

cobas[®] MAI

Nukleinsyretest til brug på cobas[®] 5800/6800/8800 Systems

Til *in vitro*-diagnostik brug

cobas[®] MAI

P/N: 09040595190

Til brug på cobas[®] 5800 System

cobas[®] MAI Positive Control Kit

P/N: 09040609190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

Til brug på cobas[®] 6800/8800 Systems

cobas[®] MAI Positive Control Kit

P/N: 07544863190 eller
P/N: 09040609190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 07002238190 eller
P/N: 09051953190

Indholdsfortegnelse

Tilsigtet brug	4
Oversigt og forklaring af testen	4
Reagenser og materialer	7
cobas® MAI reagenser og kontroller	7
cobas omni-reagenser til prøveforberedelse	9
Krav til opbevaring og håndtering af reagenser	10
Krav til håndtering af reagenser for cobas® 5800 System	10
Krav til håndtering af reagenser for cobas® 6800/8800 Systems	11
Yderligere påkrævede materialer til cobas® 5800 System	12
Yderligere påkrævede materialer til cobas® 6800/8800 Systems	12
Påkrævede instrumenter og software	13
Krav til forholdsregler og håndtering	14
Advarsler og forholdsregler	14
Håndtering af reagenser	14
God laboratoriepraksis	15
Indsamling, transport og opbevaring af prøver	15
Prøver	15
Transport og opbevaring af prøver	16
Opbevaring af inaktiverede prøver	16
Brugsanvisning	16
Procedurebemærkninger	16
Behandling af rå sputumprøver	19
Behandling af sputum- og BAL-sedimenter	19
Sonikering af prøver	20
Kørsel af cobas® MAI på cobas® 5800 System	21
Kørsel af cobas® MAI på cobas® 6800/8800 Systems	23

Resultater	24
Kvalitetskontrol og validitet af resultater på cobas® 5800 System	24
Kontrolresultater på cobas® 5800 System	24
Kvalitetskontrol og validitet af resultater på cobas® 6800/8800 Systems	24
Fortolkning af resultater	25
Fortolkning af resultater på cobas® 5800 System	25
Fortolkning af resultater på cobas® 6800/8800 Systems	26
Begrænsninger ved procedurerne	27
Evaluering af performance	29
Vigtigste performance-egenskaber udført på cobas® 6800/8800 Systems	29
Inaktivering af prøver	29
Detektionsgrænse (LoD)	29
Inklusivitet	29
Præcision	30
Analytisk specificitet/krydsreaktivitet	31
Interferens	34
Systemfejlfrekvens	35
Krydskontaminering	35
Performance ved brug af kliniske prøver	35
Systemækvivalens/systemsammenligning	37
Yderligere oplysninger	38
Vigtige analysefunktioner	38
Symboler	39
Teknisk support	40
Producent	40
Varemærker og patenter	40
Copyright	40
Referencer	41
Dokumentrevision	42

Tilsigtet brug

cobas® MAI til brug på cobas® 5800/6800/8800 Systems er en automatiseret, kvalitativ *in vitro*-diagnostisk test, der bruger real-time PCR (*Polymerase Chain Reaction*) til direkte påvisning af og differentieren mellem *Mycobacterium avium* og *Mycobacterium intracellulare*-DNA i humane luftvejsprøver, herunder rå sputumprøver samt fordøjede og dekontaminerede (N-acetyl-L-cystein/NaOH [NALC-NaOH]-behandlede) sputumprøver og BAL-prøver (bronkoalveolær lavage). Denne test er beregnet til brug sammen med mykobakteriel dyrkning som en hjælp til diagnosticeringen af lungeinfektioner med *M. avium* og *M. intracellulare*.

Oversigt og forklaring af testen

Baggrund

M. avium og *M. intracellulare* er to nært beslægtede men særskilte arter af langsomt voksende ikke-tuberkuløse mykobakterier (NTM), som er medlemmer af *M. avium*-komplekset (MAC). NTM er andre mykobakterielle arter end *M. tuberculosis* og *M. leprae*. NTM er som regel fritlevende organismer, der findes overalt i miljøet.¹⁻⁴ De er fundet i overfladevand, postevand, jord, husdyr og vilde dyr, mælk og fødevarer. Selvom NTM kan kolonisere kroppens overflader og sekreter uden at forårsage sygdom, har de været forbundet med fire bestemte kliniske syndromer; lungeinfektioner (MAC, *M. kansasii* og *M. abscessus*), lymfeknudeinfektioner, som er almindelig blandt børn, (MAC, *M. scrofulaceum*, *M. malmoense*), dissemineret sygdom hos alvorligt immunkompromitterede patienter samt infektion i hud og blødt væv eller knogler og led som regel som en konsekvens af direkte inokulation.⁵

MAC omfatter for øjeblikket 12 arter af langsomt voksende mykobakterier, der er forbundet med miljøet og dyr: *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. chimaera*, *M. colombiense*, *M. arosiense*, *M. bouchodurhonense*, *M. marseillense*, *M. timonense*, *M. indicus pranii*, *M. mantenii*, *M. vulneris*, *M. yongonense*.^{6,7} Der er 28 serotyper af *M. avium* og *M. intracellulare*⁸, og *M. avium* består af 4 underarter: *M. avium* subsp. *avium*, *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, *M. avium* subsp. *hominissuis* og *M. avium* subsp. *silvaticum*.⁶ *M. avium* og *M. intracellulare* (MAI) er de to medlemmer af MAC, der hyppigst er forbundet med sygdom hos mennesker.⁵

MAI er primært lungepatogener, der ofte påvirker personer, som er immunkompromitterede (f.eks. patienter med AIDS, hårcelleleukæmi eller patienter, der modtager immunsupprimerende kemoterapi). MAI overføres via indånding i luftvejene og indtagelse i mave-tarm-kanalen. Der er ikke tegn på overførsel fra dyr til mennesker eller mellem mennesker, og det anses derfor for ikke-smitsomt. MAI-lungeinfektioner forbindes med kroniske lungesygdomme som f.eks. KOL, kronisk bronchitis, bronkiektasier, cystisk fibrose og lungekræft. MAI kan også forårsage osteomyelitis, tenosynovitis, synovitis, og dissemineret MAI-infektion kan involvere lymfeknuder, CNS, leveren, milten og knoglemarven. Kutan infektion opstår som regel via direkte inokulation. MAI er den hyppigste årsag til infektion med NTM hos patienter med AIDS. *M. avium* er skyld i mere end 95 % af tilfældene hos patienter med AIDS, som udvikler MAI-infektioner. *M. intracellulare* er skyld i 40 % af infektionerne hos immunkompetente patienter. MAI-lungesygdom viser som regel to typer af kliniske billeder enten som en apikal fibrokavitær lungesygdom eller som Lady Windermere-syndromet, der er forbundet med nodulære eller fibronodulære lungeinfiltrater og hoste hos ellers raske, tynde, ældre kvinder.

Forekomsten af NTM-sygdom er svær at fastslå, da NTM anses for at være ikke-smitsomt og derfor ikke rapporteres til offentlige sundhedsmyndigheder i mange lande. Den anslåede incidensrate er baseret på antallet af NTM-isolater, der rapporteres, og ser ud til at være ens i de fleste udviklede lande fra 1,0 til 1,8 tilfælde pr. 100.000 personer.^{5,9} I 2009 ansløges en undersøgelse i Oregon en årlig rate på 5,6 tilfælde af MAC-lungeinfektion pr. 100.000 indbyggere, hvor de fleste tilfælde (60 %) fandtes blandt kvinder.¹⁰ Det højeste antal DMAI-sager, der blev rapporteret i USA, var 37.000 i 1994, da AIDS-epidemien var på sit højeste, og forekomsten er faldet siden indførelsen af meget aktiv antiretroviral behandling. En overvågningsundersøgelse ansløges, at forekomsten af NTM-lungeinfektioner hos patienter uden HIV-infektion var 0,72-0,74 pr. 100.000 indbyggere i Frankrig fra 2001-2003.¹¹ Og i 2004 ansløges en tilsvarende undersøgelse i New Zealand, at forekomsten af NTM-sygdom var 1,92 pr. 100.000 indbyggere.¹²

Diagnosticeringen af MAI-lungeinfektion skal overvejes hos symptomatiske patienter med nodulære eller kavitære opaciteter på røntgenbilleder af brystet, eller en CT-scanning med høj opløsning, der viser multifokale bronkiektasier med flere små knuder, når infektion med MTB og andre relevante diagnoser er udelukket.⁵ AFB-smear og mykobakteriel dyrkning anbefales til diagnose. Diagnosticeringen kræver, at:

- (i) positive mykobakterielle dyrkninger fra mindst to separate ekspektorerede sputumprøver eller
- (ii) positive mykobakterielle dyrkningsresultater fra mindst én bronkial skylning eller lavage eller
- (iii) transbronkial eller anden lungebiopsi med mykobakterielle histopatologiske funktioner og positiv dyrkning fra biopsi, og en eller flere sputum eller bronkiale skylninger, der er opdyrkningspositive for MAC, bekræfter infektionen.⁵

NTM, herunder MAC, skal identificeres til artsniveau. Behandlingen involverer 2 eller 3 antimikrobielle førstelinjemidler i 12 måneder. Førstelinjebehandlingen omfatter makrolider (clarithromycin eller azithromycin), ethambutol og rifamyciner (rifampin), og den antimikrobielle andenlinjebehandling omfatter aminoglykosider (streptomycin eller amikacin). Det anbefales at foretage rutinemæssig test af modtageligheden for MAC-isolater for clarithromycin alene på grund af dårlig korrelation mellem in vitro-resultater og kliniske resultater for andre lægemidler.⁵

Den forventede diagnosticering af MAC-infektion kan fastslås på baggrund af både det kliniske billede og radiografiske fund og bekræftes af genfindning af organismen ved mykobakteriel dyrkning som beskrevet ovenfor⁵, men dyrkning er langsom og kan tage dage eller uger. Alternativt kan nukleinsyreamplifikationstest registrere og differentiere mellem *M. avium* og *M. intracellulare* direkte ud fra kliniske prøver inden for nogle timer for en hurtigere diagnose og påbegyndelsen af empirisk behandling. Det er dog nødvendigt at foretage fænotypisk test af lægemiddelmodtageligheden (DST) for at bekræfte effektiviteten af den empiriske behandling, og det kan tage flere dage eller uger, før der foreligger resultater efter isolation og identifikation af patogenerne afhængigt af metoden.

Forklaring af testen

cobas® MAI til brug på cobas® 5800/6800/8800 Systems er en automatisk, kvalitativ real-time PCR-test, som er udviklet til at detektere og differentiere mellem *Mycobacterium avium*- og *Mycobacterium intracellulare*-DNA i humane luftvejsprøver, herunder rå sputumprøver og fordøjede og dekontaminerede NALC-NaOH-behandlede sputum- og BAL-sedimenter. Den interne DNA-kontrol, der bruges til at overvåge hele prøveforberedelsen og PCR-amplifikationsprocessen, tilsættes i hver prøve under prøvebehandlingen i cobas® 5800/6800/8800 Systems. Derudover bruger testen en positiv kontrol med lav titer og en negativ kontrol.

Principper for proceduren

cobas® MAI er baseret på præanalytisk omdannelse af prøven til flydende form og inaktivering af mykobakterier efterfulgt af prøvesonikering og fuldt automatiseret prøveforberedelse (ekstrahering af nukleinsyre og oprensning) samt PCR-amplifikation og detektion. Omdannelsen af prøven til flydende form og inaktivering af mykobakterier sker samtidigt under prøveinkubation med **cobas**® Microbial Inactivation Solution (MIS). Sonikering af en flydende og inaktiveret prøve udføres, før prøven indsættes i **cobas**® 5800/6800/8800 Systems. **cobas**® 5800 System er udviklet som ét integreret instrument. **cobas**® 6800/8800 Systems består af prøveforsyningsmodulet, transfermodulet, processeringsmodulet og analysemodulet. Automatiseret dataadministration udføres ved hjælp af **cobas**® 5800 System- eller **cobas**® 6800/8800 Systems-softwaren, som tilknytter testresultater til alle test som positive, negative eller invalide. Resultaterne kan gennemses direkte på skærmen, eksporteres eller udskrives i en rapport.

Nukleinsyrer fra patientprøver, eksterne kontroller og tilsatte intern kontrol-DNA-molekyler (DNA-IC) ekstraheres samtidigt. Som opsummering, så frigøres bakteriel nukleinsyre af kemisk (MIS, **cobas omni** Lysis Reagent), enzymatisk (proteinase) og fysisk (sonikering) nedbrydning af bakterier. De frigivne nukleinsyrer binder sig til siliciumoverfladen på de tilsatte magnetiske glaspartikler. Ubundne stoffer og urenheder, som f.eks. denaturerede proteiner, cellerester og potentielle PCR-hæmmere, fjernes efterfølgende med vasketrin, og de oprensede nukleinsyrer elueres fra de magnetiske glaspartikler med elueringsbuffer ved forhøjet temperatur.

Selektiv amplifikation af target-nukleinsyre fra prøven opnås ved brug af en target-specifik forward og revers primer for *M. avium*-komplekset, som er udvalgt blandt de bedst konserverede områder i den pågældende target-organisme. MAC detekteres ved hjælp af et selektivt sæt primere, og *M. avium* samt *M. intracellulare* differentieres af to bestemte prober inden for amplifikationsområdet (16S rRNA-genet). Selektiv amplifikation af DNA IC opnås ved brug af sekvens-specifikke forward og reverse primere, som vælges for ikke at have nogen homologi med target-regionen for *M. avium*-komplekset. Der anvendes et termostabil DNA-polymerase-enzym til PCR-amplifikation. Target- og DNA-IC-sekvenserne amplificeres samtidigt ved hjælp af en universel PCR-amplifikationsprofil med foruddefinerede temperaturtrin og cyklusantal. Master mix'et indeholder deoxyuridintrifosfat (dUTP) i stedet for deoxythymidin-trifosfat (dTTP), som inkorporeres i det nyligt syntetiserede DNA (amplikon). Ethvert kontaminerende amplikon fra tidligere PCR-kørsler elimineres med AmpErase-enzymet, der er inkluderet i PCR master mix, ved opvarmning under den første termiske cyklus.¹³ Nyligt dannede amplikoner elimineres ikke, da AmpErase-enzymet inaktiveres, når det udsættes for temperaturer over 55 °C.

cobas® MAI master mixet indeholder én detektionsprobe hver for både *M. avium* og *M. intracellulare* og én for DNA-IC. De target-specifikke prober er mærket med forskellige fluorescerende rapportfarvestoffer, hvilket giver mulighed for samtidig detektion af *M. avium*-target, *M. intracellulare*-target og DNA-IC i tre forskellige target-kanaler.^{14,15} Når fluorescenssignalet ikke er bundet til target-sekvensen, undertrykkes det i de intakte prober af et quencherfarvestof. Under PCR-amplifikationstrinnet medfører hybridiseringen af proberne til den specifikke enkeltstrengede DNA-template en kløvning af proben vha. 5' til 3'-exonukleaseaktiviteten i DNA-polymerasen, hvilket forårsager separation af rapport- og quencherfarvestofferne, og derved generering af et fluorescenssignal. For hver PCR-cyklus genereres øgede mængder af kløvede prober, og det samlede signal fra rapportfarvestoffet forøges tilsvarende. Der opnås real-time detektion og diskrimination af PCR-produkter ved at måle fluorescensen i de frigivne rapportfarvestoffer for hhv. *M. avium*-kompleks targets og DNA-IC.

Reagenser og materialer

cobas® MAI reagenser og kontroller

De medfølgende materialer til cobas® MAI findes i Tabel 1. Alle uåbnede reagenser og kontroller skal opbevares som anbefalet i Tabel 1 til Tabel 4. Nødvendige men ikke medfølgende materialer findes i Tabel 2 til og med Tabel 4 samt Tabel 8 til og med Tabel 10.

Tabel 1 cobas® MAI

cobas® MAI

Opbevares ved 2-8 °C.

Kassette med 384 tests (P/N 09040595190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit
Proteinaseopløsning (PASE)	Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, kalciumklorid, kalciumacetat, 8 % proteinase, glycerol EUH210: Sikkerhedsdatablad kan på anmodning rekvireres. EUH208: Indeholder subtilisin fra <i>Bacillus subtilis</i> . Kan udløse allergisk reaktion.	38 ml
DNA intern kontrol (DNA-IC)	Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % ikke-MAI-relateret DNA-konstruktion, 0,002 % Poly rA RNA (syntetisk), < 0,1 % natriumazid	38 ml
Elueringsbuffer (EB)	Tris-buffer, 0,2 % methyl-4-hydroxybenzoat	38 ml
Master Mix-reagens 1 (MMX-R1)	Manganacetat, kaliumhydroxid, < 0,1 % natriumazid	14,5 ml
MAI Master Mix-reagens 2 (MAI MMX-R2)	Tricin-buffer, kaliumacetat, EDTA, glycerol, 18 % dimethylsulfoxid, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,1 % Tween 20, < 0,1 % natriumazid, < 0,1 % Z05 DNA-polymerase, < 0,1 % AmpErase-enzym (uracil-N-glycosylase) (mikrobielt), < 0,01 % intern kontrol forward og reverse primere, < 0,01 % upstream- og downstream-MAI-primere, < 0,01 % fluorescensmærkede oligonukleotide prober, der er specifikke for MAI og den interne DNA-kontrol, < 0,01 % oligonukleotid aptamer	17,5 ml

Tabel 2 cobas® MAI Positive Control Kit**cobas® MAI Positive Control Kit**

Opbevares ved 2-8 °C

Til brug på cobas® 5800 System (P/N 09040609190)

Til brug på cobas® 6800/8800 Systems (P/N 07544863190 eller P/N 09040609190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit
MAI Positive Control (MAI (+) C)	Tris-buffer, < 0,05 % natriumazid, < 0,05 % EDTA, 0,002 % Poly rA, < 0,01 % ikke-smitsomt plasmid-DNA (mikrobiel) indeholdende de genomiske sekvenser <i>M. avium</i> og <i>M. intracellulare</i>	16 ml (16 × 1 ml)

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

Opbevares ved 2-8 °C.


Til brug på cobas® 5800 System (P/N 09051953190)

Til brug på cobas® 6800/8800 Systems (P/N 07002238190 eller P/N 09051953190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit
cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)	Tris-buffer, < 0,1 % natriumazid, EDTA, 0,002 % Poly rA RNA (syntetisk)	16 ml (16 × 1 ml)

cobas omni-reagenser til prøveforberedelse

Tabel 4 cobas omni-reagenser til prøveforberedelse*

Reagenser	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Opbevares ved 2-8 °C (P/N 06997546190)	Magnetiske glaspartikler, tris-buffer, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat, < 0,1 % natriumazid	480 tests	Ikke relevant
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Opbevares ved 2-8 °C (P/N 06997511190)	Tris-buffer, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat, < 0,1 % natriumazid	4 × 875 ml	Ikke relevant
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Opbevares ved 2-8 °C (P/N 06997538190)	43 % (w/w) guanidin-thiocyanat***, 5 % (w/v) polidocanol***, 2 % (w/v) dithiothreitol***, natriumcitratdihydrat	4 × 875 ml	 <p>FARE</p> <p>H302: Farlig ved indtagelse. H314: Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader. H411: Giftig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. EUH032: Udvikler meget giftig gas ved kontakt med syre. EUH071: Ætsende for luftvejene. P273: Undgå udledning til miljøet. P280: Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjebeskyttelse/ansigtsbeskyttelse/høreværn. P303 + P361 + P353: VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsmudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand. P304 + P340 + P310: VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge. P305 + P351 + P338 + P310: VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge. P391: Udslip opsamles. 593-84-0 Guanidiniumthiocyanat 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutan-2,3-diol</p>
cobas omni Wash Reagent (WASH) Opbevares ved 15-30 °C (P/N 06997503190)	Natriumcitratdihydrat, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat	4,2 l	Ikke relevant

* Disse reagenser er ikke inkluderet i cobas® MAI-testkittet. Se listen over yderligere påkrævede materialer (Tabel 8 til Tabel 10).

** Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

*** Biologisk farlig substans eller blanding.

Krav til opbevaring og håndtering af reagenser

Reagenser skal opbevares og håndteres som angivet i Tabel 5, Tabel 6 og Tabel 7.

Når reagenserne ikke er indsat på cobas® 5800 System eller cobas® 6800/8800 Systems, skal de opbevares ved den temperatur, der er angivet i Tabel 5.

Tabel 5 Opbevaring af reagenser (når reagenset ikke er på systemet)

Reagens	Opbevaringstemperatur
cobas® MAI	2-8 °C
cobas® MAI Positive Control Kit	2-8 °C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2-8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2-8 °C
cobas omni MGP Reagent	2-8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2-8 °C
cobas omni Wash Reagent	15-30 °C

Krav til håndtering af reagenser for cobas® 5800 System

Reagenser, der er indsat på cobas® 5800 System, opbevares ved de relevante temperaturer, og deres udløbsdato overvåges af systemet. Systemet giver kun mulighed for brug af reagenserne, hvis alle de betingelser, der vist i Tabel 6, overholdes. Systemet forhindrer automatisk brugen af udløbne reagenser. Tabel 6 giver brugeren mulighed for at få et indblik i de betingelser for reagenshåndtering, der håndhæves af cobas® 5800 System.

Tabel 6 Udløbsbetingelser for reagenser som håndhævet af cobas® 5800 System

Reagens	Udløbsdato for kittet	Holdbarhed for åbent kit	Antal kørsler, som dette kit kan bruges i	Holdbarhed på systemet
cobas® MAI	Dato ikke overskredet	90 dage fra første brug	Maks. 40 kørsler	Maks. 36 dage ^b
cobas® MAI Positive Control Kit	Dato ikke overskredet	Ikke relevant ^a	Ikke relevant	Maks. 36 dage ^b
cobas® Buffer Negative Control Kit	Dato ikke overskredet	Ikke relevant ^a	Ikke relevant	Maks. 36 dage ^b
cobas omni Lysis Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning ^b	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni MGP Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning ^b	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni Specimen Diluent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning ^b	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni Wash Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning ^b	Ikke relevant	Ikke relevant

^a Reagenser til engangsbrug.

^b Tiden måles fra første gang, det pågældende reagens indsættes på cobas® 5800 System.

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

Reagenser, der er indsat på cobas® 6800/8800 Systems, opbevares ved de relevante temperaturer, og deres udløbsdato overvåges af systemet. cobas® 6800/8800 Systems giver kun mulighed for brug af reagenserne, hvis alle de betingelser, der er vist i Tabel 7, overholdes. Systemet forhindrer automatisk brugen af udløbne reagenser. Tabel 7 giver brugeren mulighed for at få et indblik i de betingelser for reagenshåndtering, der håndhæves af cobas® 6800/8800 Systems.

Tabel 7 Udløbsbetingelser for reagenser som håndhæves af cobas® 6800/8800 Systems

Reagens	Udløbsdato for kittet	Holdbarhed for åbent kit	Antal kørsler, som dette kit kan bruges i	Holdbarhed på systemet (samlet tid på systemet uden for køleskab)
cobas® MAI	Dato ikke overskredet	90 dage fra første brug	Maks. 40 kørsler	Maks. 40 timer
cobas® MAI Positive Control Kit	Dato ikke overskredet	Ikke relevant ^a	Ikke relevant	Maks. 10 timer
cobas® Buffer Negative Control Kit	Dato ikke overskredet	Ikke relevant ^a	Ikke relevant	Maks. 10 timer
cobas omni Lysis Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning ^b	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni MGP Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning ^b	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni Specimen Diluent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning ^b	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni Wash Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning ^b	Ikke relevant	Ikke relevant

^a Reagenser til engangsbrug.

^b Tiden måles fra første gang, det pågældende reagens indsættes på cobas® 6800/8800 Systems.

Yderligere påkrævede materialer til cobas® 5800 System

Tabel 8 Materialer og forbrugsartikler til brug på cobas® 5800 System

Materiale	P/N
cobas omni Processing Plate 24	08413975001
cobas omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Tip CORE TIPS with Filter, 1 ml	04639642001
Tip CORE TIPS with Filter, 300 µl	07345607001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Pose til fast affald eller Pose til fast affald med indsats	07435967001 eller 08030073001

Yderligere påkrævede materialer til cobas® 6800/8800 Systems

Tabel 9 Materialer og forbrugsartikler til brug på cobas® 6800/8800 Systems

Materiale	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Pose til fast affald og beholder til fast affald eller Pose til fast affald med indsats og kitskuffe til fast affald – opdateret version	07435967001 og 07094361001 eller 08030073001 og 08387281001

Tabel 10 Andre materialer og forbrugsartikler, der kræves til den præanalytiske arbejdsgang

Materialer
cobas® Microbial Inactivation Solution (P/N 08185476001)
Rørsonikator TS 5 (Rinco Ultrasonics AG – P/N 46690)
5 ml-polypropylenrør med skruelåg 75 × 13 mm, rundbundet (Sarstedt-rør P/N 60.504.010, skruelåg P/N 65.163)*
MPA RACK 13 MM LIGHT GREEN 7001-7050 (Roche – P/N 03118878001 eller tilsvarende)**
Centrifuge (RCF kan begrænses til maks. 3.000 × g, kompatibel med 75 × 13 mm-rør med skruelåg)
Vortex-mixer
Termostabile barkodemærkater (OPAL Associates AG, P/N 20300824 TR PE-Folie Pharma eller tilsvarende)***

* Brug af andre rør end dem, der er anbefalet ovenfor, skal godkendes af brugeren før implementering i cobas® MAI-arbejdsgangen i laboratoriet.

** Der kræves MPA 13 mm-racks for at køre rørsonikatoren TS 5. Kontakt den lokale Roche-repræsentant for at få en detaljeret ordreliste over tilsvarende prøveracks i andre farver eller numre. Bemærk, at RD5-racks ikke er kompatible med rørsonikator TS 5.

*** Få yderligere oplysninger om barkodespecifikationer i brugerassistancen og/eller brugervejledningen til cobas® 6800/8800 Systems. Brug af andre barkodemærkater end dem, der er anbefalet ovenfor, skal godkendes af brugeren før implementering i cobas® MAI-arbejdsgangen i laboratoriet. Kontakt din lokale Roche-repræsentant for at få yderligere oplysninger om kompatible barkodemærkater og forslag til bekræftelse af kompatibilitet. Brugen af ikke-kompatible barkodemærkater kan medføre rørbeskadigelse under sonikering og efterfølgende kontaminering af instrumentet.

Påkrævede instrumenter og software

cobas® 5800-softwaren og cobas® MAI-analysepakken til cobas® 5800 System skal installeres på cobas® 5800-instrumentet. Data Manager-softwaren og pc'en til cobas® 5800 System følger med systemet.

cobas® 6800/8800 System-softwaren og cobas® MAI-analysepakken til brug på cobas® 6800/8800 System skal være installeret på cobas® 6800/8800-instrumentet/-instrumenterne. IG-serveren (Instrument Gateway-serveren) følger med systemet.

Tabel 11 Instrumenter

Udstyr	P/N
cobas® 5800 System	08707464001
cobas® 6800 System (flytbar systemopsætning)	06379672001
cobas® 6800 System (fast)	05524245001
cobas® 8800 System	05412722001
Prøveforsyningsmodul	06301037001

Se brugerassistancen og/eller brugervejledningen til cobas® 5800 System eller cobas® 6800/8800 Systems for at få yderligere oplysninger.

Krav til forholdsregler og håndtering

Advarsler og forholdsregler

Som ved alle testprocedurer er det vigtigt med god laboratoriepraksis, for at analysen skal kunne fungere korrekt. På grund af testens høje sensitivitet skal man være omhyggelig med at undgå, at reagenser og amplifikationsblandinger kontamineres.

- Kun til *in vitro*-diagnostik brug.
- Alle patientprøver skal anses for at være potentielt smittefarlige. Derfor skal alle biologiske prøver håndteres som smittefarlige ved hjælp af god laboratorietechnik og med en relevant risikovurdering som beskrevet i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, i CLSI-dokumentet M29-A4 og i Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual fra WHO.¹⁶⁻¹⁸ Denne procedure må kun udføres af medarbejdere, der er uddannet i brugen af cobas® MAI og cobas® 5800/6800/8800 Systems.
- Alle medarbejdere skal bære beskyttelsesudstyr, herunder arbejdstøj, engangshandsker samt beskyttelsesbriller og åndedrætsværn i henhold til institutionens sikkerhedsprocedurer og praksis, og de skal følge institutionens sikkerhedsprocedurer for arbejde med kemikalier og biologiske prøver.
- Omdannelse af prøver til flydende form og inaktivering af mykobakterier med MIS skal udføres i et biologisk sikkerhedskabinet (BSC) på biologisk beskyttelsesniveau B3¹⁸ i overensstemmelse med de lokale og institutionens retningslinjer¹⁶ eller bestemmelser og baseres på en relevant risikovurdering.
- En vellykket inaktivering af mykobakterier afhænger af overholdelse af de procedurer, der er beskrevet i dette dokument, samt en fuldstændig blanding af prøven med MIS. Præanalytisk behandling af patientprøver via MIS reducerer men kan ikke helt udrydde risikoen for mykobakteriel infektion.
- Hvis der forekommer spildt materiale i MIS (som indeholder guanidiniumthiocyanat), må det ikke komme i kontakt med natriumhypoklorit, der indeholder desinfektionsmidler som f.eks. blegemiddel. Denne blanding kan danne en meget giftig gas.
- Hvis der spildes prøver i MIS, skal man FØRST rengøre med et passende laboratorierengøringsmiddel og vand og derefter med 70 % ethanol.
- MIS er lysfølsomt og sendes i lysbeskyttende flasker. MIS skal opbevares oprejst.
- Brug kun medfølgende eller specificerede forbrugsartikler for at sikre den etablerede testperformance.
- Følg de angivne procedurer og retningslinjer nøje, så testen udføres korrekt. Eventuelle afvigelser fra procedurerne og retningslinjerne kan påvirke den etablerede testperformance.
- Der kan forekomme falsk-positive resultater, hvis krydskontaminering af prøver ikke kontrolleres tilstrækkeligt under håndtering og behandling af prøver.
- Der kan rekvireres sikkerhedsdatablade (SDS'er) ved henvendelse til den lokale Roche-repræsentant.
- Informer den lokale kompetente myndighed om eventuelle alvorlige hændelser, der kan opstå ved brug af denne analyse.

Håndtering af reagenser

- Håndter alle reagenser, kontroller og prøver i overensstemmelse med god laboratoriepraksis for at undgå krydskontaminering af prøver, reagenser eller kontroller.
- Inspicer hver reagenskassette, diluent, lysisreagens og vaskereagens visuelt før brug for at sikre, at der ikke er tegn på utætheder. Materialet må ikke anvendes til test, hvis der er tegn på utætheder.

- **cobas omni** Lysis Reagent og MIS indeholder guanidiniumthiocyanat, et potentielt farligt kemikalie. Undgå, at hud, øjne og slimhinder kommer i kontakt med reagenser. Ved kontakt skylles straks med rigelige mængder vand. Ellers kan der opstå ætsninger.
- **cobas omni** Lysis Reagent eller MIS, som indeholder guanidiniumthiocyanat, må ikke komme i kontakt med en natriumhypokloritopløsning (blegemiddel). Denne blanding kan danne en meget giftig gas.
- Anvendte kontrolkit indeholder brudte beholdere med reagensrester. Man skal udvise særlig omhyggelighed ved bortskaffelse for at undgå, at der spildes reagens, eller at man kommer i kontakt med reagens.
- **cobas**® MAI, **cobas**® MAI Positive Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent og **cobas omni** Specimen Diluent indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Undgå, at hud, øjne og slimhinder kommer i kontakt med reagenser. Ved kontakt skylles straks med rigelige mængder vand. Ellers kan der opstå ætsninger. Hvis disse reagenser spildes, fortyndes der med vand, før de tørres op.
- Alt materiale, der har været i kontakt med prøver og reagenser, skal bortskaffes i overensstemmelse med nationale, regionale og lokale bestemmelser.

God laboratoriepraksis

- Brug ikke mundpipettering.
- Der må ikke spises, drikkes eller ryges i de angivne arbejdsområder.
- Inaktivering af prøver med MIS skal udføres i et biologisk sikkerhedskabinet (BSC) på biologisk beskyttelsesniveau B3¹⁸ eller et andet miljø med biologisk sikkerhed i overensstemmelse med de lokale og institutionens retningslinjer¹⁶ eller bestemmelser og baseres på en relevant risikovurdering.
- Anvend beskyttelseshandsker, særligt arbejdstøj og beskyttelsesbriller samt åndedrætsværn ved håndtering af prøver og reagenser i henhold til institutionens retningslinjer. Undgå at kontaminere handsker ved håndtering af prøver og kontroller. Handskerne skal skiftes mellem håndtering af prøver og **cobas**® MAI, **cobas**® MAI Positive Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, **cobas omni**-reagenser og forbrugsmaterialer for at forhindre kontaminering.
- Desinficer og vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og reagenser og efter at have taget handskerne af.
- Rengør og desinficer alle arbejdsflader i laboratoriet grundigt med en nyfremstillet 0,6 % opløsning af natrium- eller kaliumhypoklorit i destilleret eller deioniseret vand. Tør overfladen efter med 70 % ethanol.
- Hvis der spildes materiale på **cobas**® 5800/6800/8800 Systems, skal anvisningerne i brugervejledningerne og/eller brugerassistancen til **cobas**® 5800 eller **cobas**® 6800/8800 Systems følges for korrekt rengøring og dekontaminering af instrumentoverfladerne.

Indsamling, transport og opbevaring af prøver

Bemærk! Alle prøver og kontroller skal håndteres som potentielt smittefarlige.

Prøver

Rå sputumprøver samt NALC-NaOH-behandlede sputum- og BAL-sedimenter kan bruges sammen med **cobas**® MAI.

Transport og opbevaring af prøver

Rå sputumprøver kan opbevares og/eller transporteres i op til 3 dage ved 2 °C til 35 °C efterfulgt af op til 7 dage ved 2 °C til 8 °C, før prøven gøres flydende og inaktiveres via MIS. Ved længere tids opbevaring af MIS-ubehandlede rå sputumprøver anbefales temperaturer på ≤ -20 °C.

NALC-NaOH-behandlede sputum- og BAL-sedimentprøver kan opbevares i op til 7 dage ved 2 °C til 8 °C før inaktivering af prøven via MIS. Ved længere tids opbevaring af MIS-ubehandlede sputum- og BAL-sedimenter kan prøver opbevares nedfrosset ved temperaturer på ≤ -20 °C i op til 9 måneder inklusive to nedfrysninger/optøninger.

Hvis prøverne skal sendes, skal de pakkes og mærkes i overensstemmelse med de gældende nationale og/eller internationale bestemmelser for transport af smitsomme prøver og ætiologiske stoffer.

Opbevaring af inaktiverede prøver

Rå sputum- og NALC-NaOH-behandlede sputum- og BAL-sedimentprøver, der er behandlet med MIS (inaktiveret), kan opbevares i op til 12 timer ved 15 °C til 35 °C, efterfulgt af op til 7 dage ved 2 °C til 8 °C og 30 dage ved ≤ -20 °C inklusive to nedfrysninger/optøninger før behandling i **cobas**® 5800/6800/8800 Systems.

Bemærk! MIS-behandlede prøver vil muligvis ikke fryse til på grund af det høje indhold af isopropanol.

Bemærk! Sonikering af prøver kan udføres til enhver tid efter en indledende inkubation med MIS i mindst 60 minutter. Se afsnittet "Sonikering af prøver" for at få flere oplysninger.

Brugsanvisning

Procedurebemærkninger











- Brug ikke **cobas**® MAI, **cobas**® MAI Positive Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, MIS eller **cobas omni**-reagenser efter deres udløbsdatoer.
- Genanvend ikke forbrugsartikler. De er kun beregnet til engangsbrug.
- Sørg for, at termostabile barkodemærkater på prøverør er rettet mod og synlige gennem slidserne øverst på siden af MPA-prøveracksene. Se figur 1 og brugerassistancen og/eller brugervejledningen til **cobas**® 5800/6800/8800 Systems for at få oplysninger om de korrekte barkodespecifikationer og yderligere oplysninger om indsætning af prøverørene.
- Sørg for, at prøverørene er uden låg efter sonikering og før indsætning i **cobas**® 5800/6800/8800 Systems.
- Se brugervejledningen og/eller brugerassistancen til **cobas**® 5800/6800/8800 Systems for at få oplysninger om korrekt vedligeholdelse af instrumenterne.

Før kørsel af MAI i **cobas**® 5800/6800/8800 Systems skal prøverne behandles i henhold til følgende afsnit: "Behandling af rå sputumprøver" eller "Behandling af sputum- og BAL-sedimenter" og "Sonikering af prøver". Forkortede repræsentative arbejdsgange er opsummeret i Tabel 12 for rå sputumprøver og i Tabel 13 for sedimentprøver. Se de efterfølgende afsnit for at få yderligere oplysninger.











Bemærk! Inaktivering af prøver med MIS skal udføres i et biologisk sikkerhedskabinet (BSC) på biologisk beskyttelsesniveau B3¹⁸ eller efter andre biologiske sikkerhedsforanstaltninger i overensstemmelse med de lokale og institutionens retningslinjer eller bestemmelser og baseres på en relevant risikovurdering.

Bemærk! Sonikering af MIS-behandlede prøver kan udføres i et BSL-2-laboratorium eller et andet miljø med biologisk sikkerhedskontrol i henhold til lokale og institutionelle retningslinjer eller regler.

Tabel 12 Oversigt over arbejdsgang – Rå sputumprøver

BSL-3 (BSC)	1				Tilføj 2 dele MIS til 1 del rå sputum
	2		30-60 sekunder		Ryst prøven kraftigt, eller bland den på en vortex-mixer i 30-60 sekunder
	3		≥ 60 minutter		Inkuber prøven i mindst 60 minutter ved 15-30 °C (stuetemperatur)
	4		30-60 sekunder		Ryst prøven kraftigt, eller bland den på en vortex-mixer i 30-60 sekunder
	5		1,2 ml til 1 test 2,4 ml til 2 test 3,6 ml til 3 test		Overfør 1,2 til 3,6 ml MIS-behandlet prøve til et sekundært rør med skruelåg
BSL-2	6		5 minutter		Soniker den MIS-behandlede prøve
	7		Maks. 1 minut		Centrifuger prøven i højst 1 minut ved maksimalt RCF på 3.000 × g
	8				Indsæt prøven uden låg i cobas ® 5800 eller cobas ® 6800/8800 Systems, og start kørslen som en rå sputumprøvetype

Tabel 13 Oversigt over arbejdsgang – Sedimentprøvetype

BSL-3 (BSC)	1		0,2 ml til 1 test 0,4 ml til 2 test 0,6 ml til 3 test	Bland i en vortex-mixer, og overfør 0,2 til 0,6 ml sedimentprøve til et sekundært rør med skruelåg
	2		 	Tilføj 5 dele MIS til 1 del sedimentprøve <ul style="list-style-type: none"> • 1 ml MIS til 1 test (0,2 ml sedimentprøve) • 2 ml MIS til 2 test (0,4 ml sedimentprøve) • 3 ml MIS til 3 test (0,6 ml sedimentprøve)
	3		30-60 sekunder	Ryst prøven kraftigt, eller bland den på en vortex-mixer i 30-60 sekunder
	4		≥ 60 minutter	Inkuber prøven i mindst 60 minutter ved 15-30 °C (stuetemperatur).
	5		30-60 sekunder	Ryst prøven kraftigt, eller bland den på en vortex-mixer i 30-60 sekunder
BSL-2	6		5 minutter	Soniker den MIS-behandlede prøve
	7		Maks. 1 minut	Centrifuger prøven i højst 1 minut ved maksimalt RCF på 3.000 × g
	8			Indsæt prøven uden låg i cobas ® 5800 eller cobas ® 6800/8800 Systems, og start kørslen som en sedimentprøve

Behandling af rå sputumprøver

- Bekræft, at beholderen til rå sputum er korrekt mærket og indeholder mindst 0,4 ml sputum. Hvis den opbevares nedfrosset, skal prøven optøs til den omgivende temperatur.
- Vend MIS-flaskerne to til fire gange før brug.
- Åbn sputumbeholderen, og tilsæt ca. to dele MIS til en del sputumprøve (f.eks. 2 ml MIS til 1 ml sputumprøve) ved hjælp af en visuel volumenestimering og en engangspipette. Luk sputumbeholderen tæt til.
- Luk MIS-flaskerne straks efter brug.
- Ryst prøven kraftigt, eller bland den på en vortex-mixer i 30-60 sekunder.

Bemærk! Sørg for, at hele sputumprøven blandes med MIS.

- Inkuber prøven i mindst 60 minutter ved 15-30 °C (stuetemperatur).

Bemærk! Se de maksimale opbevaringsbetingelser i afsnittet "Opbevaring af inaktiverede prøver".

- Ryst prøven kraftigt, eller bland den på en vortex-mixer i 30-60 sekunder, eller indtil prøven er fuldstændigt homogeniseret.
- Overfør mindst 1,2 ml og højst 3,6 ml MIS-behandlet sputumprøve i et termostabilt barkodemærket 5 ml polypropylenrør med skruelåg 75 × 13 mm, rundbundet (Sarstedt-rør P/N 60.504.010, låg P/N 65.163). Luk låget godt til.

Bemærk! Før prøveoverførslen skal man bekræfte, at barkodeoplysningerne på sputumbeholderen og det sekundære 5 ml-rør stemmer overens.

Bemærk! Se Tabel 14.

- Soniker den inaktiverede prøve i henhold til afsnittet "Sonikering af prøver" før kørsel af cobas® MAI.

Behandling af sputum- og BAL-sedimenter

- Bekræft, at beholderen til NALC-NaOH-behandlet sputum- og BAL-sediment er korrekt mærket og indeholder mindst 0,2 ml prøve. Hvis den opbevares nedfrosset, skal prøven optøs til den omgivende temperatur.
- Bland prøverne på en vortex-mixer i mindst 10 sekunder.
- Overfør mindst 0,2 ml og højst 0,6 ml af sedimentprøven til et barkodemærket 5 ml-polypropylenrør med skruelåg 75 × 13 mm, rundbundet (Sarstedt-rør P/N 60.504.010, låg P/N 65.163).

Bemærk! Før prøveoverførslen skal man bekræfte, at barkodeoplysningerne på prøvebeholderen og det sekundære 5 ml-rør stemmer overens.

- Vend MIS-flaskerne to til fire gange før brug.
- Tilsæt fem dele MIS til en del prøve (f.eks. 1 ml MIS til 0,2 ml prøve). Luk røret omhyggeligt.

Bemærk! Se Tabel 14.

- Luk MIS-flaskerne straks efter brug.
- Ryst prøven kraftigt 10 til 20 gange, eller bland den på en vortex-mixer i 30-60 sekunder.

Bemærk! Sørg for, at hele prøven blandes med MIS.

- Inkuber prøven i mindst 60 minutter ved 15-30 °C (stuetemperatur).

Bemærk! Se de maksimale opbevaringsbetingelser i afsnittet "Opbevaring af inaktiverede prøver".

- Ryst prøven kraftigt, eller bland den på en vortex-mixer i 30-60 sekunder.
- Soniker den inaktiverede prøve i henhold til afsnittet "Sonikering af prøver" før kørsel af cobas® MAI.

Tabel 14 cobas® krav til mikrobiel inaktiveret opløsningsbehandlet prøvevolumen for kørsel af cobas® MAI

Antal test, der skal udføres fra det sekundære rør	Påkrævet minimummængde af MIS-behandlet prøve	Tilladt maksimummængde af MIS-behandlet prøve
1 testordre	1,2 ml	3,6 ml
2 testordrer*	2,4 ml	3,6 ml
3 testordrer*	3,6 ml	3,6 ml

* Kan anvendes til behandling i blandede batchkørsler med andre cobas® 5800/6800/8800-analyser med den samme prøvetype eller til gentagen testning.

Sonikering af prøver

- Sonikering af prøver til kørsel af cobas® MAI skal udføres ved hjælp af rørsnikator i form af en TS 5-enhed fra Rinco Ultrasonics AG (P/N 46690). Brugen af andre sonikeringsenheder kan medføre falsk-positive, falsk-negative og/eller invalide resultater. Betjeningen af sonikatoren er beskrevet i detaljer i producentens brugervejledning.
- Placer fem barkodemærkede rør med lukkede skruelåg på og 1,2 ml til 3,6 ml MIS-behandlet prøve i et MPA-rack.

Bemærk! Sørg for, at termostabile barkodemærkater på prøverør er rettet mod og synlige gennem slidserne øverst på siden af MPA-prøveracksene (se Figur 1).

Bemærk! Sørg for, at røret er barkodemærket.

Bemærk! Sørg for, at alle fem rørpositioner i MPA-racket er fyldte. Hvis der er mindre end fem tilgængelige rør med MIS-behandlet prøve, skal de resterende positioner udfyldes med vandfyldte eller MIS-fyldte "dummy"-rør af samme rørtype og en strekkodemærkat.

Figur 1 Korrekt placering af prøverør i MPA-racket før sonikering



- Start rørsnikatoren.
- Vælg den foruddefinerede sonikeringsprofil "Respiratory Samples".
- Åbn rørsnikatorenheden, og indsæt MPA-racket i henhold til producentens anvisninger.
- Luk rørsnikatoren.
- Start sonikeringskørslen.
- Bekræft, at sonikeringskørslen blev udført, og fjern MPA-racket.
 - **Bemærk!** Prøverørene opvarmes under sonikeringskørslen. Udvis forsigtighed ved fjernelse af MPA-racket med prøverør.
 - **Bemærk!** I tilfælde af en sonikeringsfejl skal man følge producentens anvisninger, afhjælpe årsagen og gentage sonikeringskørslen, efter at prøverne har kølet ned i mindst 15 minutter.
- MIS-behandlede og sonikerede prøver kan nu køres med cobas® MAI eller opbevares i henhold til afsnittet "Opbevaring af inaktiverede prøver".

Kørsel af cobas® MAI på cobas® 5800 System

cobas® MAI kan køres med en minimumsprøvevolumen på 1,2 ml, hvoraf 850 µl processeres. Testproceduren er beskrevet i detaljer i brugervejledningen og/eller brugerassistancen til cobas® 5800 System. Figur 2 nedenfor opsummerer proceduren.

- Før aftagning af lågene og indsættelse af prøverne i cobas® 5800 System anbefales det at pelletere celle- og matrixpartikler ved prøvecentrifugering i højst 1 minut ved maksimalt RCF på $3.000 \times g$.
- En enkelt kørsel kan bestå af en hvilken som helst kombination af prøver (rå sputumprøver, sedimentprøver).

Bemærk! Bland prøver på en vortex-mixer i mindst 10 sekunder, hvis prøverne har været opbevaret i mere end 1 time efter sonikering og før centrifugering.

Bemærk! Udeladelse af centrifugeringstrinnet kan medføre en øget frekvens af clotdannelse i prøver i cobas® 5800 System.

Figur 2 cobas® MAI-testproceduren på cobas® 5800 System

1	Log på systemet
2	Indsættelse af prøver i systemet <ul style="list-style-type: none">• Tag låget af røret• Overfør røret direkte til racket• Indsæt prøveracks i systemet• Systemet forberedes automatisk• Bestil test<ul style="list-style-type: none">• Vælg "Raw sputum" for at bestille MIS-behandlede rå sputumprøver• Vælg "Sediment" for at bestille MIS-behandlede sputum-/BAL-sedimentprøver
3	Genopfyld reagenser og forbrugsartikler som angivet af systemet <ul style="list-style-type: none">• Indsæt de(n) testspecifikke reagenskassette(r)• Indsæt miniracks til kontroller• Indsæt processeringsspidsler• Indsæt elueringsspidsler• Indsæt processeringsplader• Indsæt plader til flydende affald• Indsæt amplifikationsplader• Indsæt MGP-kassette• Genopfyld prøvediluent• Genopfyld lysisreagens• Genopfyld vaskereagens
4	Start kørslen ved at vælge knappen til "Start processing" i brugerinterfacet. Alle efterfølgende kørsler starter automatisk, hvis de ikke udsættes manuelt
5	Gennemse og eksportér resultater
6	Fjern og sæt om nødvendigt låg på de prøverør, der opfylder den påkrævede mindstevolumen, til fremtidig brug Rengør instrumentet <ul style="list-style-type: none">• Udtag tomme miniracks til kontroller• Udtag tom(me) testspecifik(ke) reagenskassette(r)• Tøm plastikbeholder med amplifikationsplader• Tøm flydende affald• Tøm fast affald

Kørsel af cobas® MAI på cobas® 6800/8800 Systems

cobas® MAI kan køres med en minimumsprøvevolumen på 1,2 ml, hvoraf 850 µl processeres. Betjeningen af instrumentet er beskrevet i detaljer i brugerassistancen og/eller brugervejledningen til cobas® 6800/8800 Systems. Figur 3 nedenfor opsummerer proceduren.

- Før aftagning af lågene og indsættelse af prøverne i cobas® 6800/8800 Systems anbefales det at pelletere celle- og matrixpartikler ved prøvecentrifugering i højst 1 minut ved maksimalt RCF på $3.000 \times g$.
- En enkelt kørsel kan bestå af en hvilken som helst kombination af prøver (rå sputumprøver, sedimentprøver).

Bemærk! Bland prøver på en vortex-mixer i mindst 10 sekunder, hvis prøverne har været opbevaret i mere end 1 time efter sonikering og før centrifugering.

Bemærk! Udeladelse af centrifugeringstrinnet kan medføre en øget frekvens af clotdannelse i prøver i cobas® 6800/8800 Systems.

Figur 3 cobas® MAI-testproceduren på cobas® 6800/8800 Systems

1	<p>Log på systemet Tryk på Start for at forberede systemet Bestil test</p> <ul style="list-style-type: none"> • Vælg "Raw sputum" for at bestille MIS-behandlede rå sputumprøver • Vælg "Sediment" for at bestille MIS-behandlede sputum-/BAL-sedimentprøver
2	<p>Genopfyld reagenser og forbrugsartikler som angivet af systemet</p> <ul style="list-style-type: none"> • Indsæt den testspecifikke reagenskassette • Indsæt kontrolkassetter • Indsæt pipettespidser • Indsæt processeringsplader • Indsæt MGP-reagens • Indsæt amplifikationsplader • Genopfyld prøvediluent • Genopfyld lysisreagens • Genopfyld vaskereagens
3	<p>Indsættelse af prøver i systemet</p> <ul style="list-style-type: none"> • For hver prøve <ul style="list-style-type: none"> ◦ Tag låget af røret ◦ Overfør røret til racket • Indsæt prøveracket og rackene til clot-spidser i prøvforsyningsmodulet • Bekræft, at prøverne er blevet accepteret i transfermodulet
4	Start kørsel
5	Gennemse og eksportér resultater
6	<p>Fjern og sæt om nødvendigt låg på de prøverør, der opfylder den påkrævede mindstevolumen, til fremtidig brug</p> <p>Rengør instrumentet</p> <ul style="list-style-type: none"> • Udtag tomme kontrolkassetter • Tøm plastikbeholder med amplifikationsplader • Tøm flydende affald • Tøm fast affald

Resultater

cobas® MAI detekterer og differentierer automatisk mellem *M. avium*- og *M. intracellulare*-DNA for prøver og kontroller samt viser validiteten af testen og individuelle target-resultater.

Kvalitetskontrol og validitet af resultater på cobas® 5800 System

- Der skal analyseres én negativ kontrol [(-) Ctrl] og én positiv kontrol [MAI (+) C] mindst hver 72. time og med hvert nyt kitlot. Positive og/eller negative kontroller kan planlægges til at udføres oftere på baggrund af laboratorieprocedurer og/eller lokale bestemmelser.
- I cobas® 5800-softwaren og/eller -rapporten kontrolleres for markeringer og deres tilhørende resultater for at sikre validiteten af resultaterne.

Resultater erklæres automatisk invalide af cobas® 5800-softwaren på baggrund af fejl i negative eller positive kontroller.

Bemærk! cobas® 5800 System leveres med standardindstillingen til kørsel af et sæt kontroller (positive og negative) med hver kørsel men kan konfigureres til at udføres med længere intervaller op til hver 72. time på baggrund af laboratorieprocedurer og/eller lokale bestemmelser. Kontakt en servicetekniker fra Roche og/eller Roches tekniske kundesupport for at få flere oplysninger.

Kontrolresultater på cobas® 5800 System

Resultaterne af kontrollerne vises i cobas® 5800-softwaren i appen "Controls" (Kontroller).

- Kontroller er markeret med "Valid" i kolonnen "Control result" (Kontrolresultat), hvis alle targets for kontrollen rapporteres som værende valide. Kontroller er markeret med "Invalid" i kolonnen "Control result", hvis alle targets eller ét target for kontrollen rapporteres som værende invalid(t/e).
- Kontroller, der er markeret med "Invalid", viser en markering i kolonnen "Flags" (Markeringer). Der er flere oplysninger om, hvorfor kontrollen rapporteres som invalid, herunder oplysninger om markeringer, i detaljevisningen.
- Hvis én af kontrollerne er invalid, skal testen af alle kontroller og alle tilhørende prøver gentages.

Kvalitetskontrol og validitet af resultater på cobas® 6800/8800 Systems

- Der behandles én negativ kontrol [(-) Ctrl] og én positiv kontrol [MAI (+) C] med hver batch af en ønsket resultattype.
- I cobas® 6800/8800-softwaren og/eller rapporten skal man kontrollere for flag og deres tilhørende resultater for at sikre, at batchen er valid.
- Alle flag beskrives i brugerassistance eller brugervejledningen til cobas® 6800/8800 Systems.
- Batchen er valid, hvis der ingen flag vises for alle kontrollerne. Hvis batchen er invalid, skal man gentage testen af hele batchen.

Valideringen af batchresultater udføres automatisk af cobas® 6800/8800 Systems-softwaren på baggrund af negative og positive kontroller, og valideringen af individuelle prøveresultater udføres af cobas® 6800/8800 Systems-softwaren på baggrund af interne kontrolresultater.

Fortolkning af resultater

Resultaterne og deres tilsvarende fortolkning for detektion af MAI er vist i Tabel 15.

Tabel 15 cobas® MAI-resultater og fortolkning

Target 1	Target 2	Fortolkning
MIN Positive	MAV Positive	Alle rekvirerede resultater var valide. Target-signal detekteret for <i>M. intracellulare</i> - og <i>M. avium</i> -DNA.
MIN Positive	MAV Negative	Alle rekvirerede resultater var valide. Target-signal detekteret for <i>M. intracellulare</i> -DNA. Intet target-signal detekteret for <i>M. avium</i> -DNA.
MIN Positive	Invalid	Ikke alle rekvirerede resultater var valide. Target-signal detekteret for <i>M. intracellulare</i> -DNA. <i>M. intracellulare</i> -resultatet er validt. <i>M. avium</i> -resultatet er invalidd. Den oprindelige prøve skal testes igen for at få valide <i>M. avium</i> -resultater. Hvis resultatet stadig er invalidd, skal der tages en ny prøve.
MIN Negative	MAV Positive	Alle rekvirerede resultater var valide. Intet target-signal detekteret for <i>M. intracellulare</i> -DNA. Target-signal detekteret for <i>M. avium</i> -DNA.
MIN Negative	MAV Negative	Alle rekvirerede resultater var valide. Intet target-signal detekteret for <i>M. intracellulare</i> -DNA. Intet target-signal detekteret for <i>M. avium</i> -DNA.
MIN Negative	Invalid	Ikke alle rekvirerede resultater var valide. Intet target-signal detekteret for <i>M. intracellulare</i> -DNA. <i>M. intracellulare</i> -resultatet er validt. <i>M. avium</i> -resultatet er invalidd. Den oprindelige prøve skal testes igen for at få valide <i>M. avium</i> -resultater. Hvis resultatet stadig er invalidd, skal der tages en ny prøve.
Invalid	MAV Positive	Ikke alle rekvirerede resultater var valide. <i>M. intracellulare</i> -resultatet er invalidd. Den oprindelige prøve skal testes igen for at få valide <i>M. intracellulare</i> -resultater. Hvis resultatet stadig er invalidd, skal der tages en ny prøve. Target-signal detekteret for <i>M. avium</i> -DNA. <i>M. avium</i> -resultatet er validt.
Invalid	MAV Negative	Ikke alle rekvirerede resultater var valide. <i>M. intracellulare</i> -resultatet er invalidd. Den oprindelige prøve skal testes igen for at få valide <i>M. intracellulare</i> -resultater. Hvis resultatet stadig er invalidd, skal der tages en ny prøve. Intet target-signal detekteret for <i>M. avium</i> -DNA. <i>M. avium</i> -resultatet er validt.
Invalid	Invalid	Både <i>M. intracellulare</i> - og <i>M. avium</i> -resultater er invalide. Den oprindelige prøve skal testes igen for at få valide <i>M. intracellulare</i> - og <i>M. avium</i> -resultater. Hvis resultaterne stadig er invalide, skal der tages en ny prøve.

Fortolkning af resultater på cobas® 5800 System


Resultaterne af prøverne vises i cobas® 5800-softwaren i appen "Results".

For en valid kontrolbatch skal hver enkelt prøve kontrolleres for markeringer i cobas® 5800-softwaren og/eller -rapporten. Resultatfortolkningen skal være som følger:

- Prøver, der er tilknyttet en valid kontrolbatch, vises som "Valid" i kolonnen "Control result" (Kontrolresultat), hvis alle target-resultater for kontrollen rapporteres som valide. Prøver, der er tilknyttet en mislykket kontrolbatch, vises som "Invalid" i kolonnen "Control result", hvis alle target-resultater for kontrollen rapporteres som invalide.
- Hvis de tilhørende prøver for et prøveresultat er invalide, bliver følgende specifikke markering føjet til prøveresultatet:
 - Q05D: Fejl i resultatvalidering på grund af en invalid positiv kontrol
 - Q06D: Fejl i resultatvalidering på grund af en invalid negativ kontrol
- Værdierne i kolonnen "Results" (Resultater) for individuelt target-resultat af prøven skal fortolkes som vist i Tabel 15 ovenfor.

- Hvis en eller flere prøve-targets er markeret med "Invalid", viser **cobas**® 5800-softwaren en markering i kolonnen "Flags" (Markeringer). Der er flere oplysninger om, hvorfor prøve-target(s) rapporteres som invalid(e), herunder oplysninger om markeringer, i detaljevisningen.

Figur 4 Eksempel på **cobas**® MAI-resultater på **cobas**® 5800 System

Sample ID	Test	Control result	Flag	Status	Result		Creation date/time
MIA_S_pos-02	MAI	Valid		Released	MIN Positive (Ct 38.51)	MAV Positive (Ct 39.27)	6/30/2022 1:33:50 PM
MAI_S_pos-01	MAI	Valid		Released	MIN Positive (Ct 37.15)	MAV Positive (Ct 37.42)	6/30/2022 1:33:51 PM
MAI_S_neg-02	MAI	Valid		Released	MIN Negative	MAV Negative	6/30/2022 1:33:52 PM
MAI_S_neg-01	MAI	Valid		Released	MIN Negative	MAV Negative	6/30/2022 1:33:51 PM
MAI_S_inv-01	MAI	Valid		Released	MIN Invalid	MAV Invalid	6/30/2022 1:33:53 PM
MAI_RS_pos-02	MAI	Valid		Released	MIN Positive (Ct 38.72)	MAV Positive (Ct 38.61)	6/30/2022 1:33:51 PM
MAI_RS_pos-01	MAI	Valid		Released	MIN Positive (Ct 37.39)	MAV Positive (Ct 37.49)	6/30/2022 1:33:51 PM

Fortolkning af resultater på **cobas**® 6800/8800 Systems

For valide batches skal hver enkelt prøve kontrolleres for markeringer i **cobas**® 6800/8800 Systems-softwaren og/eller -rapporten. Resultatfortolkningen skal være som følger:

- En valid batch kan indeholde både valide og invalide prøveresultater.
- Kolonnerne "Valid" og "Overall Result" (Samlet resultat) er ikke relevante (NA) for prøveresultater for **cobas**® MAI-testen og er markeret med "NA". Værdier, der rapporteres i disse kolonner, anvendes ikke og påvirker **ikke** validiteten af de resultater, der rapporteres i de individuelle kolonner med target-resultater.
- Rapporterede target-resultater for individuelle prøver er valide, medmindre de er angivet som "Invalid" i den individuelle kolonne med target-resultatet.
- Resultaterne af denne test bør kun fortolkes sammen med oplysninger fra klinisk vurdering af patienten og patientens historik.

Figur 5 Eksempel på **cobas**® MAI-resultater på **cobas**® 6800/8800 Systems

Test	Sample ID	Valid	Flags	Sample type	Overall result	Target 1	Target 2
MAI 850 µl	MAI_R_0001	NA		Raw sputum	NA	MIN Negative	MAV Positive
MAI 850 µl	MAI_R_0002	NA		Raw sputum	NA	MIN Positive	MAV Negative
MAI 850 µl	MAI_R_0003	NA	P02T	Raw sputum	NA	Invalid	Invalid
MAI 850 µl	MAI_S_0001	NA		Sediment	NA	MIN Negative	MAV Positive
MAI 850 µl	MAI_S_0002	NA		Sediment	NA	MIN Positive	MAV Negative
MAI 850 µl	MAI_S_0003	NA	C02H1	Sediment	NA	Invalid	Invalid
MAI 850 µl	C161420284090428828404	Yes		(-) Ctrl	Valid	Valid	Valid
MAI 850 µl	C161420284093009580264	Yes		MAI (+) C	Valid	Valid	Valid

Begrænsninger ved procedureerne

- **cobas**® MAI skal altid udføres sammen med mykobakteriel dyrkning for at minimere risikoen for falsk-negative resultater samt for at give mulighed for test af lægemiddelmodtageligheden for MAC-isolatet som en hjælp til patienthåndtering.
- Performance for **cobas**® MAI er blevet valideret for rå sputum samt for sputum- og BAL-sedimentprøver, der er blevet opløst, dekontamineret og koncentreret ved hjælp af NALC-NaOH. Brugen af andre prøvetyper kan medføre falsk-positive, falsk-negative og/eller invalide resultater.
- Fordøjelse og dekontaminering skal udføres ved hjælp af de NALC-NaOH-procedurer, der anbefales af CDC.¹⁹ Brugen af alternative præanalytiske prøveforberedelsesprocedurer kan medføre falsk-positive, falsk-negative og/eller invalide resultater.
- **cobas**® MAI er blevet valideret til brug med rå sputum og NALC-NaOH-behandlede sputum- og BAL-sedimentprøver, der er kemisk inaktiveret ved hjælp af MIS. Andre inaktiveringsprocedurer er ikke blevet evalueret og kan medføre falsk-positive, falsk-negative og/eller invalide resultater.
- En vellykket inaktivering af mykobakterier afhænger af overholdelse af de procedurer, der er beskrevet i dette dokument, samt en fuldstændig blanding af prøven med MIS. Præanalytisk behandling af patientprøver via MIS reducerer men kan ikke helt udrydde risikoen for mykobakteriel infektion.
- Overskridelse af volumenbegrænsningerne og/eller afvigelse fra de proceduremæssige trin, der er beskrevet i afsnittene "Behandling af rå sputumprøver", "Behandling af sputum- og BAL-sedimenter" og "Sonikering af prøver", kan medføre falsk-positive, falsk-negative og/eller invalide resultater.
- Nukleinsyreamplifikationsanalyser kan ikke bestemme levedygtigheden for en organisme.
- Testen kan ikke afgøre behandlingsmæssig succes eller fiasko.
- Dette produkt må kun anvendes af medarbejdere, som er uddannet i brugen af PCR-teknikker og brugen af **cobas**® 5800/6800/8800 Systems.
- **cobas**® MAI er kun evalueret til brug sammen med **cobas**® MAI Positive Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent, **cobas omni** Lysis Reagent, **cobas omni** Specimen Diluent og **cobas omni** Wash Reagent til brug på **cobas**® 5800/6800/8800 Systems, MIS og rørsonikator TS 5 fra Rinco Ultrasonics AG.
- Pålidelige resultater er afhængige af korrekte procedurer til prøvetagning, -opbevaring og -behandling.
- **cobas**® MAI er ikke blevet evalueret for patienter, der er yngre end 18 år.
- **cobas**® MAI er ikke indikeret til brug sammen med luftvejsprøver til overvågning af behandlingsrespons eller som en helbredstest.
- **cobas**® MAI differentierer mellem *M. intracellulare* og *M. avium*. Andre arter af *M. avium*-komplekset påvises af **cobas**® MAI, men der differentieres ikke mellem dem. De detekteres enten i *M. intracellulare*- eller *M. avium*-targetet. Se inklusivitetsundersøgelsen i afsnittet "Evaluering af performance" for at få flere oplysninger.
- Detektion af *M. avium*-komplekset er afhængig af det antal organismer, der findes i prøven, og kan påvirkes af prøvetagningsmetoder og patientfaktorer (dvs. alder, sygdommens alvor, HIV-status).
- For patienter, som er både MAC- og HIV-smittede, er der en højere sandsynlighed for, at prøverne er negative i smear-mikroskopi, og at patienterne derfor har MAC-DNA til stede på niveauer under analysens detektionsgrænse.
- Sundhedspersonalet skal fortolke resultater i sammenhæng med patientens historik, kliniske præsentation samt resultater af andre laboratorie- og radiografitest.

- Der kan forekomme falsk-negative eller invalide resultater pga. polymerasehæmning. Den interne kontrol er inkluderet i **cobas**® MAI for at hjælpe med at identificere de prøver, der indeholder stoffer, som kan påvirke isoleringen af nukleinsyrer og PCR-amplifikation.
- Tilsætningen af AmpErase-enzym til **cobas**® MAI Master Mix-reagenset aktiverer den selektive amplifikation af target-DNA. Kontaminering fra reagenser kan dog kun undgås med god laboratoriepraksis og nøje overholdelse af de procedurer, der er angivet i denne brugervejledning.
- Mutationer i de bedst konserverede regioner af genomisk DNA fra *M. avium*-komplekset, der er omfattet af **cobas**® MAI-primere og/eller prober, kan i sjældne tilfælde medføre manglende evne til at detektere tilstedeværelsen af bakterien.
- På grund af naturlige forskelle mellem teknologier anbefales det, at brugeren udfører metodekorrelationsundersøgelser i laboratoriet for at bestemme eventuelle teknologiske forskelle, før der skiftes fra en teknologi til en anden. Man skal ikke forvente 100 procent overensstemmelse mellem resultaterne på grund af de ovennævnte forskelle mellem teknologierne.
- Brug af andre rør end dem, der er anbefalet i Tabel 10, skal godkendes af brugeren før implementering i **cobas**® MAI-arbejdsgangen i laboratoriet. Brug af andre prøverør kan forårsage skader på rørene og kontaminering af sonikatorens overflader. Der kan også forekomme falsk-negative resultater som følge af utilstrækkelig sonikeringsenergi.
- Brug af andre barkoder end dem, der er anbefalet i Tabel 10, skal godkendes af brugeren før implementering i **cobas**® MAI-arbejdsgangen i laboratoriet. Brug af andre barkoder kan forårsage skader på barkoden.

Evaluering af performance

Vigtigste performance-egenskaber udført på cobas® 6800/8800 Systems

Inaktivering af prøver

Reduktionen af risikoen for mykobakteriel infektion ved behandling af prøver med MIS blev evalueret ved hjælp af positive dyrkninger af to stammer af MTB-komplekset (MTB CDC268 og MTB H37) på tre forskellige steder og ved hjælp af tre forskellige MIS-reagenslot. For hvert forhold blev fem dyrkningsmængder af koncentrationsniveauer på op til 5×10^7 CFU/ml behandlet med MIS i forholdet 1:2 i 60 minutter ved stuetemperatur. Prøverne blev derefter centrifugeret i 15 minutter ved $3.000 \times g$, vasket to gange med sterilt PBS og endelig resuspenderet i 0,5 ml sterilt PBS. På to steder blev hele den inaktiverede prøve podet og testet for vækst ved hjælp af BACTEC™ MGIT™ 320 Mycobacterial Detection System (Becton Dickinson). På det tredje sted blev MTB-levedygtigheden testet på et fast Löwenstein-Jensen (LJ)-medium. Ingen af de inaktiverede prøver viste vækst af bakterier fra *M. tuberculosis*-komplekset ved slutningen af den 56-dages inkuberingsperiode.

Detektionsgrænse (LoD)

Detektionsgrænsen for cobas® MAI blev bestemt ved analyse af serielle fortyndinger af en *M. intracellulare*-stamme (ATCC® 13209™) og en *M. avium*-stamme (ATCC® 19075™) hver i to poolede negative kliniske matricer – rå sputum og sputum-/BAL-sedimenter. Paneler af koncentrationsniveauer samt et blindt blev testet ved hjælp af i alt 72 replikater pr. koncentration ved hjælp af tre lot cobas® MAI-testreagenser over flere kørsler, dage, operatører og instrumenter.

LoD for *M. intracellulare* varierede fra 46,3 CFU/ml (sputum-/BAL-sediment) til 46,6 CFU/ml (rå sputum).

LoD for *M. avium* varierede fra 43,5 CFU/ml (sputum-/BAL-sediment) til 44,9 CFU/ml (rå sputum).

Inklusivitet

Inklusiviteten af cobas® MAI for 11 medlemmer af *M. avium*-komplekset blev bekræftet ved at teste i alt 25 stammer.

Følgende arter blev detekteret og genererede *M. intracellulare*-positive resultater:

- *M. intracellulare* (ATCC® 25130™, ATCC® 35763™, B99-03.25.0163, B99-04.23.0178, B00-08.20.1090, B99-05.19.0190, B98-10.30.0156)
- *M. arosiense* (E. Tortoli)
- *M. chimaera* (HO1421839)
- *M. colombiense* (DSM 45105)
- *M. indicus pranii* (DSM 45239)
- *M. marseillense* (CCUG 56325 T)
- *M. timonense* (11324/16)
- *M. vulneris* (DMS 45247)
- *M. yongonense* (B04-09.20.0164)

Følgende arter blev detekteret og genererede *M. avium*-positive resultater:

- *M. avium* (N-315 og N-337, dyrkningsisolat fra japanske patienter)
- *M. avium* supsp. *avium* (B95-X25 serotype 3, B95-25522 serotype 8, B95-18302 serotype 15, ATCC® 35718™)
- *M. avium* supsp. *hominissuis* (ITM 960255)
- *M. avium* supsp. *paratuberculosis* (B98-11.02.0221)
- *M. avium* supsp. *silvaticum* (DSM 44157)
- *M. bouchedurhonense* (CCUG 56331)

Alle stammer blev detekteret ved 256 CFU/ml og 241 CFU/ml for henholdsvis *M. intracellulare* og *M. avium* med sedimentprøver.

Præcision

In-house-præcisionen blev undersøgt ved hjælp af et panel sammensat af *M. intracellulare* (ATCC® 13209™) og *M. avium*-dyrknings (ATCC® 19075™), som blev fortyndet i to pølede negative kliniske matricer – rå sputum og sputum-/BAL-sedimenter. Variabilitetskilderne blev undersøgt med et panel bestående af tre koncentrationsniveauer ved hjælp af tre lot af cobas® MAI-reagenser og to instrumenter over 12 dage og med i alt 24 kørsler. I Tabel 16 og Tabel 17 vises en beskrivelse af præcisionspanelerne og de observerede positivitetsprocenter. Alle negative panelmedlemmer testede negativt i hele undersøgelsen. En analyse af standardafvigelsen og variationskoefficienten i procent for Ct-værdierne fra test, der blev udført på positive panelmedlemmer (se Tabel 18 og Tabel 19), gav overordnede intervaller for CV (%) fra 1,5 % til 2,7 % for *M. intracellulare* og fra 1,5 % til 2,5 % for *M. avium*.

Tabel 16 Oversigt over intra-laboratoriepræcision – *M. intracellulare*

Targetkoncentration	Ant. testet	N MIN-positive	MIN-positivetsprocent	95 %-konfidensinterval	
				Nedre grænse	Øvre grænse
<i>M. intracellulare</i> – rå sputum					
Negativ	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
77,4 CFU/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
232 CFU/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
<i>M. intracellulare</i> – sediment					
Negativ	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
74,3 CFU/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
223 CFU/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %

Tabel 17 Oversigt over intra-laboratoriepræcision – *M. avium*

Targetkoncentration	Ant. testet	N MAV-positiv	MAV-positivetsprocent	95 %-konfidensinterval	
				Nedre grænse	Øvre grænse
<i>M. avium</i> – rå sputum					
Negativ	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
88,0 CFU/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
264 CFU/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
<i>M. avium</i> – sediment					
Negativ	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
71,1 CFU/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
213 CFU/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %

Tabel 18 Samlede gennemsnitlige standardafvigelser og variationskoefficienter (%) for cyklusgrænse, *M. intracellulare*-positive paneler

Target-koncentration	Positivitetsprocent	Gnsn. Ct	Intra-seriel		Inter-seriel		Fra dag til dag		Fra instrument til instrument		Fra lot til lot		I alt	
			SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%
<i>M. intracellulare</i> – rå sputum														
77,4 CFU/ml	100,0 %	37,6	0,83	2,2	0,00	0,0	0,48	1,3	0,20	0,5	0,00	0,0	0,98	2,6
232 CFU/ml	100,0 %	36,5	0,74	2,0	0,47	1,3	0,33	0,9	0,00	0,0	0,29	0,8	0,98	2,7
<i>M. intracellulare</i> – sediment														
74,3 CFU/ml	100,0 %	38,1	0,56	1,5	0,34	0,9	0,00	0,0	0,17	0,4	0,13	1,8	0,69	1,8
223 CFU/ml	100,0 %	36,9	0,37	1,0	0,25	0,7	0,00	0,0	0,33	0,9	0,00	0,0	0,56	1,5

Tabel 19 Samlede gennemsnitlige standardafvigelser og variationskoefficienter (%) for cyklusgrænse, *M. avium*-positive paneler

Target-koncentration	Positivitetsprocent	Gnsn. Ct	Intra-seriel		Inter-seriel		Fra dag til dag		Fra instrument til instrument		Fra lot til lot		I alt	
			SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%
<i>M. avium</i> – rå sputum														
88,0 CFU/ml	100,0 %	37,9	0,87	2,3	0,00	0,0	0,25	0,7	0,24	0,6	0,00	0,0	0,94	2,5
264 CFU/ml	100,0 %	36,4	0,48	1,3	0,40	1,1	0,35	1,0	0,16	0,4	0,00	0,0	0,73	2,0
<i>M. avium</i> – sediment														
71,1 CFU/ml	100,0 %	38,8	0,51	1,3	0,25	0,7	0,10	0,3	0,00	0,0	0,11	0,3	0,59	1,5
213 CFU/ml	100,0 %	37,5	0,50	1,3	0,34	0,9	0,40	1,0	0,00	0,0	0,12	0,3	0,74	2,0

Analytisk specificitet/krydsreaktivitet

Et panel med 173 bakterier, svampe og vira, herunder dem, der almindeligvis findes i luftvejene, blev testet med cobas® MAI for at vurdere den analytiske specificitet. De organismer, der er angivet i Tabel 20, blev testet ved koncentrationer på ca. 1×10^6 enheder/ml for bakterier og ca. 1×10^5 enheder/ml for vira. Testen blev udført med hver potentielt interfererende organisme ved fravær og tilstedeværelse af *M. intracellulare*-/*M. avium*-target (ved 200 CFU/ml).

Ingen af organismerne interfererede med testens performance ved at generere falsk-positive resultater. Detektionen af *M. intracellulare*-/*M. avium*-target blev ikke påvirket af de testede organismer med undtagelse af *M. kansasii* og *M. szulgai* ved koncentrationsniveauer > 1E+05 CFU/ml og *M. gastri* ved koncentrationsniveauer > 1E+04 CFU/ml.

Potentiel krydsreaktivitet i *Histoplasma capsulatum*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium pinnipedii* og *Mycobacterium suricattae* blev evalueret *in silico*. Resultaterne af *in silico*-analyser forudsiger en lille sandsynlighed for amplifikation og detektion af disse organismer ved brug af cobas® MAI.

Tablet 20 Mikroorganismer, der er testet for analytisk specificitet og krydsreaktivitet

Mikroorganisme	Koncentration	Mikroorganisme	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>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium holsaticum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium intermedium</i>	1,0E+06 CFU/ml
Adenovirus	1,0E+05 E/ml	<i>Mycobacterium kansasii</i>	1,0E+05 CFU/ml*
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium kumamontense</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium lentiflavum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Bacillus cereus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium malmoense</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium mantonii</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Bactericides fragilis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium marinum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	1,0E+06 geq/ml	<i>Mycobacterium mucogenicum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Bordetella parapertussis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium neoaurum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Bordetella pertussis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium nonchromogenicum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Burkholderia cepacia</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium orygis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium peregrinum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Candida glabrata</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium simiae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Candida krusei</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Candida parapsilosis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium szulgai</i>	1,0E+05 CFU/ml*
<i>Candida tropicalis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium terrae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1,0E+06 IFU/ml	<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	1,0E+06 IFU/ml	<i>Mycobacterium triviale</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Chromobacterium violaceum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Citrobacter freundii</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium vaccae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium xenopi</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,0E+06 ccu/ml
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Neisseria lactamica</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Corynebacterium ulcerans</i>	1,0E+06 geq/ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Neisseria mucosa</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Neisseria sicca</i>	1,0E+06 CFU/ml
Cytomegalovirus	1,0E+05 IFU/ml	<i>Nocardia asteroides</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Eikenella corrodens</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Nocardia brasiliensis</i>	1,0E+06 geq/ml
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Nocardia cyriacigeorgica</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i> subsp. <i>cloacae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Nocardia farcinica</i>	1,0E+06 CFU/ml

Mikroorganisme	Koncentration	Mikroorganisme	Koncentration
<i>Enterococcus avium</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Nocardia nova</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Enterococcus faecium</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Nocardia transvalensis</i>	1,0E+06 CFU/ml
Enterovirus type 68 / 2007	1,0E+05 E/ml	<i>Pasteurella multocida</i> subsp. <i>tigris</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Pediococcus acidilactici</i>	1,0E+06 geq/ml
<i>Escherichia coli</i> producerer CTX-M-15 ESBL	1,0E+06 CFU/ml	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i> subsp. <i>nucleatum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Penicillium chermesinum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Gordona rubropertinctus</i>	1,0E+06 geq/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Prevotella melaninogenica</i>	1,0E+06 CFU/ml
Herpes simplexvirus, type 1	1,0E+05 kopier/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1,0E+06 CFU/ml
Herpes simplexvirus, type 2	1,0E+05 kopier/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1,0E+06 CFU/ml
Human immundefektvirus	1,0E+05 kopier/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1,0E+06 CFU/ml
Human influenzavirus A	1,0E+05 E/ml	<i>Providencia stuartii</i>	1,0E+06 CFU/ml
Human influenzavirus B	1,0E+05 E/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,0E+06 CFU/ml
Human metapneumovirus	1,0E+05 E/ml	<i>Rhizopus</i> spp.	1,0E+06 CFU/ml
Human parainfluenzavirus type 1	1,0E+05 E/ml	<i>Rhodococcus equi</i>	1,0E+06 CFU/ml
Human parainfluenzavirus type 2	1,0E+05 E/ml	Rubella-virus	1,0E+05 E/ml
Human parainfluenzavirus type 3	1,0E+05 E/ml	Rubeola-virus (mæslinger)	1,0E+05 E/ml
Human parainfluenzavirus type 4	1,0E+05 E/ml	Rubula-virus	1,0E+05 E/ml
Human respiratorisk syncytialvirus A	1,0E+05 E/ml	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Dublin	1,0E+06 CFU/ml
Human respiratorisk syncytialvirus B	1,0E+05 E/ml	<i>Scedosporium</i> spp.	1,0E+06 CFU/ml
Rhinovirus 16, human	1,0E+05 E/ml	<i>Serratia marcescens</i> subsp. <i>marcescens</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Kingella kingae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Shigella flexneri</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Kingella oralis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Shigella sonnei</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i> producerer KPC-3 carbapenemase	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus capitis</i> subsp. <i>capitis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Lactobacillus casei</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Legionella micdadei</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Legionella pneumophila</i> subsp. <i>pneumophila</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus constellatus</i> subsp. <i>constellatus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>equi</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Morganella morganii</i> subsp. <i>morganii</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus mitis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium abscessus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus mutans</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium asiaticum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium bovis</i> BCG	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium bovis</i> subsp. <i>bovis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium bovis</i> subsp. <i>caprae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium canetti</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1,0E+06 CFU/ml

Mikroorganisme	Koncentration	Mikroorganisme	Koncentration
<i>Mycobacterium caprae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus uberis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium celatum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptomyces anulatus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium chelonae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptomyces griseus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium chubuense</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Tsukamurella</i> spp.	1,0E+06 geq/ml
<i>Mycobacterium confluentis</i>	1,0E+06 CFU/ml	Varicella-zoster-virus	1,0E+05 kopier/ml
<i>Mycobacterium flavescens</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Veillonella atypica</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Veillonella parvula</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium fuerth</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Weissella paramesenteroides</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium gastri</i>	1,0E+04 CFU/ml*	-	-

* Niveau, hvor der ikke er observeret interferens med detektionen af *M. intracellulare* og *M. avium*. Også testet ved 1,0E+06 CFU/ml, hvilket viste interferens med både *M. intracellulare*- og *M. avium*-target.

Interferens

Effekten af eksogene stoffer, der potentielt udskilles i luftvejsprøver, blev evalueret (Tabel 21). Hvert potentielt interfererende stof blev testet ved eller over klinisk relevante niveauer i konstruerede sputumprøver ved fravær og tilstedeværelse af *M. intracellulare*- og *M. avium*-target (sammen tilsat ved 200 CFU/ml).

Ingen af de testede stoffer interfererede med testens performance ved at generere falsk-negative eller falsk-positive resultater.

Tabel 21 Liste over eksogene stoffer, der blev testet for interferens

Stof	Koncentration	Stof	Koncentration
Albuterolsulfat	0,5 µg/ml	Kanamycin-monofulfat	240 µg/ml
Amikacin	80,1 µg/ml	Levofloxacin	5 mg/ml
Amoxicillin	86,4 µg/ml	Lidocain HCl	1,2 % (w/v)
Beclometason	3.459 pg/ml	Mentol	0,50 % (w/v)
Benzocain	1,2 % (w/v)	Methylsalicylat	0,06 % (v/v)
Budesonid	3 mg/ml	Mometasone	100 µg/ml
Butterbur	225 mg/ml	Moxifloxacin	15 µg/ml
Capreomycin	80 µg/ml	Mupirocin	5 % (w/v)
Cetylpyridinklorid	0,5 % (w/v)	NaCl	5 % (w/v)
Klorhexidylglukonat	1 % (v/v)	Nikotin	1 µg/ml
Cicloserin (Cycloserine)	105 µg/ml	Nystatin	1 % (v/v)
Clarithromycin	20 µg/ml	Oxymetazolin	12 ng/ml
Dexamethason	601 ng/ml	Pentamidine	1.366 ng/ml
Efedrinhydroklorid	1 mg/ml	Fenylefrin	5 mg/ml
Adrenalin	100 pg/ml	Prednisolon	3 µg/ml
Ethambutol	50 µg/ml	Pyrazinamid	240 µg/ml
Ethionamide	15 µg/ml	Rifampicin	25 µg/ml
Eucalyptol	0,002 % (v/v)	Brændenældeekstrakt (500 mg)	5 mg
Flunisolide	400 µg/ml	Streptomycin	240 µg/ml
Fluticasonpropionat	5 µg/ml	Sulfur	0,01 % (w/v)
Formoterolfumaratdihydrat	66 µg/ml	Tetræsolie	0,50 % (v/v)
Guldsegl (kapsler med 570 mg)	5,7 mg	Teofyllin	20 µg/ml

Stof	Koncentration	Stof	Koncentration
Guaifenesin	5 mg/ml	Tobramycin	24,1 µg/ml
Isoniazid	50 µg/ml	Zanamivir	10 mg/ml

Endogene stoffer, der kan være til stede i luftvejsprøver, blev testet for interferens (Tabel 22). Hvert potentielt interfererende stof blev testet ved eller over klinisk relevante niveauer i konstruerede sputumprøver ved fravær og tilstedeværelse af *M. intracellulare*- og *M. avium*-target (sammen tilsat ved 200 CFU/ml).

Ingen af de testede stoffer interfererede med testens performance ved at generere falsk-positive resultater. Ingen af stofferne – med undtagelse af 5 % mucin – interfererede med testens performance ved at generere falsk-negative resultater. Der blev ikke observeret nogen interferens for mucin ved koncentrationsniveauer på eller under 4 %.

Tabel 22 Liste over endogene stoffer, der blev testet for interferens

Stof	Koncentration	Stof	Koncentration
Mavesyre	10 % (v/v)	Mucin	4 %*
Hæmoglobin	2 g/l	Pus	5 %
Humant fuldblod	5 % (v/v)	Saliva	10 % (v/v)
hDNA	4 mg/l	-	-

* Niveau, hvor der ikke er observeret interferens med detektionen af *M. intracellulare* og *M. avium*. Også testet ved 5 %, hvilket viste delvis interferens med både *M. intracellulare*- og *M. avium*-target.

Systemfejlfrekvens

De prøver, der blev testet i systemfejlfrekvensundersøgelsen, var konstruerede sputum- og sputumsedimentprøver sammen tilsat *M. intracellulare*- og *M. avium*-target til en koncentration på ca. $3 \times \text{LoD}$ af den pågældende matrix. Resultaterne af denne undersøgelse påviste, at alle replikater var valide og positive for *M. intracellulare* og *M. avium*, hvilket resulterede i en systemfejlfrekvens på 0 % med et øvre ensidet 95 % konfidensinterval på 3,0 %.

Krydskontaminering

Den potentielle krydskontaminering på cobas® 6800/8800 Systems med cobas® MAI er blevet undersøgt ved hjælp af den relaterede cobas® MTB-test med identiske prøvetyper og arbejdsgange. Krydskontaminering kan forårsage falsk-positive resultater. I denne performanceundersøgelse er krydskontamineringsforholdet fra prøve til prøve blevet påvist at være 0,0 % (0/240), når skiftevis høje positive og negative prøver blev testet i flere kørsler. Testen blev udført ved hjælp af konstruerede sputumsedimentprøver tilsat MTB-kompleks target ved 2×10^6 CFU/ml, en prøvekoncentration, der genererer Ct-værdier tidligere end i 95 % af prøverne fra de inficerede patienter i den tiltænkte anvendelsespopulation.

Performance ved brug af kliniske prøver

Performance for cobas® MAI ved brug af kliniske prøver blev evalueret ved at teste arkiverede prøver (rå sputum, sputum-/BAL-sedimenter) fra personer med formodet mykobakteriel respiratorisk infektion prospektivt indsamlet i Tyskland, Japan, Sydafrika, Schweiz og Texas. Der blev udført side om side-sammenligningstest med COBAS® TaqMan® MAI-testen. Sensitivitet og specificitet blev fastlagt ved sammenligning med mykobakteriel dyrkning. Patientpopulationen for sensitivitet omfattede 51 AFB-smear-negative (49 %), 13 AFB-smear-utilstrækkelige (13 %), 19 AFB-smear 1+ (18 %), 15 AFB-smear 2+ (14 %), 4 AFB-smear 3+ (4 %) og 2 AFB-smear-tvivlsomme (2 %) for sputum-/BAL-sedimenter med

i alt 81 sputumsedimenter og 23 BAL-sedimenter. For rå sputum blev der testet 26 AFB-smear-negative (47 %), 5 AFB-smear-utilstrækkelige (9 %), 8 AFB-smear 1+ (15 %), 12 AFB-smear 2+ (22 %) og 4 AFB-smear 3+ (7 %).

Resultaterne vises i Tabel 23.

Tabel 23 Sensitiviteten og specificiteten i cobas® MAI ved brug af kliniske prøver

				Roche cobas® MAI	Roche COBAS® TaqMan® MAI
Sensitivitet	Rå sputum	MIN C+	MIN	16/24 66,7 % [44,7-84,4 %]	Ikke relevant
		MAV C+	MAV	27/31 87,1 % [70,1-96,3 %]	Ikke relevant
		MIN o/e MAV C+	MIN/MAV	44/55 80,0 % [67,0-89,6 %]	Ikke relevant
	Sediment	MIN C+	MIN	27/46 58,7 % [43,2-73,0 %]	32/46 69,6 % [54,2-82,3 %]
		MAV C+	MAV	35/58 60,3 % [46,6-72,9 %]	36/58 62,1 % [48,4-74,5 %]
		MIN o/e MAV C+	MIN/MAV	62/104 59,6 % [49,5-69,1 %]	68/104 65,4 % [55,4-74,4 %]
Specificitet	Rå sputum	MIN C-	MIN	350/350 100,0 % [99,0-100,0 %]	Ikke relevant
		MAV C-	MAV	350/350 100,0 % [99,0-100,0 %]	Ikke relevant
		MIN og MAV C-	MIN/MAV	350/350 100,0 % [99,0-100,0 %]	Ikke relevant
	Sediment	MIN C-	MIN	412/412 100,0 % [99,1-100,0 %]	408/412 99,0 % [97,5-99,7 %]
		MAV C-	MAV	412/412 100,0 % [99,1-100,0 %]	411/412 99,8 % [98,7-100,0 %]
		MIN og MAV C-	MIN/MAV	412/412 100,0 % [99,1-100,0 %]	407/412 98,8 % [97,2-99,6 %]

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

C = dyrkning, MIN = *Mycobacterium intracellulare*, MAV = *Mycobacterium avium*, o/e = og/eller

Systemækvivalens/systemsammenligning

Systemækvivalensen for cobas® 5800, cobas® 6800 og cobas® 8800 Systems blev påvist via performance-undersøgelser. Resultaterne, der er præsenteret i brugsanvisningen, understøtter tilsvarende ækvivalent performance for alle systemer.

Yderligere oplysninger

Vigtige analysefunktioner

Prøvetyper

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





















































Processeret prøvemængde

- Der kræves $\geq 0,4$ ml patientprøve behandlet med MIS i forholdet 1:2 (samlet volumen $\geq 1,2$ ml) i prøverør til rå sputum, instrumentet behandler 0,85 ml
- Der kræves $\geq 0,2$ ml patientprøve behandlet med MIS i forholdet 1:5 (samlet volumen $\geq 1,2$ ml) i prøverør til sputum-/BAL-sediment, instrumentet behandler 0,85 ml

Symboler

Følgende symboler anvendes på etiketter til Roche PCR-diagnostiske produkter.

Tablet 24 Symboler, der er anvendt på etiketter til Roche PCR-diagnostiske produkter

 Age/DOB Alder eller fødselsdato	 Udstyr, der ikke er til patientnær test	 QS IU/PCR QS IE pr. PCR-reaktion. Brug QS internationale enheder (IE) pr. PCR-reaktion til beregning af resultaterne.
 SW Hjælpesoftware	 Udstyr, der ikke er til selvtest	 SN Serienummer
 Assigned Range [copies/ml] Tildelt interval (kopier/ml)	 Distributør (Bemærk! Gældende land/region kan være angivet under symbolet.)	 Site Sted
 Assigned Range [IU/mL] Tildelt interval (IE/ml)	 Må ikke genbruges	 Procedure Standard Standardprocedure
 EC REP Autoriseret repræsentant i EF	 Kvinder	 STERILE EO Steriliseret med ethylenoxid
 BARCODE Barkodedataark	 Kun til evaluering af IVD-performance	 Opbevares mørkt
 LOT Batchkode	 GTIN Global Trade Item Number	 Temperaturbegrænsning
 Biologisk fare	 Importør	 TDF Testdefinitionsfil
 REF Katalognummer	 IVD Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik	 Denne side op
 CE CE-overensstemmelsesmærkning: Denne enhed stemmer overens med de gældende krav for CE-mærkning af medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik	 LLR Nedre grænse for tildelt interval	 Procedure UltraSensitive Ultrasensitive-procedure
 Collect Date Prøvetagningsdato	 Mænd	 UDI Unik udstyrsidentifikation
 Se brugsanvisning	 Producent	 ULR Øvre grænse for tildelt interval
 Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests	 CONTROL - Negativ kontrol	 Urine Fill Line Urinpåfyldningslinje
 CONTENT Indhold i pakning	 NON STERILE Usteril	 Rx Only Kun USA: Ifølge amerikansk lovgivning må denne enhed kun sælges af eller efter anmodning fra en læge.
 CONTROL Kontrol	 Patientnavn	 Sidste anvendelsesdato
 Fremstillingsdato	 Patientnummer	
 Udstyr til patientnær test	 Riv her	
 Udstyr til selvtest	 CONTROL + Positiv kontrol	
	 QS copies / PCR QS kopier pr. PCR-reaktion. Brug QS kopier pr. PCR-reaktion til beregning af resultaterne.	

Teknisk support

Kontakt den lokale afdeling for teknisk support (assistance):
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Producent

Tabel 25 Producent

Produceret i USA



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

Fremstillet i USA

Varemærker og patenter

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

Copyright

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Referencer

1. Goslee S, Wolinsky E. Water as a source of potentially pathogenic mycobacteria. *Am Rev Respir Dis.* 1976;113:287-92.
2. Wolinsky E, Rynearson TK. Mycobacteria in soil and their relation to disease-associated strains. *Am Rev Respir Dis.* 1968;97:1032-7.
3. Chapman JS. The ecology of the atypical mycobacteria. *Arch Environ Health.* 1971;22:41-6.
4. Gruft H, Falkinham JO, 3rd, Parker BC. Recent experience in the epidemiology of disease caused by atypical mycobacteria. *Rev Infect Dis.* 1981;3:990-6.
5. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;175:367-416.
6. Cayrou C, Turenne C, Behr MA, Drancourt M. Genotyping of *Mycobacterium avium* complex organisms using multispacer sequence typing. *Microbiology (Reading).* 2010;156:687-94.
7. Tortoli E. Microbiological features and clinical relevance of new species of the genus *Mycobacterium*. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27:727-52.
8. Saito H, Tomioka H, Sato K, Tasaka H, Dawson DJ. Identification of various serovar strains of *Mycobacterium avium* complex by using DNA probes specific for *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare*. *J Clin Microbiol.* 1990;28:1694-7.
9. Horsburgh Jr CR. Epidemiology of *Mycobacterium avium* complex disease. *Am J Med.* 1997;102:11-5.
10. Cassidy PM, Hedberg K, Saulson A, McNelly E, Winthrop KL. Nontuberculous mycobacterial disease prevalence and risk factors: a changing epidemiology. *Clin Infect Dis.* 2009;49:e124-9.
11. Maugein J, Dailloux M, Carbonnelle B, et al. Sentinel-site surveillance of *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease. *Eur Respir J.* 2005;26:1092-6.
12. Freeman J, Morris A, Blackmore T, et al. Incidence of nontuberculous mycobacterial disease in New Zealand, 2004. *N Z Med J.* 2007;120:U2580.
13. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene.* 1990;93:125-8.
14. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y).* 1992;10:413-7.
15. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996;6:986-94.
16. World Health Organization. Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual. WHO: Geneva, Switzerland; 2012.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. 4th ed. M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; 2014.
18. Chosewood LC, Wilson DE, eds. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. US Department of Health and Human Services; 2009.
19. Kent PT, Kubica GP. Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory: Centers for Disease Control: Atlanta, GA; 1985.

Dokumentrevision

Oplysninger om dokumentrevision	
Doc Rev. 1.0 10/2022	Første udgivelse.

Du kan finde rapporten med oversigten over sikkerhed og performance ved hjælp af følgende link:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>