,6} Personer med aktiv lungtuberkulos kan producera droppar vid

hosta, samtal eller under medicinska procedurer. Personer med aktiv lungsjukdom betraktas som mycket smittsamma och således är en diagnos av högsta vikt.

Diagnos av aktiv TB baseras på kliniska fynd/misstanke samt laboratorie- och radiografiska studier. Patienter kan ombedas att tillhandahålla luftvägsprover för syrafast bakterieutstryk och mykobakteriell odling samt direkta nukleinsyra-amplifieringstester. Det är av högsta vikt att mykobakteriell odling utförs i kombination med nukleinsyrastester för att hjälpa till att minska risken för falskt negativa resultat och för att möjliggöra testning av känslighet mot läkemedel för de patienter som är positiva.

En läkemedelsresistent TB-stam definieras som resistent mot minst ett läkemedel som används för att behandla tuberkulos. Definitionen av multiresistent TB (MDR-TB) är resistens mot åtminstone isoniazid och rifampicin, de två mest effektiva läkemedlen mot tuberkulos, och förekomst av en extremt resistent TB-stam (XDR-TB) med ytterligare resistens mot rifampicin och alla typer av fluorokinoloner samt ett andra linjens injicerbart läkemedel (t.ex. amikacin) eller åtminstone ett av läkemedlen bedakilin och linezolid.

Frekvensen av MDR-TB varierar beroende på region. MDR-TB-incidensen är högre hos patienter som har behandlats tidigare. Behandling av tuberkulos involverar långvarig administrering av flera olika läkemedel och är vanligtvis effektivt. Behandling av MTB-stammar som är resistent mot ett eller flera läkemedel försvårar dock botandet. Behandlingen av MDR-TB och XDR-TB kräver administrering av flera läkemedel med toxisk effekt under en längre tidsperiod än för TB-patienter med läkemedelskänslighet, med en lägre sannolikhet för framgångsrik behandling.⁷

Diagnos av TB kan fastställas baserat på klinisk bild, laboratoriefynd och radiografiska fynd, inklusive syrafast bakterieutstryk, mykobakteriella odlingar och nukleinsyraamplifieringstester. Dessutom kan analyser som mäter antikropp- eller antigenrespons också användas (t.ex. tuberkulintest, IGRA (interferon-gamma (INF γ)-release assay)).⁸ Tuberkulintest och IGRA-resultat kan emellertid vara negativa i aktiv sjukdom och kan inte särskilja latent infektion från aktiv sjukdom. Definitiv diagnos av sjukdomen bekräftas genom återställning av organismen i odling eller genom direkt detektion av MTB-komplex-nukleinsyra i ett kliniskt prov. Testning av känslighet mot läkemedel (DST) krävs för att bekräfta lämplig empirisk behandling, men det tar tid och kan kräva flera veckor för att få resultat, beroende på metod. Alternativt kan genetiska markörer som är associerade med läkemedelsresistens detekteras direkt från kliniska prover eller från odlings-isolat med hjälp av molekylära metoder för snabbare presumtiv diagnos av läkemedelsresistens. Givet smittsamheten hos MTB och resistensen som kan förekomma, så är en snabb och korrekt diagnos en mycket viktig del vid behandling och kontroll av MTB.⁸

Förklaring av testet

cobas® MTB-RIF/INH för användning på systemen **cobas®** 5800/6800/8800 är ett automatiskt, kvalitativt PCR-test som är utformat som ett reflextest tillsammans med **cobas®** MTB för att detektera mutationer i *Mycobacterium tuberculosis*-komplexet av *rpoB*-genen som är associerade med rifampicin-resistens och mutationer i *katG*- och *inhA*-generna som är associerade med isoniazid-resistens. Testet är avsett för användning med prover med obehandlad sputum samt med nedbrutna och dekontaminerade (N-acetyl-L-cystein/NaOH-behandlade) sputum- och bronkoalveolärt lavage-prover (BAL) som har testats positiva för *Mycobacterium tuberculosis*-komplexet (MTBC) med **cobas®** MTB. Detektion av MTB-komplex-DNA av vildtyp fungerar som internkontroll för övervakning av hela provberednings- och PCR-amplifieringsprocessen. Dessutom används en positiv kontroll med låg titer och en negativ kontroll i testet.

Användningsprinciper

cobas® MTB-RIF/INH är baserat på preanalytisk förvätskning och mykobakteriell inaktivering av prover följt av sonikering av prover och helt automatisk provberedning (extraktion och rening av nukleinsyra) samt PCR-amplifiering och detektion. Förvätskning och mykobakteriell inaktivering av prover sker samtidigt under provinkuberingen med **cobas® Microbial Inactivation Solution (MIS)**. Sonikering av det förvätskade och inaktiverade provet utförs innan det laddas i systemen **cobas® 5800/6800/8800**. Systemet **cobas® 5800** är utformat som ett integrerat instrument. Systemen **cobas® 6800/8800** består av en provinmatningsmodul, överföringsmodul, processmodul och analysmodul. Automatisk datahantering utförs av programvaran i systemen **cobas® 5800** eller **cobas® 6800/8800** som tilldelar testresultat för alla tester som positiva, negativa eller ogiltiga. Resultaten kan visas direkt i systemfönstret, exporteras eller skrivas ut som en rapport.

Nukleinsyra från patientprover och externa kontroller extraheras samtidigt. Sammanfattningsvis frisätts bakteriell nukleinsyra genom kemisk (MIS, **cobas® omni** Lysis Reagent), enzymatisk (proteinaser) och fysisk (sonikering) söndring av bakterier. Den frisatta nukleinsyran binder till kiselytan på de tillsatta magnetiska glaspartiklarna. Obundna substanser och föroreningar, till exempel denaturerat protein, cellrester och potentiella PCR-hämmare tas bort med efterföljande tvättsteg, och renad nukleinsyra elueras från de magnetiska glaspartiklarna med hjälp av elueringsbuffert vid förhöjd temperatur.

Selektiv amplifiering och detektion av target-nukleinsyra från provet uppnås genom användning av target-genspecifika forward- och reverse-primers. Arton mutationer som är associerade med rifampicin-resistens (*rpoB*-genen) detekteras med en uppsättning primers och flera mutationsspecifika prober. Sju mutationer som är associerade med isoniazid-resistens (promotorregionen av *katG*-genen och *inhA*-genen) detekteras med två uppsättningar primers och flera mutationsspecifika prober. MTB detekteras med en uppsättning primers och en prob med inriktning på en maximalt konserverad genomisk enkopiesekvens av MTB-komplexet. Ett värmebeständigt DNA-polymerasenzym används för PCR-amplifiering. Target-sekvenserna amplifieras samtidigt med hjälp av en universell PCR-amplifieringsprofil med fördefinierade temperatursteg och antal cykler. I mastermixen ingår deoxiuridintrifosfat (dUTP) istället för deoxitymidintrifosfat (dTTP), som inkorporerats i det nyligen syntetiserade DNA:t (amplikon). Eventuellt kontaminerande amplikon från tidigare PCR-körningar elimineras med hjälp av AmpErase-enzymet (ingår i PCR-mastermixen) under det första termocyklingssteget.⁹ Nybildade amplikon elimineras dock inte eftersom AmpErase-enzymet inaktiveras när det utsätts för temperaturer över 55 °C.

cobas® MTB-RIF/INH mastermix innehåller flera prober som är specifika för mutationer som är associerade med rifampicin-resistens och mutationer som är associerade med isoniazid-resistens och en prob som är specifik för MTB-komplexet. Proberna är märkta med target-specifika fluorescerande reporterfluorokromer som möjliggör samtidig detektion av mutationer som är associerade med rifampicin-resistens, mutationer som är associerade med isoniazid-resistens och MTB-komplex-targeten i fem olika targetkanaler (mutationer som är associerade med rifampicin-resistens detekteras i tre av de fem detektionskanalerna).^{10, 11} Fluorescenssignalen för intakta prober hämmas av en quencher-fluorokrom när den inte är bunden till target-sekvensen. Under PCR-amplifieringssteget hybridiserar proberna specifikt till respektive target på det enkelsträngade DNA:t, vilket resulterar i klyvning av proben genom 5'-till-3'-exonukleas-aktiviteten i DNA-polymeraset, vilket i sin tur orsakar separation av reporter- och quencherfluorokromen och gör att en fluorescenssignal genereras. För varje PCR-cykel genereras ökande mängder klyvda prober, och som en följd av detta ökar den sammanlagda signalen för reporterfluorokromen. Realtidsdetektion och urskiljning av PCR-produkter uppnås genom att mäta fluorescensen i de frisläppta reporterfluorokromerna för mutationer som är associerade med rifampicin-resistens, mutationer som är associerade med isoniazid-resistens respektive MTB-komplex-target.

Reagens och material

cobas® MTB-RIF/INH-reagens och -kontroller

Material som medföljer för cobas® MTB-RIF/INH anges i Tabell 1. Material som behövs men inte medföljer anges i Tabell 2, Tabell 3, Tabell 4, Tabell 10 till Tabell 12.

Alla öppnade reagens och kontroller ska förvaras enligt rekommendationerna i Tabell 1 till Tabell 4.

Tabell 1 cobas® MTB-RIF/INH

cobas® MTB-RIF/INH

Förvaras i 2–8 °C

Kassett med 192 tester (P/N 09040617190)

Kitkomponenter	Reagensingredienser	Kvantitet per kit
Proteinaslösning (PASE)	Trisbuffert, < 0,05 % EDTA, kalciumklorid, kalciumacetat, 8 % proteinas, glycerol EUH210: Säkerhetsdatablad finns att rekvirera. EUH208: Innehåller subtilisin från <i>Bacillus subtilis</i> . Kan orsaka allergisk reaktion.	22,3 ml
Generisk provspädningslösning (GSD)	Trisbuffert, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % icke-MTB-relaterat RNA-konstrukt, 0,002 % Poly rA-RNA (syntetiskt), < 0,1 % natriumazid	21,2 ml
Elueringsbuffert (EB)	Trisbuffert, 0,2 % metyl-4 hydroxibensoat	21,2 ml
Mastermix-reagens 1 (MMX-R1)	Manganacetat, kaliumhydroxid, < 0,1 % natriumazid	7,5 ml
MTB-RIF/INH mastermix-reagens 2 (MTB-RIF/INH MMX-R2)	Tricinbuffert, kaliumacetat, EDTA, glycerol, 18 % dimetylsulfoxid, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,1 % Tween 20, < 0,1 % natriumazid, < 0,1 % Z05 DNA-polymeras, < 0,1 % AmpErase-enzym (uracil-N-glykosylas) (mikrobiellt), < 0,01 % uppströms- och nedströms-primers, < 0,01 % fluorescensmärkta oligonukleotidprober specifika för mutationer som är associerade med rifampicin-resistens, mutationer som är associerade med isoniazid-resistens och MTB-komplexet, < 0,01 % oligonukleotid-aptamer	9,7 ml

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

Förvaras i 2–8 °C

För användning på systemet **cobas®** 5800 och systemen **cobas®** 6800/8800 med programversion 2.0 eller högre (P/N 09040625190)För användning på systemen **cobas®** 6800/8800 med programversion 1.4 (P/N 07833342190 eller P/N 09040625190)

Kitkomponenter	Reagensingredienser	Kvantitet per kit
MTB-RIF/INH Positive Control (MTB-RIF/INH (+) C)	Trisbuffert, < 0,05 % natriumazid, < 0,05 % EDTA, 0,002 % Poly rA, < 0,01 % icke infektiöst plasmid-DNA (mikrobiellt) innehållande genomsekvenser från <i>M. tuberculosis</i> (16S, promotorregionen av muterad <i>rpoB</i> och muterad <i>inhA</i>)	16 ml (16 × 1 ml)

Tabell 3 cobas® Buffer Negative Control Kit

Förvaras i 2–8 °C

För användning på systemet **cobas®** 5800 och systemen **cobas®** 6800/8800 med programversion 2.0 eller högre (P/N 09051953190)För användning på systemen **cobas®** 6800/8800 med programversion 1.4 (P/N 07002238190 eller P/N 09051953190)

Kitkomponenter	Reagensingredienser	Kvantitet per kit
cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)	Trisbuffert, < 0,1 % natriumazid, EDTA, 0,002 % Poly rA-RNA (syntetiskt)	16 ml (16 × 1 ml)

cobas® omni-reagens för provberedning

Tabell 4 cobas® omni-reagens för provberedning

Reagens	Reagensingredienser	Kvantitet per kit	Säkerhetssymbol och varning*
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Förvaras i 2–8 °C (P/N 06997546190)	Magnetiska glaspartiklar, Trisbuffert, 0,1 % metyl-4 hydroxybensoat, < 0,1 % natriumazid	480 tester	Ej tillämpligt
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Förvaras i 2–8 °C (P/N 06997511190)	Trisbuffert, 0,1 % metyl-4 hydroxybensoat, < 0,1 % natriumazid	4 × 875 ml	Ej tillämpligt
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Förvaras i 2–8 °C (P/N 06997538190)	43 % (vikt/vikt) guanidin- tiocyanat**, 5 % (vikt/volym) polydokanol**, 2 % (vikt/volym) ditiotreitol**, natriumdivätecitrat	4 × 875 ml	 FARA H302: Skadligt vid förtäring. H314: Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. H411: Giftigt för vattenlevande organismer med långtidseffekter. EUH032: Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra. EUH071: Frätande på luftvägarna. P273: Undvik utsläpp till miljön. P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd/hörselskydd. P303 + P361 + P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten. P304 + P340 + P310: VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. P305 + P351 + P338 + P310: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. P391: Samla upp spill. 593-84-0 Guanidintiocyanat 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-ditioerytritol
cobas® omni Wash Reagent (WASH) Förvaras i 15–30 °C (P/N 06997503190)	Natriumcitrat-dihydrat, 0,1 % metyl-4 hydroxybensoat	4,2 l	Ej tillämpligt

* Produktsäkerhetsmärkningen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

** Farlig substans.

Förvaring av reagens

Reagens ska förvaras och hanteras enligt specifikationerna i Tabell 5, Tabell 6 och Tabell 7.

När reagensen inte är laddade i systemen **cobas® 5800** eller **cobas® 6800/8800** ska de förvaras i den temperatur som anges i Tabell 5.

Tabell 5 Förvaring av reagens (när reagenset inte är i systemet)

Reagens	Förvaringstemperatur
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

Reagenshantering för systemet **cobas® 5800** eller systemen **cobas® 6800/8800**

Reagens som laddas i systemet **cobas® 5800** eller systemen **cobas® 6800/8800** förvaras i rätt temperatur och deras utgångsdatum övervakas och upprätthålls av systemet. Systemet tillåter endast att reagens används om alla villkor för hantering av reagens som anges i Tabell 6, Tabell 7 och Tabell 8 är uppfyllda. Systemet förhindrar automatiskt användning av reagens som har passerat utgångsdatum. Information om återstående hållbarhet i öppnat kit och antalet kitanvändningar för analys-specifika reagens finns att tillgå via systemets användargränssnitt.

Tabell 6 Villkor för hållbarhet för reagens som övervakas och upprätthålls av systemet **cobas® 5800**

Reagens	Hållbarhet i öppnat kit	Antal kitanvändningar	Hållbarhet i instrumentet
cobas® MTB-RIF/INH	90 dagar från första användning	40	36 dagar från laddning
cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit	behållare för engångsbruk	16	36 dagar från laddning
cobas® Buffer Negative Control Kit	behållare för engångsbruk	16	36 dagar från laddning

Tabell 7 Villkor för hållbarhet för reagens som upprätthålls av systemen **cobas® 6800/8800**

Reagens	Hållbarhet i öppnat kit	Antal kitanvändningar	Hållbarhet i instrumentet (utanför kylskåp i instrumentet)
cobas® MTB-RIF/INH	90 dagar från första användning	40	40 timmar
cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit	behållare för engångsbruk	16	10 timmar
cobas® Buffer Negative Control Kit	behållare för engångsbruk	16	10 timmar

Tabell 8 visar hållbarhet i öppnat kit för **cobas® omni**-reagens. Före varje körning verifierar systemet hållbarhet i öppnat kit och säkerställer tillräcklig fyllnadsvolym. Därför har dessa reagens inte tilldelats något antal kitanvändningar eller någon hållbarhet i instrumentet.

Tabell 8 Villkor för hållbarhet för **cobas® omni**-reagens som upprätthålls av systemen **cobas® 5800/6800/8800**

Reagens	Hållbarhet i öppnat kit
cobas® omni Lysis Reagent	30 dagar från laddning
cobas® omni MGP Reagent	30 dagar från första användning
cobas® omni Specimen Diluent	30 dagar från laddning
cobas® omni Wash Reagent	30 dagar från laddning

Extramaterial som behövs för systemen **cobas® 5800/6800/8800**

Tabell 9 Material för användning på systemen **cobas® 5800/6800/8800**

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

Tabell 10 Förbrukningsmaterial för användning på systemet **cobas® 5800***

Material
cobas® omni Processing Plate 24
cobas® omni Amplification Plate 24
cobas® omni Liquid Waste Plate 24
cobas® omni Liquid Waste Container
Pipettspets CORE TIPS med filter, 1 ml
Pipettspets CORE TIPS med filter, 300 µl
Påse för fast avfall* eller påse för fast avfall med insats
S-carrier med 16 positioner för rör, komplett
Hållare för rack med 5 positioner

* Information om artikelnummer finns i användarassistansen till systemet **cobas® 5800**.

Tabell 11 Förbrukningsmaterial för användning på systemen **cobas®** 6800/8800*

Material
cobas® omni Processing Plate
cobas® omni Amplification Plate
cobas® omni Pipette Tips
cobas® omni Liquid Waste Container
Påse för fast avfall och behållare för fast avfall eller påse för fast avfall med insats och kit-låda
STD-rack, omkörning R001-R025 rosa

* Information om artikelnummer finns i användarassistenten till systemen **cobas®** 6800/8800.

Tabell 12 Övrigt material och förbrukningsartiklar som krävs för det preanalytiska arbetsflödet

Material
cobas® Microbial Inactivation Solution (P/N 08185476001)
Provrörssonikator TS 5 (Rinco Ultrasonics AG – P/N 46690)
5 ml-provrör av polypropen med skruvlock, 75 × 13 mm, rund botten (Sarstedt – provrör P/N 60.504.010, lock P/N 65.163)*
MPA-rack 13 MM ljusgrönt 7001-7050 (Roche – P/N 03118878001 eller motsvarande)**
Centrifug (tillval för att begränsa RCF till max. 3 000 × g, kompatibel med provrör 75 × 13 mm med skruvlock)
Vortexmixer
Värmebeständiga streckkodsetiketter (OPAL Associates AG, P/N 20300824 TTR PE-Folie Pharma eller motsvarande)***

* Användning av andra provrör än de som rekommenderas ovan måste verifieras av användaren innan arbetsflödet för **cobas®** MTB-RIF/INH implementeras i laboratoriet.

** 13 mm MPA-rack krävs för att köra provrörssonikatoren TS 5. Kontakta din representant från Roche om du vill ha en detaljerad beställningslista över motsvarande provrack i andra färger eller nummerintervall. Observera att RD5-rack inte är kompatibla med provrörssonikatoren TS 5.

*** Mer information om streckkodsspecifikationer finns i användarassistenten till systemen **cobas®** 5800/6800/8800. Användning av andra streckkodsetiketter än de som rekommenderas ovan måste verifieras av användaren innan arbetsflödet för **cobas®** MTB-RIF/INH implementeras i laboratoriet. Kontakta din representant från Roche om du vill ha mer information om kompatibla streckkodsetiketter och förslag på verifiering av kompatibilitet. Användning av icke-kompatibla streckkodsetiketter kan göra att provrören skadas under sonikeringen, vilket kan leda till kontaminering av instrumentet.

Instrument och programvara som behövs

Programvaran till **cobas**® 5800, programvaran till systemen **cobas**® 6800/8800 samt **cobas**® MTB-RIF/INH-analyspaketet för systemen **cobas**® 5800/6800/8800 måste installeras.

För programversion 2.0 eller högre till systemen **cobas**® 5800 och **cobas**® 6800/8800 medföljer programvaran x800 Data Manager och en pc (eller server) systemet.

För systemen **cobas**® 6800/8800 med programversion 1.4 medföljer IG-servern (Instrument Gateway) systemet.

Tabell 13 Instrument

Utrustning	P/N
Systemet cobas ® 5800	08707464001
Systemet cobas ® 6800	05524245001 och 09575154001
Systemet cobas ® 8800	05412722001 och 09575154001
Provinmatningsmodul för systemen cobas ® 6800/8800	06301037001 och 09936882001

Mer information finns i användarassistansen till systemet **cobas**® 5800 eller systemen **cobas**® 6800/8800.

Försiktighetsåtgärder och information om hantering

Varningar och säkerhetsåtgärder

Liksom för alla testmetoder är det mycket viktigt att använda god laboratorieled för att denna analys ska fungera korrekt. Med hänsyn till testets höga sensitivitet är noggrann hantering nödvändig så att reagens- och amplifieringsblandningarna inte kontamineras.

- Endast för *in vitro*-diagnostisk användning.
- Alla patientprover ska betraktas som potentiellt smittbärande. Därför ska alla biologiska prover hanteras som smittbärande i enlighet med säkra laboratorierutiner och relevant riskbedömning som beskrivs i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, i CLSI-dokumentet M29-A4 och i Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual från WHO.¹²⁻¹⁴ Endast personal som har erfarenhet av att hantera smittbärande material och att använda **cobas**® MTB-RIF/INH och systemen **cobas**® 5800/6800/8800 får utföra denna procedur.
- Samtlig personal ska använda personlig skyddsutrustning inklusive laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon i enlighet med de säkerhetsprocedurer och rutiner för arbete med kemikalier och biologiska prover som gäller på arbetsplatsen.
- Varje laboratorium måste fastställa nödvändiga provhanteringssteg före och efter inaktivering av MIS baserat på en relevant riskbedömning och måste följa rekommenderade regler för biosäkerhet, lokala riktlinjer och regler på arbetsplatsen.¹⁴
- För att TB-inaktiveringen ska lyckas måste de procedurer som beskrivs i det här dokumentet följas samt blandning av provet med MIS slutföras korrekt. Förvätskning av prover och mykobakteriell inaktivering av MIS ska utföras i enlighet med lokala riktlinjer och regler på arbetsplatsen samt baserat på en relevant riskbedömning.
- Allt material av humant ursprung ska betraktas som potentiellt smittbärande och hanteras enligt allmänna säkerhetsföreskrifter.

- Om spill förekommer, desinficera omedelbart med en nyberedd lösning bestående av natrium- eller kaliumhypoklorit 0,5 % i destillerat eller avjoniserat vatten eller följ de lokala rutinerna.
- **Vid spill av prover i MIS (som innehåller guanidintiocyanat) ska du se till att det inte kommer i kontakt med natrium- eller kaliumhypoklorit. Denna blandning kan bilda en mycket giftig gas.** Om du spiller prover i MIS ska du FÖRST rengöra med lämplig laboratoriedetergent och vatten och därefter med 70-procentig etanol.
- MIS är ljuskänsligt och levereras i ljusskyddade flaskor. MIS måste förvaras upprätt.
- Använd endast de förbrukningsartiklar som medföljer eller efterfrågas för att säkerställa den fastställda testprestandan.
- Följ noga de rutiner och riktlinjer som medföljer för att säkerställa att testet utförs korrekt. Avvikelse från rutinerna och riktlinjerna kan göra att den fastställda testprestandan inte blir optimal.
- Falskt positiva resultat kan förekomma om kontrollen av carryover av prover är otillräcklig vid provhantering och -bearbetning.
- Säkerhetsdatablad (SDS) erhålls på begäran från din representant från Roche.
- Informera berörd lokal myndighet och tillverkaren om eventuella allvarliga incidenter som inträffar när du använder den här analysen.

Reagenshantering

- Hantera alla reagens, kontroller och prover enligt god laboratoriesed för att förhindra carryover av prover, reagens eller kontroller.
- Kontrollera varje reagenskassett, spädningslösning, lyseringsreagens och tvättreagens före användning och försäkra dig om att det inte finns tecken på läckage. Använd inte materialet om det finns tecken på läckage.
- **cobas® omni** Lysis Reagent och MIS innehåller guanidintiocyanat, en potentiellt farlig kemikalie. Undvik att reagens kommer i kontakt med hud, ögon och slemhinnor. Tvätta omedelbart med rikliga mängder vatten vid eventuell kontakt. Brännskador kan annars uppstå.
- Låt inte **cobas® omni** Lysis Reagent eller MIS, som innehåller guanidintiocyanat, komma i kontakt med natrium- eller kaliumhypokloritlösning. Denna blandning kan bilda en mycket giftig gas.
- Använda kontrollkit innehåller perforerade behållare med återstående reagens. Var extra försiktig vid kassering för att undvika spill och kontakt med reagenset.
- **cobas® MTB-RIF/INH**, **cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit**, **cobas® Buffer Negative Control Kit**, **cobas® omni** MGP Reagent och **cobas® omni** Specimen Diluent innehåller natriumazid som konserveringsmedel. Undvik att reagens kommer i kontakt med hud, ögon och slemhinnor. Tvätta omedelbart med rikliga mängder vatten vid eventuell kontakt. Brännskador kan annars uppstå. Vid spill av dessa reagens, späd med vatten innan spillet torkas upp.
- Kassera allt material som har kommit i kontakt med prover och reagens enligt gällande nationella, regionala och lokala föreskrifter.

God laboratoriesed

- Pipettera inte med munnen.
- Ät, drick eller rök inte i laboratoriet.
- Behandla alla biologiska prover, inklusive MIS-behandlade prover, som potentiellt smittbärande i enlighet med lokala riktlinjer och regler på arbetsplatsen och/eller baserat på en relevant riskbedömning.¹⁴

- Använd laboratoriehandskar, laboratorierock, ögonskydd och andningsskydd när du hanterar prover och reagens, och följ de säkerhetsprocedurer som gäller på arbetsplatsen. Undvik att förorena handskarna när du hanterar prover och kontroller. Laboratoriehandskar måste bytas mellan hantering av prover och **cobas® MTB-RIF/INH**, **cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit**, **cobas® Buffer Negative Control Kit**, **cobas® omni-reagens** och förbrukningsmaterial för att förhindra kontaminering.
- Desinficera och tvätta händerna noga efter hantering av prover och reagens, och efter att du har tagit av dig handskarna.
- Rengör och desinficera noga alla arbetsytor i laboratoriet med en nyberedd lösning bestående av 0,5 % natriumhypoklorit eller kaliumhypoklorit i destillerat eller avjoniserat vatten. Torka därefter av ytan med 70-procentig etanol.
- Om spill förekommer på systemen **cobas® 5800/6800/8800** ska anvisningarna i användarassistansen till systemen **cobas® 5800** eller **cobas® 6800/8800** följas för att rengöra och dekontaminera ytan på instrumenten på rätt sätt.

Provtagning, transport och förvaring av prover

Obs! Hantera alla prover och kontroller som potentiellt smittbärande.

Prov

Obehandlad sputum och NALC-NaOH-behandlat sputum- och BAL-sediment kan användas med **cobas® MTB-RIF/INH**.

Transport och förvaring av prover

Prover med obehandlad sputum kan förvaras och/eller transporteras i upp till 3 dagar vid 2 °C till 35 °C, följt av upp till 7 dagar vid 2 °C till 8 °C innan förvätskning och inaktivering med MIS. Vid längre förvaring av prover med obehandlad sputum som inte behandlats med MIS rekommenderas temperaturer på ≤ -20 °C.

NALC-NaOH-behandlade sputum- och BAL-sedimentprover kan förvaras i upp till 7 dagar vid 2 °C till 8 °C innan aktivering med MIS. Vid längre förvaring av sputum- och BAL-sedimentprover som inte behandlats med MIS kan de förvaras frusna i temperaturer ≤ -20 °C i upp till 9 månader inklusive två frys/tiningscykler.

Om prover ska transporteras ska de förpackas och etiketteras i enlighet med nationella och/eller internationella föreskrifter för transport av prover och etiologiska agens.

Förvaring av inaktiverade prover

Prover med obehandlad sputum och NALC-NaOH-behandlade sputum- och BAL-sedimentprover som behandlats med MIS (inaktiverat) kan förvaras i upp till 12 timmar vid 15 °C till 35 °C, följt av upp till 7 dagar vid 2 °C till 8 °C och 30 dagar vid ≤ -20 °C inklusive två frys/tiningscykler innan bearbetning på systemen **cobas® 5800/6800/8800**.

Obs! MIS-behandlade prover fryser eventuellt inte på grund av hög halt av isopropanol.

Obs! Sonikering av prover kan utföras när som helst efter en inledande inkubering med MIS i minst 60 minuter. Mer information finns i avsnittet "Sonikering av prover".

Bruksanvisning

Anmärkningar om testet

- Använd inte **cobas®** MTB-RIF/INH, **cobas®** MTB-RIF/INH Positive Control Kit, **cobas®** Buffer Negative Control Kit, MIS eller **cobas®** omni-reagens efter utgångsdatum.
- Återanvänd inte förbrukningsartiklar. De är endast avsedda för engångsbruk.
- Minimiprovvolymen för körning av **cobas®** MTB-RIF/INH är 1,2 ml, varav 850 µl bearbetas.
- Kontrollera att de värmebeständiga streckkodsetiketterna på provrören är riktade mot och syns genom öppningarna längst upp på sidan av MPA-provracken. I Bild 1 och i användarassistansen till systemen **cobas®** 5800/6800/8800 finns specifikationer för streckkoderna samt ytterligare information om laddning av provrör.
- Kontrollera att locken är borttagna från provrören efter sonikeringen och innan de laddas i systemen **cobas®** 5800/6800/8800.
- I användarassistansen till systemen **cobas®** 5800/6800/8800 finns instruktioner om hur underhåll av instrumenten ska utföras.

Innan körning av **cobas®** MTB-RIF/INH på systemen **cobas®** 5800/6800/8800 måste proverna bearbetas enligt följande avsnitt: "Bearbetning av prover med obehandlad sputum", "Bearbetning av sputum- och BAL-sediment" och "Sonikering av prover". Förkortade representativa arbetsflöden sammanfattas i Tabell 14 för prover med obehandlad sputum och i Tabell 15 för sedimentprover. Mer information finns i de efterföljande avsnitten.

Obs! Provhantering före och efter inaktivering av **cobas®** MIS ska utföras i enlighet med lokala riktlinjer och regler på arbetsplatsen och/eller baserat på en relevant riskbedömning.¹⁴

Obs! Sonikering av MIS-behandlade prover ska utföras i enlighet med lokala riktlinjer och regler på arbetsplatsen och/eller baserat på en relevant riskbedömning.¹⁴

Tabell 14 Översikt över arbetsflöde – prover med obehandlad sputum

1				Tillsätt 2 delar MIS i 1 del obehandlad sputum
2		30–60 sekunder		Skaka kraftigt eller vortexa i 30–60 sekunder
3		≥ 60 minuter		Inkubera provet i minst 60 minuter i 15–30 °C (rumstemperatur)
4		30–60 sekunder		Skaka kraftigt eller vortexa i 30–60 sekunder
5		1,2 ml för 1 test 2,4 ml för 2 tester 3,6 ml för 3 tester		Överför 1,2 till 3,6 ml MIS-behandlat prov till ett sekundärrör med skruvlock
6		5 minuter		Sonikera det MIS-behandlade provet
7		Max 1 minut		Centrifugera provet i maximalt 1 minut vid en maximal RCF på 3 000 × g
8				Ladda det öppna provet i systemen cobas ® 5800 eller cobas ® 6800/8800 och starta körningen med provet med obehandlad sputum

Tabell 15 Översikt över arbetsflöde – sedimentprover

1		0,2 ml för 1 test 0,4 ml för 2 tester 0,6 ml för 3 tester	Vortexa och överför 0,2 till 0,6 ml sedimentprov till ett sekundärrör med skruvlock
2	  		Tillsätt 5 delar MIS i 1 del sedimentprov • 1 ml MIS för 1 test (0,2 ml sedimentprov) • 2 ml MIS för 2 tester (0,4 ml sedimentprov) • 3 ml MIS för 3 tester (0,6 ml sedimentprov)
3		30–60 sekunder	Skaka kraftigt eller vortexa i 30–60 sekunder
4		≥ 60 minuter	Inkubera provet i minst 60 minuter i 15–30 °C (rumstemperatur)
5		30–60 sekunder	Skaka kraftigt eller vortexa i 30–60 sekunder
6		5 minuter	Sonikera det MIS-behandlade provet
7		Max 1 minut	Centrifugera provet i maximalt 1 minut vid en maximal RCF på 3 000 × g
8			Ladda det öppna provet i systemen cobas® 5800 eller cobas® 6800/8800 och starta körningen med sedimentprovet

Bearbetning av prover med obehandlad sputum

- Bekräfta att behållaren för obehandlad sputum är korrekt märkt och innehåller minst 0,4 ml sputum. Om provet har förvarats fruset ska det tinas och värmas till omgivande temperatur.
- Vänd MIS-flaskorna två till fyra gånger innan användning.
- Öppna behållaren med sputumprovet och tillsätt ungefär två delar MIS i en del sputumprov (exempelvis 2 ml MIS i 1 ml sputumprov) genom att uppskatta volymen visuellt och använda en engångspipett. Förslut behållaren med sputumprovet ordentligt.
- Förslut MIS-flaskorna omedelbart efter användning.
- Skaka kraftigt eller vortexa i 30–60 sekunder.
 - Obs!** Säkerställ att hela sputumprovet blandas med MIS.
- Inkubera provet i minst 60 minuter i 15–30 °C (rumstemperatur).
 - Obs!** Villkor för maximal förvaringstid finns i avsnittet ”Förvaring av inaktiverade prover”.
- Skaka kraftigt eller vortexa i 30–60 sekunder eller tills provet är fullständigt homogeniserat.

- Överför minst 1,2 ml och maximalt 3,6 ml MIS-behandlat sputumprov till ett värmebeständigt streckkodsmärkt 5 ml-provrör av polypropen med skruvlock, med måtten 75 × 13 mm och rund botten (Sarstedt: provrör P/N 60.504.010, skruvlock P/N 65.163). Stäng provröret ordentligt.
Obs! Bekräfta innan provöverföring att streckkodsinformationerna på behållaren med sputumprovet och 5 ml-sekundärröret överensstämmer.
Obs! Se Tabell 16.
- Sonikera inaktiverade prover enligt anvisningarna i avsnittet ”Sonikering av prover” innan körning av cobas® MTB-RIF/INH.

Bearbetning av sputum- och BAL-sediment

- Bekräfta att behållaren för NALC-NaOH-behandlat sputum- och BAL-sediment är korrekt märkt och innehåller minst 0,2 ml prov. Om provet har förvarats fruset ska det tinas och värmas till omgivande temperatur.
- Vortexa sedimentprovet i minst 10 sekunder.
- Överför minst 0,2 ml och maximalt 0,6 ml sedimentprov till ett streckkodsmärkt 5 ml-rör av polypropen med skruvlock, med måtten 75 × 13 mm och rund botten (Sarstedt: provrör P/N 60.504.010, skruvlock P/N 65.163).
Obs! Bekräfta innan provöverföring att streckkodsinformationerna på provbehållaren och 5 ml-sekundärröret överensstämmer.
- Vänd MIS-flaskorna två till fyra gånger innan användning.
- Tillsätt fem delar MIS i en del prov (t.ex. 1 ml MIS i 0,2 ml prov). Stäng röret ordentligt.
Obs! Se Tabell 16.
- Förslut MIS-flaskorna omedelbart efter användning.
- Skaka kraftigt eller vortexa i 30–60 sekunder.
Obs! Säkerställ att hela provet blandas med MIS.
- Inkubera provet i minst 60 minuter i 15–30 °C (rumstemperatur).
Obs! Villkor för maximal förvaringstid finns i avsnittet ”Förvaring av inaktiverade prover”.
- Skaka kraftigt eller vortexa i 30–60 sekunder.
- Sonikera inaktiverade prover enligt anvisningarna i avsnittet ”Sonikering av prover” innan körning av cobas® MTB-RIF/INH.

Tabell 16 Volymkrav för cobas® Microbial Inactivation Solution-behandlade prover vid körning av cobas® MTB-RIF/INH

Antal tester att utföra från sekundärrör	Minimivolym av MIS-behandlat prov som krävs	Tillåten maxvolym av MIS-behandlat prov
1 testbeställning	1,2 ml	3,6 ml
2 testbeställningar*	2,4 ml	3,6 ml
3 testbeställningar*	3,6 ml	3,6 ml

* Kan användas för bearbetning i blandad omgång med andra cobas® 5800/6800/8800-analyser med samma provtyp eller för upprepad testning.

Sonikering av prover

- Sonikering av prover för körning av **cobas**® MTB-RIF/INH måste utföras med provrörssonikatoren TS 5 från Rinco Ultrasonics AG (P/N 46690). Användning av annan utrustning för sonikering kan leda till falskt positiva, falskt negativa och/eller ogiltiga resultat. En detaljerad beskrivning av hur sonikatoren används finns i användarhandboken från tillverkaren.
- Placera fem streckkodsmärkta stängda provrör med skruvlock som innehåller 1,2 ml till 3,6 ml MIS-behandlat prov i ett MPA-rack.

Obs! Kontrollera att de värmebeständiga streckkodsetiketterna på provrören är riktade mot och syns genom öppningarna längst upp på sidan av MPA-provracken (se Bild 1).

Obs! Kontrollera att varje provrör har en värmebeständig streckkodsetikett.

Obs! Kontrollera att samtliga fem provrörspositioner i MPA-racket är belagda. Om färre än fem provrör med MIS-behandlat prov är tillgängliga så måste de återstående positionerna beläggas med vattenfyllda eller MIS-fyllda "dummy"-rör av samma provrörstyp och med en värmebeständig streckkodsetikett.

Bild 1 Korrekt placering av provrör i MPA-rack innan sonikering



- Starta provrörssonikatoren.
- Välj den fördefinierade sonikeringsprofilen "Respiratory Samples".
- Öppna provrörssonikatoren och sätt in MPA-racket enligt tillverkarens instruktioner.
- Stäng provrörssonikatoren.
- Starta sonikeringskörningen.
- Bekräfta att sonikeringskörningen lyckades och ta ut MPA-racket.

Obs! Provrören förväntas bli varma under sonikeringskörningen. Var försiktig när du tar ut MPA-racket med provrör.

Obs! Om sonikeringen misslyckas läser du tillverkarens instruktioner, åtgärdar felet och upprepar sonikeringskörningen efter att proverna har fått svalna i minst 15 minuter.

- MIS-behandlade och sonikerade prover kan nu köras med **cobas**® MTB-RIF/INH eller förvaras enligt anvisningarna i avsnittet "Förvaring av inaktiverade prover".

Köra cobas® MTB-RIF/INH på systemen cobas® 5800/6800/8800

- En detaljerad beskrivning av hur instrumenten används finns i användarassistansen till systemet **cobas® 5800** eller systemen **cobas® 6800/8800**.
- I användarassistansen till systemet **cobas® 5800** eller systemen **cobas® 6800/8800** finns instruktioner om hur underhåll av instrumenten ska utföras. Innan borttagning av lock från rör och laddning av prover i systemet **cobas® 5800** rekommenderar vi att cell- och matrisrester pelleteras genom provcentrifugering i maximalt 1 minut vid en maximal RCF på $3\,000 \times g$.
- En och samma körning kan ha en kombination av prover (obehandlad sputum, sediment).
- Kontrollera att streckkodsetiketterna på provrören syns genom öppningarna på sidan av RD5- eller MPA-provracken. I användarassistansen till systemet **cobas® 5800** eller systemen **cobas® 6800/8800** finns specifikationer för streckkoderna samt ytterligare information om laddning av provrör.

Obs! Vortexa proverna i minst 10 sekunder om proverna har förvarats i mer än 1 timme mellan sonikering och centrifugering.

Obs! Att utesluta centrifugeringssteget kan göra att mängden provkoagel ökar på systemet **cobas® 5800**.

Bild 2 cobas® MTB-RIF/INH-testprocedur på systemet cobas® 5800

1	Logga in i systemet
2	Ladda prover i systemet • Ta bort locken på rören • Överför röret direkt till ett rack • Ladda provrack i systemet • Systemet förbereds automatiskt • Beställ tester • Välj "Raw sputum" för beställning av MIS-behandlade prover från obehandlad sputum • Välj "Sediment" för beställning av MIS-behandlade prover från sputum-/BAL-sediment
3	Fyll på reagens och förbrukningsartiklar vid uppmaning från systemet • Ladda testspecifika reagenskassetter • Ladda kontroll-minirack • Ladda processpetsar • Ladda elueringspetsar • Ladda processplattor • Ladda vätskeavfallsplattor • Ladda amplifieringsplattor • Ladda MGP-kassett • Fyll på provspådningslösning • Fyll på lyseringsreagens • Fyll på tvättreagens
4	Starta körningen genom att trycka på knappen "Start processing" (Starta bearbetning) i användargränssnittet. Alla efterföljande körningar startar automatiskt om de inte skjuts upp manuellt.
5	Granska och exportera resultat
6	Förslut alla provrör som uppfyller kraven för minimivolymer för framtida användning om det behövs Gör i ordning instrumentet • Mata ut tomma kontroll-minirack • Mata ut tomma testspecifika reagenskassetter • Töm lådan för amplifieringsplattan • Töm vätskeavfallet • Töm det fasta avfallet

Bild 3 cobas® MTB-RIF/INH-testprocedur på systemen cobas® 6800/8800

1	Logga in i systemet Tryck på Start för att förbereda systemet Beställ tester • Välj "Raw sputum" för beställning av MIS-behandlade prover från obehandlad sputum • Välj "Sediment" för beställning av MIS-behandlade prover från sputum-/BAL-sediment
2	Fyll på reagens och förbrukningsartiklar vid uppmaning från systemet • Ladda testspecifik reagenskassett • Ladda kontrollkassetter • Ladda pipettspetsar • Ladda processplattor • Ladda MGP-reagens • Ladda amplifieringsplattor • Fyll på provspädningslösning • Fyll på lyseringsreagens • Fyll på tvättreagens
3	Ladda prover i systemet • För varje prov ◦ Ta bort locket på röret ◦ Överför röret till ett rack • Ladda provracket och racket för igensatta spetsar påProvinmatningsmodulen • Bekräfta att proverna har tagits emot i överföringsmodulen
4	Starta körningen
5	Granska och exportera resultat
6	Förslut alla provrör som uppfyller kraven för minimivolym för framtida användning om det behövs Gör i ordning instrumentet • Mata ut tomma kontrollkassetter • Töm lådan för amplifieringsplattan • Töm vätskeavfallet • Töm det fasta avfallet

Resultat

cobas® MTB-RIF/INH detekterar automatiskt mutationer som är associerade med rifampicin-resistens och mutationer som är associerade med isoniazid-resistens för prover och kontroller, och visar testvaliditet samt enskilda target-resultat.

Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på systemet cobas® 5800 och systemen cobas® 6800/8800 med programversion 2.0 eller högre

- En cobas® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] och en cobas® MTB-RIF/INH Positive Control [MTB-RIF/INH (+) C] bearbetas minst var 72:a timme eller för varje ny kitlot. Positiva och/eller negativa kontroller kan schemaläggas mer frekvent baserat på laboratorierutinerna och/eller de gällande lokala bestämmelserna.
- I programvaran och/eller rapporten ska du kontrollera om det finns flaggor till resultaten för att säkerställa giltigheten för resultaten (i användarassistenten till x800 Data Manager finns en "Lista med flaggkoder").
- Kontroller är markerade med "Valid" (Giltig) i kolumnen "Control result" (Kontrollresultat) om respektive target för kontrollerna har rapporterats som giltiga. Kontroller är markerade med "Invalid" (Ogiltig) i kolumnen "Control result" (Kontrollresultat) om respektive target för kontrollerna har rapporterats som ogiltiga.
- Kontroller som är markerade med "Invalid" har en flagga i kolumnen "Flags" (Flaggor). Mer information om varför kontrollen har rapporterats som ogiltig (inklusive flagginformation) visas i vyn med detaljerad information.
- Om en av kontrollerna är ogiltig måste du upprepa testningen av alla kontroller och alla associerade prover.

Validering av resultat utförs automatiskt av instrumentprogramvaran baserat på kontrollresultat.

OBS! Systemet cobas® 5800 och systemen cobas® 6800/8800 med programversion 2.0 eller högre levereras med standardinställningen för körning av en uppsättning kontroller (positiva och negativa) i varje körning, men kan konfigureras till ett mindre frekvent körschema på upp till var 72:a timme, baserat på laboratorierutinerna och/eller de gällande lokala bestämmelserna. Kontakta Roche kundsupport om du vill ha mer information.

Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på systemen cobas® 6800/8800 med programversion 1.4

- En cobas® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] och en cobas® MTB-RIF/INH Positive Control [MTB-RIF/INH (+) C] bearbetas med varje provomgång för en begärd resultattyp.
- Kontrollera om det finns flaggor till resultaten i programvaran i systemen cobas® 6800/8800 och/eller i rapporten för att säkerställa giltigheten för provomgången.
- Alla flaggor beskrivs i användarassistenten till systemen cobas® 6800/8800.
- Omgången är giltig om ingen flagga visas för någon av kontrollerna. Om omgången är ogiltig krävs upprepad testning av hela omgången.

Validering av resultat utförs automatiskt av instrumentprogramvaran baserat på kontrollresultat.

[illegible]

Target 1	Target 2	Target 3	Target 4	Betydelse
INH Positive	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	INH-resultatet är giltigt. Mutation(er) associerade med INH-resistens detekterades. RIF-resultatet är giltigt. Mutation(er) associerade med RIF-resistens detekterades.
INH Positive	Invalid	Invalid	Invalid	INH-resultatet är giltigt. Mutation(er) associerade med INH-resistens detekterades. RIF-resultatet är ogiltigt. Se anvisningarna ovan.
Invalid	RIF 1 Positive	Invalid	Invalid	INH-resultatet är ogiltigt. Se anvisningarna ovan. RIF-resultatet är giltigt. Mutation(er) associerade med RIF-resistens detekterades.
Invalid	Invalid	RIF 2 Positive	Invalid	INH-resultatet är ogiltigt. Se anvisningarna ovan. RIF-resultatet är giltigt. Mutation(er) associerade med RIF-resistens detekterades.
Invalid	Invalid	Invalid	RIF 3 Positive	INH-resultatet är ogiltigt. Se anvisningarna ovan. RIF-resultatet är giltigt. Mutation(er) associerade med RIF-resistens detekterades.
Invalid	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	Invalid	INH-resultatet är ogiltigt. Se anvisningarna ovan. RIF-resultatet är giltigt. Mutation(er) associerade med RIF-resistens detekterades.
Invalid	RIF 1 Positive	Invalid	RIF 3 Positive	INH-resultatet är ogiltigt. Se anvisningarna ovan. RIF-resultatet är giltigt. Mutation(er) associerade med RIF-resistens detekterades.
Invalid	Invalid	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	INH-resultatet är ogiltigt. Se anvisningarna ovan. RIF-resultatet är giltigt. Mutation(er) associerade med RIF-resistens detekterades.
Invalid	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	INH-resultatet är ogiltigt. Se anvisningarna ovan. RIF-resultatet är giltigt. Mutation(er) associerade med RIF-resistens detekterades.
INH Positive	RIF 1 Negative	Invalid	RIF 3 Positive	INH-resultatet är giltigt. Mutation(er) associerade med INH-resistens detekterades. RIF-resultatet är giltigt. Mutation(er) associerade med RIF-resistens detekterades.
Invalid	Invalid	Invalid	Invalid	INH-resultatet är ogiltigt. Se anvisningarna ovan. RIF-resultatet är ogiltigt. Se anvisningarna ovan.

Tolkning av resultat för systemet cobas® 5800 och systemen cobas® 6800/8800 med programversion 2.0 eller högre

Resultaten för proverna visas i programvaran i appen "Results". Exempel på visning av resultat visas i Bild 4.

För en giltig kontrollomgång ska varje enskilt prov kontrolleras avseende flaggor i programvaran och/eller i rapporten. Tolkningen av resultaten ska göras på följande sätt:

- Prover associerade med en giltig kontrollomgång visas som "Valid" (Giltig) i kolumnen "Control result" (Kontrollresultat) om respektive kontrolltargetresultat har rapporterats som giltiga. Prover associerade med en misslyckad kontrollomgång visas som "Invalid" (Ogiltig) i kolumnen "Control result" (Kontrollresultat) om respektive kontrolltargetresultat har rapporterats som ogiltiga.
- Om de associerade kontrollerna för ett provresultat är ogiltiga läggs en specifik flagga till enligt följande:
 - Q05D: Fel vid resultatvalidering på grund av en ogiltig positiv kontroll
 - Q06D: Fel vid resultatvalidering på grund av en ogiltig negativ kontroll
- Värdena i kolumnen "Results" (Resultat) för enskilda provtargetresultat ska tolkas enligt Tabell 17 ovan.
- Om ett eller flera provtargets har markerats med "Invalid" (Ogiltig) visar programvaran en flagga i kolumnen "Flags" (Flaggor). Mer information om varför provtargets har rapporterats som ogiltiga (inklusive flagg-information) visas i vyn med detaljerad information.

Bild 4 Exempel på cobas® MTB-RIF/INH-resultat på systemet cobas® 5800 och systemen cobas® 6800/8800 med programversion 2.0

Prov-id	Test	Kontroll-resultat	Flagga	Status	Resultat				Skapat datum/tid
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 resultat på systemen cobas® 6800/8800 med programversion 1.4

För en giltig omgång ska varje enskilt prov kontrolleras avseende flaggor i programvaran i systemen cobas® 6800/8800 och/eller i rapporten. Tolkningen av resultaten ska göras på följande sätt:

- En giltig omgång kan innehålla både giltiga och ogiltiga provresultat.
- Kolumnerna "Valid" och "Overall Result" är inte tillämpliga (NA) på provresultat för cobas® MTB-RIF/INH och är markerade med "NA". Värdena som rapporteras i de här kolumnerna är inte tillämpliga och påverkar **inte** giltigheten för resultat som rapporteras i kolumner med resultat för enskilda targets.
- De rapporterade target-resultaten för enskilda prover är giltiga om de inte indikeras som "Invalid" i kolumnen med resultat för enskilda targets. Observera att rapporterbara mutationer som är associerade med RIF-resistens kan innehålla ett eller två ogiltiga enskilda target-resultat, vilket visas i Tabell 15.
- Mer än en mutation som är associerad med RIF-resistens kan förekomma och detekteras i en av RIF-detektionskanalerna (target 2, target 3, target 4). cobas® MTB-RIF/INH urskiljer inte de specifika mutationerna som är associerade med RIF-resistens.
- Mer än en mutation som är associerad med INH-resistens kan förekomma och detekteras i INH-detektionskanalen (target 1). cobas® MTB-RIF/INH urskiljer inte de specifika mutationerna som är associerade med INH-resistens.
- cobas® MTB-RIF/INH är ett reflextest för cobas® MTB, vilket innebär att det använder detektion av MTB-komplex-DNA av vildtyp för övervakning av hela provberednings- och PCR-amplifieringsprocessen. cobas® MTB skiljer sig från cobas® MTB-RIF/INH genom högre sensitivitet för detektion av MTB-komplex-DNA tack vare en metod med dubbel target där en target förekommer i flera genomiska kopior. I vissa fall när vare sig MTB eller respektive mutationer som är associerade med resistens detekteras så kan inte förekomst eller frånvaro av mutationer som är associerade med resistens fastställas av cobas® MTB-RIF/INH (resultatet "Invalid" visas i den motsvarande Target Result-kolumnen, Tabell 15). Om detta sker:
 - Kontrollera om det finns associerade flaggor. Flaggorna "C02H1-H5" indikerar otillräckligt med MTB-komplex-DNA om det inte finns andra flaggor.

- Utför omtestning av det inaktiverade provet om det finns kvar tillräckligt med volym enligt Tabell 14 och om det inaktiverade provet har förvarats enligt anvisningarna i avsnittet "Förvaring av inaktiverade prover". Utför annars omtestning med ett nytt prov.
- Du kan även försöka öka mängden *M. tuberculosis*-bakterier genom utökad odling eller genom att använda alternativa metoder om du får ogiltiga resultat upprepade gånger för samma patient.
- Resultaten från det här testet ska endast tolkas tillsammans med tillgänglig information från en klinisk utvärdering av patienten samt patientens historik.

Resultaten för detektion av mutationer som är associerade med rifampicin- och isoniazid-resistens och deras motsvarande tolkning visas i Tabell 15.

Bild 5 Exempel på **cobas**® MTB-RIF/INH-resultat på systemen **cobas**® 6800/8800 med programversion 1.4

Test	Prov-id	Giltigt	Flaggor	Provtyp	Totalt resultat	Target 1	Target 2	Target 3	Target 4
MTB-RIF/INH	MDR_sample_R_0001	NA		Raw Sputum	NA	INH Negative	RIF1 Negative	RIF2 Positive	RIF3 Negative
MTB-RIF/INH	MDR_sample_R_0002	NA		Raw Sputum	NA	INH Positive	RIF1 Negative	RIF2 Negative	RIF3 Positive
MTB-RIF/INH	MDR_sample_R_0003	NA	P02T	Raw Sputum	NA	Invalid	Invalid	Invalid	Invalid
MTB-RIF/INH	MDR_sample_S_0001	NA		Sediment	NA	INH Negative	RIF1 Negative	RIF2 Positive	RIF3 Negative
MTB-RIF/INH	MDR_sample_S_0002	NA		Sediment	NA	INH Positive	RIF1 Negative	RIF2 Negative	RIF3 Positive
MTB-RIF/INH	MDR_sample_S_0003	NA	C02H1	Sediment	NA	Invalid	Invalid	Invalid	Invalid
MTB-RIF/INH	C161420284090428828404	Yes		(-) Ctrl	Valid	Valid	Valid	Valid	Valid
MTB-RIF/INH	C161420284093009580264	Yes		MTB-RIF/INH (+) C	Valid	Valid	Valid	Valid	Valid

Testets begränsningar

- **cobas**® MTB-RIF/INH ska alltid utföras med mykobakteriell odling och testning av känslighet mot läkemedel, och som ett reflextest tillsammans med **cobas**® MTB (prover som fastställts som positiva med **cobas**® MTB) för att minimera risken för falskt positiva, falskt negativa och/eller ogiltiga resultat. Prestandan för **cobas**® MTB-RIF/INH har validerats för användning med prover från obehandlad sputum och sputum-/BAL-sediment som har förvätskats, dekontaminerats och koncentrerats med hjälp av NALC-NaOH. Användning av andra provtyper kan leda till falskt positiva, falskt negativa och/eller ogiltiga resultat. Nedbrytning och dekontaminering ska utföras med de NALC-NaOH-procedurer som rekommenderas av CDC.¹⁵ Användning av andra preanalytiska provberedningsprocedurer kan leda till falskt positiva, falskt negativa och/eller ogiltiga resultat.
- **cobas**® MTB-RIF/INH har validerats för användning med prover från obehandlad sputum och NALC-NaOH-behandlat sputum- och BAL-sediment som har inaktiverats kemiskt med MIS. Andra inaktiveringsprocedurer har inte utvärderats och kan leda till falskt positiva, falskt negativa och/eller ogiltiga resultat.
- För att TB-inaktiveringen ska lyckas måste de procedurer som beskrivs i det här dokumentet följas samt blandning av provet med MIS slutföras korrekt. Förvätskning av prover och mykobakteriell inaktivering av MIS ska utföras i enlighet med lokala riktlinjer och regler på arbetsplatsen samt baserat på en relevant riskbedömning.

- Om volymbegränsningarna överskrids och/eller om procedurstegen som beskrivs i "Bearbetning av prover med obehandlad sputum", "Bearbetning av sputum- och BAL-sediment" och "Sonikering av prover" inte följs finns risk för att falskt positiva, falskt negativa och/eller ogiltiga resultat erhålls.
- Livsduglighet för organismer kan inte fastställas i analyser med nukleinsyraamplifiering.
- Huruvida läkemedelsbehandling av tuberkulos lyckas eller ej kan inte avgöras med detta test.
- Produkten får endast användas av personal med erfarenhet av PCR-teknik och användning av systemen **cobas® 5800/6800/8800**.
- **cobas® MTB-RIF/INH** har endast validerats för användning tillsammans 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** och **cobas® omni Wash Reagent** för användning på systemen **cobas® 5800/6800/8800**, **MIS** och provrörssonikatoren **TS 5** från Rinco Ultrasonics AG.
- Tillförlitliga resultat förutsätter rätt provtagning, förvaring och hantering av prover.
- **cobas® MTB-RIF/INH** är inte avsett för användning med luftvägsprover som ett behandlingstest.
- **cobas® MTB-RIF/INH** särskiljer inte mellan olika arter av MTB-komplexet.
- Detektion av mutationer som är associerade med rifampicin-resistens och mutationer som är associerade med isoniazid-resistens beror på antalet organismer i MTB-komplexet som förekommer i provet och kan påverkas av provtagningsmetoderna och patientfaktorer (dvs. ålder, sjukdomens allvarlighetsgrad, HIV-status).
- För patienter med både MTB- och HIV-infektion är sannolikheten högre att proverna är negativa vid utstryk, och att de därför har MTB-komplex under analysens detektionsgräns.
- Sjukvårdspersonalen måste tolka resultaten med hänsyn till patientens historik, den kliniska bilden samt andra resultat från laboratorie- och radiologitester.
- Falskt negativa eller ogiltiga resultat kan uppstå på grund av polymerashämmare. Detektion av MTB-komplex-DNA i prover ingår i utformningen av **cobas® MTB-RIF/INH** som en internkontroll för att säkerställa att proverna innehåller tillräckligt med MTB-komplex-DNA.
- Tillsats av AmpErase-enzym i **cobas® MTB-RIF/INH** mastermix-reagens möjliggör selektiv amplifiering av target-DNA. Kontamination av reagens kan dock endast undvikas om god labororiesed tillämpas och de förfaranden som beskrivs i den här bruksanvisningen följs noga.
- Mutationer som är associerade med resistens är sällsynta, men detekteras eventuellt inte om ytterligare mutationer förekommer i omedelbar närhet.
- På grund av inneboende skillnader mellan metoder rekommenderas användaren, innan en metod byts ut mot en annan, att genomföra metodkorrelationsanalyser i laboratoriet för att bestämma skillnaderna mellan metoderna. Etthundra procent överensstämmelse mellan resultaten ska inte förväntas på grund av de tidigare nämnda skillnaderna mellan metoderna.
- Användning av andra provrör än de som rekommenderas i Tabell 12 måste verifieras av användaren innan arbetsflödet för **cobas® MTB-RIF/INH** implementeras i laboratoriet. Användning av andra provrörstyper kan göra att provrören skadas och att ytorna på sonikatoren kontamineras. Falskt negativa resultat på grund av otillräcklig energiöverföring vid sonikeringen kan också inträffa.
- Användning av andra streckkoder än de som rekommenderas i Tabell 12 måste verifieras av användaren innan arbetsflödet för **cobas® MTB-RIF/INH** implementeras i laboratoriet. Användning av andra streckkodstyper kan göra att streckkoden skadas.

Utvärdering av prestanda

Systemekvivalens

Systemekvivalensen för systemen **cobas**® 5800, **cobas**® 6800 och **cobas**® 8800 påvisades genom studier av prestandan. Data som presenteras i denna bruksanvisning ger stöd för motsvarande prestanda för alla system.

Viktiga prestandaegenskaper

Provinaktivering

Den minskade risken för MTB-infektion genom att behandla prover med MIS utvärderades genom att använda hög-positiva odlingar av två MTB-komplexstammar (MTB CDC268 och MTB H37) vid tre olika platser och med tre olika MIS-reagensloter. För varje tillstånd behandlades fem odlingsalikvoter med koncentrationsnivåer upp till 5×10^7 CFU/ml med MIS i ett 1:2-förhållande i 60 minuter vid rumstemperatur. Proverna centrifugerades sedan i 15 minuter vid $3\,000 \times g$, tvättades två gånger med steril PBS och resuspenderades sedan i 0,5 ml steril PBS. Hela det inaktiverade provet inokulerades och testades på två platser avseende tillväxt med systemet BACTEC™ MGIT™ 320 för mykobakteriell detektion (Becton Dickinson). På en tredje plats testades MTB-livsdugligheten på fast Löwenstein-Jensen-medium (LJ). Inga av de inaktiverade proverna visade tillväxt av bakterier i *M. tuberculosis*-komplexet i slutet av inkubationsperioden på 56 dagar.

Detektionsgräns (LoD)

Detektionsgränsen för **cobas**® MTB-RIF/INH fastställdes genom analys av seriespädningar av en mutant MTB-komplexstam som innehöll mutationen S531L, den vanligast förekommande mutationen som är associerad med rifampicin-resistens (*rpoB*-genen), och mutationen S315T, den vanligast förekommande mutationen som är associerad med isoniazid-resistens (*katG*-genen), i två poolade negativa kliniska matriser – obehandlad sputum och sputum-/BAL-sediment. Paneler med tio till elva koncentrationsnivåer plus ett blankprov testades med totalt 72 replikat per koncentrationsnivå och provtyp med tre loter av **cobas**® MTB-RIF/INH-testreagens under flera körningar och dagar och med olika användare och instrument.

LoD för detektion av RIF-resistent *M. tuberculosis* låg mellan 94,0 CFU/ml (sputum-/BAL-sediment) och 182 CFU/ml (obehandlad sputum).

LoD för detektion av INH-resistent *MM. tuberculosis* låg mellan 12,6 CFU/ml (sputum-/BAL-sediment) och 27,5 CFU/ml (obehandlad sputum).

Heteroresistens

Möjligheten att detektera mutant MTB i en kombinerad infektion med vildtyp-MTB bekräftades genom att testa olika förhållanden mellan mutant och vildtyp. Låga koncentrationsnivåer av MDR MTB-odlingsisolat ($\sim 3 \times \text{LoD}$) i en bakgrund av upp till 60 % vildtyp-MTB detekteras av **cobas**® MTB-RIF/INH i prover med obehandlad sputum och med sputum- och BAL-sediment.

Inklusivitet för mutationer som är associerade med resistens

Inklusiviteten för mutationer i *rpoB*-genen som är associerade med rifampicin-resistens och i promotorregionen av *katG*-genen och *inhA*-genen som är associerade med isoniazid-resistens i organismer i MTB-komplexet verifierades genom att testa odlingsstammar av rifampicin- och/eller isoniazid-resistenta MTB-komplex-stammar som innehöll följande 23 mutationer:

- Mutationer i *rpoB*-genen som är associerade med fenotypisk rifampicin-resistens:
 - L511P
 - Q513K, Q513L, Q513P
 - D516V, D516Y
 - S522L, S522Q
 - H526D, H526L, H526N, H526R, H526Y
 - S531L, S531W
 - L533P
- Mutationer i *katG*-genen och mutationer i promotorregionen av *inhA*-genen som är associerade med fenotypisk isoniazid-resistens:
 - *katG*-genen:
 - S315L, S315N, S315T, S315T2
 - Promotorregionen av *inhA*-genen:
 - T-8A, T-8C
 - C-15T

Samtliga mutationer detekterades vid 545 CFU/ml i prover med obehandlad sputum och vid 282 CFU/ml i prover med sputum- och BAL-sediment.

Inklusiviteten för två ytterligare mutationer i *rpoB*-genen som är associerade med rifampicin-resistens – S522W och D516G – verifierades genom att testa plasmider. Båda detekterades vid 77 kopior/ml.

Specificitet för vildtyp-MTB-komplexet

Den analytiska specificiteten för vildtyp-MTB-komplexet verifierades genom att testa 13 MTB-stammar vid höga koncentrationsnivåer ($\sim 1,00 \times 10^4$ CFU/ml) i obehandlad sputum och sputum- och BAL-sediment, och för följande MTB-komplexstammar vid låga koncentrationsnivåer ($\sim 3 \times \text{LoD}$) i sediment:

- *M. tuberculosis* (H37 ATCC® 25177™)
- *M. bovis* BCG (stam Tokyo 172 NIBSC 07/272 WHO och stam 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™)

Alla vildtyp-stammar genererade giltiga negativa resultat för RIF och INH.

Precision

Den interna precisionen granskades med hjälp av panelprover som bestod av en odlad mutant MTB-komplexstam, som innehöll mutationen S531L, den vanligast förekommande mutationen som är associerad med rifampicin-resistens (*rpoB*-genen), och mutationen S315T, den vanligast förekommande mutationen som är associerad med isoniazid-resistens (*katG*-genen), spädda i två poolade negativa kliniska matriser – obehandlad sputum och sputum-/BAL-sediment. Källor för variabilitet undersöktes med paneler bestående av tre koncentrationsnivåer (inklusive blankprover) med hjälp av tre loter av cobas® MTB-RIF/INH-reagens och två instrument under en tidsperiod på 12 dagar och vid totalt 24 körningar. En beskrivning av precisionspanelerna och de observerade positivitetsvärdena visas i Tabell 18. Alla negativa panelprover var negativa i testerna under hela studien. Analys av standardavvikelser och variationskoefficienter i procent för Ct-värdena från tester som utförts på positiva panelprover (se Tabell 19) gav totalt sett CV (%) i ett intervall från 1,8 % till 2,7 % för detektion av mutationer som är associerade med INH-resistens och från 1,5 % till 2,1 % för detektion av mutationer som är associerade med RIF-resistens.

Tabell 18 Sammanfattning av precision inom laboratoriet

Koncentration av target	Antal testade	Antal positiva	Positivitetsvärde	95-procentigt konfidensintervall	
				Nedre gräns	Övre gräns
M. tuberculosis – obehandlad sputum för RIF-target					
Negativa	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 för RIF-target					
Negativa	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 – obehandlad sputum för INH-target					
Negativa	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 för INH-target					
Negativa	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 19 Totala genomsnittliga standardavvikelser och variationskoefficienter (%) för cykeltröskelvärde, MTBC-positiva paneler

Koncentration av target	Positivitets värde	Medel Ct	Inom körning		Mellan körningar		Mellan dagar		Mellan instrument		Mellan loter		Totalt	
			SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
M. tuberculosis – obehandlad sputum för RIF-target														
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 för RIF-target														
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 – obehandlad sputum för INH-target														
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 för INH-target														
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 specificitet/korsreaktivitet

En panel med 145 bakterier, svampar och virus, inklusive sådana som normalt finns i luftvägarna, testades med **cobas**® MTB-RIF/INH för att bedöma den analytiska specificiteten och förmågan att detektera låga koncentrationer av mutant och vildtyp-MTB vid förekomst av andra organismer. Organismerna i listan i Tabell 20 spikades till koncentrationer på ungefär 1×10^6 enheter/ml för bakterier och ungefär 1×10^5 enheter/ml för virus. Testerna utfördes med varje potentiellt interfererande organism vid frånvaro och förekomst av mutant MTB-komplex-target (spikad till 282 CFU/ml) och MTB-komplex-target av vildtyp (spikad till 200 CFU/ml). Ingen av organismerna interfererade med testets prestanda genom att generera falskt positiva resultat. Detektion av låga koncentrationer av mutant MTB-komplex-target påverkades inte av de testade organismerna förutom *M. asiaticum*, *M. fuerth*, *M. intermedium*, *M. marseillense*, *M. peregrinum* och *M. szulgai* vid koncentrationsnivåer $> 1 \times 10^5$ CFU/ml, och *M. chubuense* vid koncentrationsnivåer $> 1 \times 10^4$ CFU/ml. Detektion av låga koncentrationer av MTB-komplex-target av vildtyp påverkades inte av de testade organismerna förutom *M. avium* subsp. *hominissuis*, *M. avium* subsp. *silvaticum*, *M. colombiense*, *M. gastri*, *M. lentiflavum* och *M. marinum* vid koncentrationsnivåer $> 1 \times 10^5$ CFU/ml, och *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, *M. bouchodurhonense* och *M. vulneris* vid koncentrationsnivåer $> 1 \times 10^4$ CFU/ml. Potentiell korsreaktivitet för *Histoplasma capsulatum*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium mantenii* och *Mycobacterium timonense* utvärderades *in silico*. Givet resultaten av *in silico*-analyserna bedöms sannolikheten som mycket låg för amplifiering och detektion av dessa organismer vid användning av **cobas**® MTB-RIF/INH.

Tabell 20 Mikroorganismer som testats för analytisk specificitet/korsreaktivitet

Mikroorganism	Koncentration	Mikroorganism	Koncentration
<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 kp/ml	<i>Mycobacterium indicus pranii</i>	1,0E+06 CFU/ml

Mikroorganism	Koncentration	Mikroorganism	Koncentration
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium intermedium</i>	1,0E+05 CFU/ml*
<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>Bacteroides 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 nonchromogecum</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> som producerar 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 immunbristvirus	1,0E+05 kp/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 parainfluenza typ 1	1,0E+05 U/ml	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	1,0E+06 CFU/ml
Humant parainfluenza typ 2	1,0E+05 U/ml	<i>Penicillium</i> spp.	1,0E+06 CFU/ml
Humant parainfluenza typ 3	1,0E+05 U/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1,0E+06 CFU/ml
Humant parainfluenza typ 4	1,0E+05 U/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1,0E+06 CFU/ml
Humant respiratoriskt syncytialvirus typ A	1,0E+05 U/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1,0E+06 CFU/ml
Humant respiratoriskt syncytialvirus typ 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> som producerar KPC-3 carbapenemase	1,0E+06 CFU/ml	<i>Rubellavirus</i>	1,0E+05 U/ml

Mikroorganism	Koncentration	Mikroorganism	Koncentration
<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
<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 bouchedurhonense</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 kp/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 vid vilken ingen interferens med detektion av *M. tuberculosis* observerades; testat även vid 1,0E+06 CFU/ml vilket visade interferens.

Interferens

Effekten av exogena substanser som potentiellt utsöndrats i luftvägsprover utvärderades (Tabell 21). Varje potentiellt interfererande substans testades vid eller över kliniskt relevanta nivåer i artificiella sputumprover vid frånvaro och förekomst av mutant MTB-komplex-target (spikad till 545 CFU/ml) och MTB-komplex-target av vildtyp (spikad till 200 CFU/ml).

Ingen av substanserna interfererade med testets prestanda genom att generera falskt negativa eller falskt positiva resultat. Ingen av substanserna interfererade med testets prestanda genom att generera ogiltiga/ej rapporterbara resultat, förutom Butterbur vid koncentrationsnivåer > 25 mg/ml.

Tabell 21 Lista över exogena substanser testade för interferens

Substans	Koncentration	Substans	Koncentration
Albuterolsulfat	0,5 µg/ml	Kanamycin-monosulfat	240 µg/ml
Amikacin	80,1 µg/ml	Levofloxacin	5 mg/ml
Amoxicillin	86,4 µg/ml	Lidokain HCl	1,2 % (vikt/volym)
Beklometason	3 459 pg/ml	Mentol	0,50 % (vikt/volym)
Bensokain	1,2 % (vikt/volym)	Metylsalicylat	0,06 % (volymprocent)
Budesonid	3 mg/ml	Mometason	100 µg/ml
Pestskräpextrakt	25 mg/ml*	Moxifloxacin	15 µg/ml
Kapreomycin	80 µg/ml	Mupirocin	0,05 % (vikt/volym)
Cetylpyridiniumklorid	0,5 % (vikt/volym)	NaCl	5 % (vikt/volym)
Klorhexidinglukonat	1 % (volymprocent)	Nikotin	1 µg/ml
Cycloserin	105 µg/ml	Nystatin	1 % (volymprocent)
Klaritromycin	20 µg/ml	Oxymetazolin	12 ng/ml
Dexametason	601 ng/ml	Pentamidin	1 366 ng/ml
Efedrinhydroklorid	1 mg/ml	Fenylefrin	5 mg/ml
Adrenalin	100 pg/ml	Prednisolon	3 µg/ml
Etambutol	50 µg/ml	Pyrazinamid	240 µg/ml
Etionamid	15 µg/ml	Rifampicin	25 µg/ml
Eukalyptol	0,002 % (volymprocent)	Brännässleextrakt (500 mg)	5 mg/ml
Flunisolid	400 µg/ml	Streptomycin	240 µg/ml
Flutikasonpropionat	5 µg/ml	Svavel	0,01 % (vikt/volym)
Formoterolfumaratdihydrat	66 µg/ml	Tea tree-olja	0,50 % (volymprocent)
Blodstillero (kapslar 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

* Högsta nivå vid vilken ingen interferens observerades

Endogena substanser som kan förekomma i luftvägsprover testades för interferens (Tabell 22). Varje potentiellt interfererande substans testades vid eller över kliniskt relevanta nivåer i artificiella sputumprover vid frånvaro och förekomst av mutant MTB-komplex-target (spikad till upp till 545 CFU/ml) och MTB-komplex-target av vildtyp (spikad till 200 CFU/ml).

Ingen av substanserna interfererade med testets prestanda genom att generera falskt negativa, falskt positiva eller ogiltiga/ej rapporterbara resultat.

Tabell 22 Lista över endogena substanser testade för interferens

Substans	Koncentration	Substans	Koncentration
Magsaft	10 % (volymprocent)	Mucin	5 % (vikt/volym)
Hemoglobin	2 g/l	Var	5 % (volymprocent)
Humant helblod	5 % (volymprocent)	Saliv	10 % (volymprocent)
hDNA	4 mg/l	-	-

Felfrekvens inom hela systemet

Proverna som testades i studien av felfrekvens inom hela systemet var artificiella sputum- och sputumsedimentprover spikade med en mutant MTB-komplexstam, som innehöll mutationen S531L, den vanligast förekommande mutationen som är associerad med rifampicin-resistens (*rpoB*-genen), och mutationen S315T, den vanligast förekommande mutationen som är associerad med isoniazid-resistens, (*katG*-genen) till en koncentration på ungefär $3 \times \text{LoD}$ för cobas® MTB-RIF/INH i respektive matris. Samtliga 100 testade replikat per provtyp var giltiga och positiva för MTB-komplex, vilket gav en felfrekvens inom hela systemet på 0,0 % med ett övre ensidigt 95-procentigt konfidensintervall på 3,0 %.

Korskontamination

Procenttalet för korskontamination mellan prover fastställdes till 0,0 % (0/240) när mycket högpositiva MTB-prover av vildtyp och negativa prover testades omväxlande under flera körningar med cobas® MTB. Testningen utfördes med artificiella sputumsedimentprover spikade med MTB-komplex-target vid 2×10^6 CFU/ml, en provkoncentration som genererade Ct-värden tidigare än i 95 % av proverna från infekterade patienter i populationen för avsedd användning.

Prestanda med kliniska prover

Prestandan hos cobas® MTB-RIF/INH med kliniska prover utvärderades genom att testa prospektivt insamlade och arkiverade prover (obehandlad sputum, och NALC-NaOH-behandlat sputumsediment) insamlade i Peru, Ukraina, Ryssland, Sydafrika och Uganda från personer som var minst 18 år gamla med presumtiv TB. Jämförelsetester sida vid sida med analysen Abbott RealTime MTB RIF/INH Resistance utfördes.

Resultaten visas i Tabell 23 och Tabell 24.

Tabell 23 Sensitivitet och specificitet för **cobas®** MTB-RIF/INH med kliniska prover – RIF-resistens

		Roche cobas® MTB-RIF/INH	Abbott RealTime MTB RIF/INH Resistance
Sensitivitet	Obehandlad 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	Kombinerade	139/143 97,2 % [93,0–99,2 %]	138/143 96,5 % [92,0–98,9 %]
Specificitet	Obehandlad sputum	331/338 97,9 % [95,8–99,2 %]	329/338 97,3 % [95,0–98,8 %]
Specificitet	Sediment	219/220 99,5 % [97,5–100 %]	219/220 99,5 % [97,5–100 %]
Specificitet	Kombinerade	550/558 98,6 % [97,2–99,4 %]	548/558 98,2 % [96,7–99,1 %]
Positivt prediktivt värde	Obehandlad sputum	116/123 94,3 % [88,6–97,7 %]	115/124 92,7 % [86,7–96,6 %]
Positivt prediktivt värde	Sediment	23/24 95,8 % [78,8–99,9 %]	23/24 95,8 % [78,8–99,9 %]
Positivt prediktivt värde	Kombinerade	139/147 94,5 % [89,5–97,6 %]	138/148 93,2 % [87,9–96,7 %]
Negativt prediktivt värde	Obehandlad sputum	331/335 98,8 % [97,0–99,7 %]	329/334 98,5 % [96,6–99,5 %]
Negativt prediktivt värde	Sediment	219/219 100 % [98,3–100 %]	219/219 100 % [98,3–100 %]
Negativt prediktivt värde	Kombinerade	550/554 99,3 % [98,3–99,8 %]	548/553 99,1 % [97,9–99,7 %]

Tabell 24 Sensitivitet och specificitet för **cobas®** MTB-RIF/INH med kliniska prover – INH-resistens

		Roche cobas® MTB-RIF/INH	Abbott RealTime MTB RIF/INH Resistance
Sensitivitet	Obehandlad 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	Kombinerade	185/191 96,9 % [93,3–98,8 %]	179/191 93,7 % [89,3–96,7 %]
Specificitet	Obehandlad sputum	297/299 99,3 % [97,6–99,9 %]	297/299 99,3 % [97,6–99,9 %]
Specificitet	Sediment	206/207 99,5 % [97,3–100 %]	206/207 99,5 % [97,3–100 %]
Specificitet	Kombinerade	503/506 99,4 % [98,3–99,9 %]	503/506 99,4 % [98,3–99,9 %]
Positivt prediktivt värde	Obehandlad sputum	150/152 98,7 % [95,3–99,8 %]	147/149 98,7 % [95,2–99,8 %]
Positivt prediktivt värde	Sediment	35/36 97,2 % [85,5–99,9 %]	32/33 97,0 % [84,2–99,9 %]
Positivt prediktivt värde	Kombinerade	185/188 98,4 % [95,4–99,7 %]	179/182 98,4 % [95,3–99,7 %]
Negativt prediktivt värde	Obehandlad sputum	297/301 98,7 % [96,6–99,7 %]	297/304 97,7 % [95,3–99,1 %]
Negativt prediktivt värde	Sediment	206/208 99,0 % [96,6–100 %]	206/211 97,6 % [94,6–99,2 %]
Negativt prediktivt värde	Kombinerade	503/509 98,8 % [97,5–99,6 %]	503/515 97,7 % [96,0–98,9 %]

Ytterligare information

Viktiga analyssegenskaper

Provtyper

- Obehandlad sputum
- NALC-NaOH-behandlat sputum- och BAL-sediment

Mängd prov som bearbetats

- $\geq 0,4$ ml patientprov behandlat med MIS i förhållandet 1:2 (total volym $\geq 1,2$ ml) krävs i provröret för obehandlad sputum; instrumentet bearbetar 0,85 ml
- $\geq 0,2$ ml patientprov behandlat med MIS i förhållandet 1:5 (total volym $\geq 1,2$ ml) krävs i provröret för sputum-/BAL-sediment; instrumentet bearbetar 0,85 ml

Symboler

Följande symboler används vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter.

Tabell 25 Symboler som används vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter

 Age/DOB	Ålder eller födelsedatum		Produkt ej avsedd för patientnära testning	 QS IU/PCR	QS IU per PCR-reaktion, använd antalet internationella enheter (IU) för QS per PCR-reaktion vid beräkning av resultaten.
 SW	Stödprogramvara		Produkt ej avsedd för självtestning	 SN	Serienummer
 Assigned Range [copies/mL]	Tilldelat intervall (kopior/mL)		Distributör (Obs! Det tillämpliga landet/regionen kan vara betecknat nedanför symbolen.)	 Site	Plats
 Assigned Range [IU/mL]	Tilldelat intervall (IU/mL)		Får ej återanvändas	 Procedure Standard	Standardprocedur
 EC REP	Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen		Kvinna	 STERILE EO	Steriliserad med etylenoxid
 BARCODE	Streckkodsdatablad		Endast för IVD-prestandautvärdering		Förvaras mörkt
 LOT	Partikod	 GTIN	GTIN-nummer		Temperaturgräns
	Biologisk risk		Importör	 TDF	Testdefinitionsfil
 REF	Katalognummer	 IVD	Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik		Denna sida upp
	CE-märkning om överensstämmelse: den här enheten uppfyller alla tillämpliga krav för CE-märkning av en medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik	 LLR	Lägre gräns för tilldelat intervall	 Procedure UltraSensitive	Ultrasensitiv procedur
 Collect Date	Provtagningsdatum		Man	 UDI	Unikt enhets-ID
	Se bruksanvisningen		Tillverkare	 ULR	Övre gräns för tilldelat intervall
	Innehåller tillräckligt med reagens för <n> analyser	 CONTROL -	Negativ kontroll	 Urine Fill Line	Urinfyllnadsnivå
 CONTENT	Utrustningen innehåller		Icke-steril	 Rx Only	För USA: Varning: Särskilda nationella regler kan gälla för försäljning av den här enheten.
 CONTROL	Kontroll		Patientens namn		Utgångsdatum
	Tillverkningsdatum		Patientnummer		
	Produkt för patientnära testning		Öppna här		
	Produkt för självtestning	 CONTROL +	Positiv kontroll		
		 QS copies / PCR	QS-kopior per PCR-reaktion, använd antalet QS-kopior per PCR-reaktion vid beräkning av resultaten.		

Teknisk support

Om du behöver teknisk support kontaktar du en representant från Roche via:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Tillverkare

Tabell 26 Tillverkare

Tillverkad i USA



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

Tillverkad i USA

Varumärken och patent

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

Copyright

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Referenser

1. Global tuberculosis report 2023. Geneva: World Health Organization; 2023. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
2. Sitthidet 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.

Revidering av dokumentet

Information om revidering av dokumentet	
Doc Rev. 2.0 05/2024	Riktlinjer för biosäkerhet har uppdaterats för anpassning till lokala regler, grammatiska korrigeringar har utförts, WHO-data/referens har uppdaterats. Symbolen för Rx Only har tagits bort från första sidan. Sidan med harmoniserade symboler har uppdaterats. Informationen "minst 18 år gamla" har flyttats från Testets begränsningar till Prestanda med kliniska prover. Varumärket cobas® har uppdaterats. Informationen om berörd myndighet har uppdaterats. Kontakta din representant från Roche vid eventuella frågor.
Doc Rev. 3.0 12/2024	Information om systemprogramversion 2.0 för systemen cobas® 6800/8800 har lagts till. Visning av exempelresultat på systemen cobas® 6800/8800 har uppdaterats med programversion 1.4 (Bild 5). P/N för förbrukningsmaterial har tagits bort, hänvisning till mer information om förbrukningsmaterial i användarassistansen till systemen cobas® 5800 och cobas® 6800/8800. Kontakta din representant från Roche vid eventuella frågor.

Sammanfattningen av säkerhets- och prestandarapporten finns på följande länk: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>