cobas® MAI

Nukleinsäuretest zur Verwendung auf den cobas® 5800/6800/8800 Systemen

In-vitro-Diagnostikum

cobas® MAI	P/N: 09040595190
Zur Verwendung auf dem cobas® 5800 System	
cobas® MAI Positive Control Kit	P/N: 09040609190
cobas® Buffer Negative Control Kit	P/N: 09051953190
Zur Verwendung auf den cobas® 6800/8800 Systemen	
cobas® MAI Positive Control Kit	P/N: 07544863190 oder P/N: 09040609190
cobas® Buffer Negative Control Kit	P/N: 07002238190 oder P/N: 09051953190

Inhaltsverzeichnis

Verwendungszweck **4**

Zusammenfassung und Erklärung des Tests **4**

Reagenzien und Materialien **8**

cobas® MAI-Reagenzien und -Kontrollen 8

cobas® **omni**-Reagenzien für die Probenvorbereitung 9

Lagerungsbedingungen für Reagenzien 10

Handhabung der Reagenzien für das **cobas**® 5800 System bzw. die **cobas**® 6800/8800 Systeme 10

Zusätzlich benötigte Materialien für die **cobas**® 5800/6800/8800 Systeme 11

Benötigte Geräte und Software 13

Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung **14**

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen 14

Umgang mit Reagenzien 15

Gute Laborpraxis 15

Entnahme, Transport und Lagerung von Proben **16**

Proben 16

Transport und Lagerung von Proben 16

Lagerung inaktivierter Proben 16

Gebrauchsanweisung **17**

Hinweise zum Verfahren 17

Verarbeitung von Sputum-crudum-Proben 19

Verarbeitung von Sputum und BAL-Flüssigkeit 20

Ultraschallbehandlung der Proben 21

Durchführung des **cobas**® MAI-Tests auf den **cobas**® 5800/6800/8800 Systemen 22

Ergebnisse **25**

Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse auf den **cobas**® 6800/8800 Systemen mit Softwareversion 1.4 25

Interpretation der Ergebnisse auf den **cobas**® 5800/6800/8800 Systemen 26

Interpretation der Ergebnisse auf dem **cobas**® 5800 System und den **cobas**® 6800/8800 Systemen mit Softwareversion 2.0 oder höher 26

Interpretation der Ergebnisse auf den **cobas**® 6800/8800 Systemen mit Softwareversion 1.4 27

Verfahrenseinschränkungen 28

Bewertung der Leistungsmerkmale **30**

Systemäquivalenz 30

Wichtigste Leistungsmerkmale 30

Probeninaktivierung 30

Nachweisgrenze (LoD) 30

Inklusivität 30

Präzision 31

Analytische Spezifität und Kreuzreaktivität 32

Störeinflüsse 35

Gesamtsystemausfall 36

Kreuzkontamination 36

Leistungsmerkmale anhand von klinischen Proben 36

Weitere Informationen **39**

Wichtigste Leistungsmerkmale des Tests 39

Symbole 40

Technischer Support 41

Hersteller 41

Marken und Patente 41

Copyright 41

Literatur 42

Dokumentversion 43

Verwendungszweck

Der **cobas**® MAI-Test zur Verwendung auf den **cobas**® 5800/6800/8800 Systemen ist ein automatisierter, qualitativer *in-vitro*-diagnostischer Test auf Basis einer Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zur direkten Detektion und Differenzierung von *Mycobacterium avium*- und *Mycobacterium intracellulare*-DNA in Proben aus menschlichen Atemwegen, darunter Proben von Sputum crudum, verdautem und dekontaminiertem (mit N-Acetyl-L-Cystein/NaOH [NALC-NaOH] behandeltem) Sputum sowie verdauter und dekontaminierter (mit N-Acetyl-L-Cystein/NaOH [NALC-NaOH] behandelter) bronchoalveolärer Lavage (BAL). Dieser Test ist in Verbindung mit einer mykobakteriellen Kultur zur Unterstützung der Diagnose von pulmonalen Infektionen mit *M. avium* und *M. intracellulare* vorgesehen.

Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Hintergrund

M. avium und *M. intracellulare* sind zwei eng miteinander verwandte, aber unterschiedliche Spezies langsam wachsender, nichttuberkulöser Mykobakterien (NTM), die zum *M. avium*-Komplex (MAC) und zur Gattung der Mykobakterien gehören. NTM sind Mykobakterienspezies, bei denen es sich nicht um *M. tuberculosis* oder *M. leprae* handelt. NTM sind üblicherweise freilebende, in der Umwelt allgegenwärtig vorkommende Organismen.[1-4] Sie wurden in Oberflächenwasser, Leitungswasser, im Erdreich, bei Haustieren und wildlebenden Tieren sowie in Milch und anderen Lebensmitteln nachgewiesen. Zwar können NTM Körperoberflächen und Sekrete besiedeln, ohne eine Krankheit hervorzurufen, sie wurden jedoch mit vier verschiedenen klinischen Syndromen in Verbindung gebracht: pulmonale Infektionen (MAC, *M. kansasii* und *M. abscessus*), Infektionen der Lymphknoten, die häufig bei Kindern auftreten (MAC, *M. scrofulaceum*, *M. malmoense*), bei stark immunsupprimierten Patienten (*M. avium*) weit verbreitete Erkrankungen sowie Haut- und Weichgewebe- oder Knochen- und Gelenkinfektionen, üblicherweise infolge eines direkten Kontakts.[5]

Der MAC-Komplex umfasst gegenwärtig zwölf Spezies umwelt- oder tierassoziierter langsam wachsender Mykobakterien: *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. chimaera*, *M. colombiense*, *M. arosiense*, *M. bouchedurhonense*, *M. marseillense*, *M. timonense*, *M. indicus pranii*, *M. mantenii*, *M. vulneris* und *M. yongonense*.[6, 7] Es gibt 28 Serotypen von *M. avium* und *M. intracellulare*[8] und *M. avium* besteht aus den 4 Unterarten *M. avium* subsp. *avium*, *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, *M. avium* subsp. *hominissuis* und *M. avium* subsp. *silvaticum*.[6] *M. avium* und *M. intracellulare* (MAI) sind die beiden NTM, die am häufigsten mit einer Erkrankung des Menschen assoziiert sind.[5]

MAI sind primär pulmonale Krankheitserreger, die häufig immunsupprimierte Personen befallen (z. B. Patienten mit AIDS, Haarzellenleukämie oder unter immunsuppressiver Chemotherapie). MAI gelangen durch Einatmen in die Atemwege und durch Verschlucken in den Magen-Darm-Trakt. Es gibt keinen Nachweis für eine Tier-zu Mensch- oder Mensch-zu-Mensch-Übertragung, weshalb er als nicht ansteckend angesehen wird. Pulmonale MAI-Infektionen sind mit chronischen Lungenerkrankungen wie COPD, chronischer Bronchitis, Bronchiektase, Mukoviszidose und Lungenkrebs assoziiert. MAI kann ferner Osteomyelitis, Tenosynovitis und Synovitis verursachen, und von einer disseminierten MAI-Infektion können die Lymphknoten, das ZNS, die Leber, die Milz und das Knochenmark betroffen sein. Hautinfektionen erfolgen hauptsächlich durch direkten Kontakt. MAI ist die häufigste Infektionsursache durch NTM bei Patienten mit AIDS. Bei mehr als 95 % der AIDS-Patienten, die an MAI-Infektionen erkranken, ist *M. avium* die Ursache. *M. intracellulare* ist für 40 % der Infektionen bei immunkompetenten Patienten verantwortlich. Bei MAI-Lungenerkrankungen zeigt sich üblicherweise eins der beiden folgenden klinischen Bilder: die fibrokavernöse Lungenerkrankung

(apikal) oder das Lady-Windermere-Syndrom, das mit nodulären oder fibronodulären Lungeninfiltraten und Husten bei ansonsten gesunden, schlanken, älteren Frauen einhergeht.

Die Inzidenz von NTM-Erkrankungen ist schwer zu ermitteln, da NTM als nicht übertragbar gelten und daher in vielen Ländern nicht den Gesundheitsbehörden gemeldet werden müssen. Schätzungen der Inzidenzrate basieren auf der Zahl der gemeldeten NTM-Isolate und scheinen in den meisten entwickelten Ländern ähnlich hoch zu sein, und zwar bei 1,0 bis 1,8 Fällen pro 100.000 Personen.[5, 9] 2009 ergab eine Studie in Oregon eine geschätzte Rate von 5,6 Fällen pulmonaler MAC-Infektionen pro Jahr und 100.000 Einwohner, wobei die meisten Fälle (60 %) Frauen betrafen.[10] Die höchste Zahl von in den Vereinigten Staaten gemeldeten disseminierten MAI-Fällen belief sich auf 37.000 im Jahr 1994, zum Höhepunkt der AIDS-Epidemie; seit der Anwendung einer hochwirksamen antiretroviralen Therapie ist die Inzidenz zurückgegangen. In einer Beobachtungsstudie wurde die Inzidenz von pulmonalen NTM-Infektionen in Frankreich im Zeitraum 2001 bis 2003 bei Patienten ohne HIV-Infektion auf 0,72 bis 0,74 je 100.000 Einwohner geschätzt.[11] Und im Jahr 2004 ergab eine ähnliche Studie in Neuseeland eine geschätzte Inzidenz von NTM-Erkrankungen von 1,92 je 100.000 Einwohner.[12]

Die Diagnose einer pulmonalen MAI-Infektion sollte bei symptomatischen Patienten in Erwägung gezogen werden, die bei Röntgenaufnahmen des Thorax noduläre oder kavernöse Trübungen aufweisen, oder bei einer hochauflösenden Computertomografie multifokale Bronchiektasen mit mehreren kleinen Knoten aufweisen, wenn eine Infektion mit MTB und andere einschlägige Diagnosen ausgeschlossen wurden.[5] Zur Diagnose werden ein AFB-Ausstrich und eine mykobakterielle Kultur empfohlen. Für eine Diagnose sind erforderlich:

(i) positive mykobakterielle Kulturen mindestens zweier separater Proben mit ausgehustetem Sputum oder

(ii) positive mykobakterielle Kulturergebnisse bei mindestens einer bronchialen Waschung bzw. Lavage oder

(iii) transbronchiale oder sonstige Lungenbiopsie mit histopathologischen mykobakteriellen Merkmalen und eine positive Kultur aus der Biopsie sowie eine oder mehrere Sputumproben oder bronchiale Waschungen, die zur Bestätigung der Infektion kulturpositiv für MAC sind.[5]

NTM, einschließlich MAC, sollen bis auf Spezies-Ebene identifiziert werden. Die Behandlung umfasst 2 oder 3 First-line-Antimikrobiotika für die Dauer von 12 Monaten. Das First-line-Regime umfasst Makrolide (Clarithromycin oder Azithromycin), Ethambutol und Rifamycine (Rifampin), und das Second-line-Regime umfasst die Aminoglycoside (Streptomycin oder Amikacin). Routinetests zur Empfindlichkeit der MAC-Isolate werden nur für Clarithromycin aufgrund der schlechten Korrelation zwischen *in vitro*-Ergebnissen und klinischen Ergebnissen für andere Medikamente empfohlen.[5]

Die Verdachtsdiagnose einer MAC-Infektion kann auf der Grundlage des klinischen Bildes und der Röntgenbefunde gestellt und durch die Wiederfindung des Organismus in der mykobakteriellen Kultur wie oben beschrieben[5] bestätigt werden, eine Kultur ist jedoch langsam und kann Tage bis Wochen dauern. Alternativ können Nukleinsäure-Amplifikationstests *M. avium* und *M. intracellulare* innerhalb von Stunden direkt in klinischen Proben nachweisen und differenzieren und so eine schnellere Diagnose und Einleitung der empirischen Therapie ermöglichen. Eine Prüfung der phänotypischen Antibiotikaempfindlichkeit ist jedoch nötig, um die Wirksamkeit der empirischen Therapie zu bestätigen. Dabei kann es nach der Isolierung und Bestimmung der Erreger je nach Methode weitere Tage bis Wochen dauern, bis die Ergebnisse vorliegen.

Erklärung des Tests

Der **cobas**® MAI-Test zur Verwendung auf den **cobas**® 5800/6800/8800 Systems ist ein automatisierter, qualitativer Echtzeit-PCR-Test zur Detektion und Differenzierung der DNA von *Mycobacterium avium* und *Mycobacterium intracellulare* in Proben aus menschlichen Atemwegen, darunter Sputum crudum sowie verdaute(s) und dekontaminierte(s), mit NALC-NaOH behandelte(s) Sputum bzw. BAL-Flüssigkeit. Die zur Überwachung des gesamten Prozesses aus Probenvorbereitung und PCR-Amplifikation eingesetzte interne Kontroll-DNA wird jeder Probe bei der Probenverarbeitung auf den **cobas**® 5800/6800/8800 Systemen zugegeben. Zusätzlich kommen beim Test eine niedrig konzentrierte Positiv- und eine Negativkontrolle zum Einsatz.

Testprinzipien

Der **cobas**® MAI-Test basiert auf präanalytischer Probenverflüssigung und Inaktivierung der Mykobakterien, anschließender Ultraschallbehandlung der Proben und vollautomatisierter Probenvorbereitung (Extraktion und Aufreinigung der Nukleinsäuren) sowie PCR-Amplifikation und Detektion. Die Verflüssigung der Proben und die Inaktivierung der Mykobakterien erfolgen gleichzeitig bei der Probeninkubation mit **cobas**® Microbial Inactivation Solution (MIS). Die Ultraschallbehandlung der verflüssigten und inaktivierten Probe wird vor dem Laden auf die **cobas**® 5800/6800/8800 Systeme durchgeführt. Das **cobas**® 5800 System ist als ein integriertes Gerät ausgelegt. Die **cobas**® 6800/8800 Systeme bestehen aus einem Probenzufuhrmodul, einem Transfermodul, einem Aufarbeitungsmodul und einem Analysenmodul. Die automatische Datenverwaltung erfolgt über die Software des **cobas**® 5800 Systems bzw. der **cobas**® 6800/8800 Systeme, die jedem Test das Ergebnis „positiv“, „negativ“ oder „ungültig“ zuweist. Die Ergebnisse können direkt am Bildschirm des Systems eingesehen, exportiert oder als Bericht ausgedruckt werden.

Die Nukleinsäuren der Patientenproben, externen Kontrollen und der zugegebenen internen Kontroll-DNA (DNA-IC) werden simultan extrahiert. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die bakterielle Nukleinsäure durch chemischen (MIS, **cobas**® **omni** Lysis Reagent), enzymatischen (Proteinase) und physikalischen (Ultraschall) Aufschluss der Bakterien freigesetzt wird. Die freigesetzte Nukleinsäure bindet an die Silica-Oberfläche der hinzugefügten magnetischen Glaspartikel. Nicht gebundene Substanzen und Verunreinigungen, beispielsweise denaturiertes Protein, Zelltrümmer und potenzielle PCR-Inhibitoren, werden durch anschließende Waschschritte entfernt. Die aufgereinigte Nukleinsäure wird danach mit einem Elutionspuffer bei erhöhter Temperatur von den magnetischen Glaspartikeln eluiert.

Zur selektiven Amplifikation der Zielnukleinsäure aus der Probe werden zielregionspezifische Forward- und Reverse-Primer für den *M. avium*-Komplex eingesetzt, die aus hochkonservierten Regionen des entsprechenden Zielorganismus ausgewählt wurden. MAC wird mit einem selektiven Primer-Set nachgewiesen und *M. avium* und *M. intracellulare* werden durch zwei verschiedene Sonden innerhalb der Amplifikationsregion (16S-rRNA-Gen) differenziert. Die selektive Amplifikation der DNA IC wird durch sequenzspezifische Forward- und Reverse-Primer erzielt, die mit der Zielregion des *M. avium*-Komplexes keine Homologie aufweisen. Für die PCR-Amplifikation wird eine thermostabile DNA-Polymerase eingesetzt. Die Ziel- und DNA-IC-Sequenzen werden unter Verwendung eines universellen PCR-Amplifikationsprofils mit vordefinierten Temperaturschritten und vordefinierter Zyklusanzahl gleichzeitig amplifiziert. Der Master-Mix enthält anstelle von Desoxythymidintriphosphat (dTTP) Desoxyuridintriphosphat (dUTP), das in die neu synthetisierte DNA (Amplifikat) eingebaut wird. Etwaige Verunreinigungen durch Amplifikate aus vorherigen PCR-Läufen werden im ersten thermozyklischen Schritt durch das im PCR-Master-Mix enthaltene Enzym AmpErase eliminiert.[13] Neu gebildete Amplifikate dagegen werden nicht eliminiert, da das AmpErase-Enzym durch Temperaturen über 55 °C inaktiviert wird.

Der **cobas**® MAI-Master-Mix enthält je eine Detektionssonde für *M. avium* und *M. intracellulare* sowie eine weitere für die DNA-IC. Die zielspezifischen Sonden sind mit verschiedenen fluoreszierenden Reporterfarbstoffen markiert, die den gleichzeitigen Nachweis der *M. avium*-Zielsequenz, der *M. intracellulare*-Zielsequenz und der DNA-IC in drei verschiedenen Zielkanälen ermöglichen.[14, 15] Das Fluoreszenzsignal der intakten, nicht an die Zielsequenz gebundenen Sonden wird durch einen Quencher-Farbstoff unterdrückt. Während des PCR-Amplifikationsschritts werden die Sonden an die betreffenden einsträngigen DNA-Templates hybridisiert und durch die 5'–3'-Exonukleaseaktivität der DNA-Polymerase gespalten. Dadurch kommt es zur Trennung der Reporter- und Quencher-Farbstoffe, und es entsteht ein Fluoreszenzsignal. Mit jedem PCR-Zyklus werden zunehmende Mengen gespaltener Sonden erzeugt, und das kumulative Signal des Reporter-Farbstoffs steigt entsprechend an. Die Echtzeit-Detektion und -Unterscheidung der PCR-Produkte wird durch Messen der Fluoreszenz der freigesetzten Reporter-Farbstoffe erreicht, die jeweils die Zielregionen des *M. avium*-Komplexes und die DNA-IC repräsentieren.

Reagenzien und Materialien

cobas® MAI-Reagenzien und -Kontrollen

Die mit dem **cobas**® HBV-Test mitgelieferten Materialien sind in Tabelle 1 aufgeführt. Alle zusätzlich benötigten Materialien sind in Tabelle 2, Tabelle 3, Tabelle 4 und Tabelle 10 bis Tabelle 12 aufgeführt.

Sämtliche ungeöffnete Reagenzien und Kontrollen müssen wie in Tabelle 1 bis Tabelle 4 empfohlen gelagert werden.

Tabelle 1 cobas® MAI

cobas® MAI

Bei 2–8 °C lagern.
Kassette mit 384 Tests (P/N 09040595190)

Kitkomponenten	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit
Proteinase-Lösung (PASE)	Tris-Puffer, < 0,05 % EDTA, Calciumchlorid, Calciumacetat, 8 % Proteinase, Glycerin EUH210: Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. EUH208: Enthält Subtilisin von *Bacillus subtilis*. Kann allergische Reaktionen hervorrufen.	38 ml
Interne Kontroll-DNA (DNA-IC)	Tris-Puffer, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % nicht aus MAI stammendes DNA-Konstrukt, 0,002 % Poly-rA-RNA (synthetisch), < 0,1 % Natriumazid	38 ml
Elutionspuffer (EB)	Tris-Puffer, 0,2 % Methyl-4-Hydroxybenzoat	38 ml
Master-Mix-Reagenz 1 (MMX-R1)	Manganacetat, Kaliumhydroxid, < 0,1 % Natriumazid	14,5 ml
MAI-Master-Mix-Reagenz 2 (MAI MMX-R2)	Tricin-Puffer, Kaliumacetat, EDTA, Glycerin, 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-Glykosylase, mikrobiell), < 0,01 % Forward- und Reverse-Primer für die interne Kontrolle, < 0,01 % Upstream- und Downstream-MAI-Primer, < 0,01 % fluoreszenzmarkierte, für MAI und die interne Kontroll-DNA spezifische Oligonukleotidsonden, < 0,01 % Oligonukleotid-Aptamer	17,5 ml

Tabelle 2 cobas® MAI Positive Control Kit

cobas® MAI Positive Control Kit

Bei 2–8 °C lagern.

Zur Verwendung auf dem **cobas**® 5800 System und den **cobas**® 6800/8800 Systemen mit Softwareversion 2.0 oder höher (P/N 09040609190)
Zur Verwendung auf den **cobas**® 6800/8800 Systemen mit Softwareversion 1.4 (P/N 07544863190 oder P/N 09040609190)

Kitkomponenten	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit
MAI-Positivkontrolle (MAI (+) C)	Tris-Puffer, < 0,05 % Natriumazid, < 0,05 % EDTA, 0,002 % Poly-rA, < 0,01 % nicht-infektiöse Plasmid-DNA (mikrobiell) mit den genomischen Sequenzen von *M. avium* und *M. intracellulare*	16 ml (16 × 1 ml)

Tabelle 3 cobas® Buffer Negative Control Kit

cobas® Buffer Negative Control Kit

Bei 2–8 °C lagern.

Zur Verwendung auf dem **cobas**® 5800 System und den **cobas**® 6800/8800 Systemen mit Softwareversion 2.0 oder höher (P/N 09051953190)
Zur Verwendung auf den **cobas**® 6800/8800 Systemen mit Softwareversion 1.4 (P/N 07002238190 oder P/N 09051953190)

Kitkomponenten	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit
cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)	Tris-Puffer, < 0,1 % Natriumazid, EDTA, 0,002 % Poly-rA-RNA (synthetisch)	16 ml (16 × 1 ml)

cobas® omni-Reagenzien für die Probenvorbereitung

Tabelle 4 **cobas® omni** Reagenzien für die Probenvorbereitung

Reagenzien	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -hinweise*
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Bei 2–8 °C lagern. (P/N 06997546190)	Magnetische Glaspartikel, Tris-Puffer, 0,1 % Methyl-4-hydroxybenzoat, < 0,1 % Natriumazid	480 Tests	Nicht zutreffend
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Bei 2–8 °C lagern. (P/N 06997511190)	Tris-Puffer, 0,1 % Methyl-4-hydroxybenzoat, < 0,1 % Natriumazid	4 × 875 ml	Nicht zutreffend
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Bei 2–8 °C lagern. (P/N 06997538190)	43 % (Gew.-%) Guanidinthiocyanat**, 5 % (Massenvol.-%) Polidocanol**, 2 % (Massenvol.-%) Dithiothreitol**, Dihydro-Natriumcitrat	4 × 875 ml	**GEFAHR** H302: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden. H411: Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. EUH032: Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase. EUH071: Wirkt ätzend auf die Atemwege. P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Schutzbrille/ Gesichtsschutz/Gehörschutz tragen. P303 + P361 + P353: BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen. P304 + P340 + P310: BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen. P305 + P351 + P338 + P310: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen. P391: Verschüttete Mengen aufnehmen. 593-84-0 Guanidinthiocyanat 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-Dimercaptobutan-2,3-diol
cobas® omni Wash Reagent (WASH) Bei 15–30 °C lagern. (P/N 06997503190)	Natriumcitratdihydrat, 0,1 % Methyl-4-Hydroxybenzoat	4,2 l	Nicht zutreffend

* Die Sicherheitskennzeichnung der Produkte erfolgt in erster Linie gemäß GHS-Verordnung der EU.

** Gefährliche Substanz oder gefährliches Gemisch.

Lagerungsbedingungen für Reagenzien

Reagenzien müssen wie in Tabelle 5, Tabelle 6 und Tabelle 7 angegeben gelagert und gehandhabt werden.

Reagenzien, die sich nicht im **cobas**® 5800 System oder in den **cobas**® 6800/8800 Systemen befinden, bei der in Tabelle 5 angegebenen Temperatur lagern.

Tabelle 5 Reagenzlagerung (wenn sich das Reagenz nicht im System befindet)

Reagenz	Lagertemperatur
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

Handhabung der Reagenzien für das cobas® 5800 System bzw. die cobas® 6800/8800 Systeme

Reagenzien im **cobas**® 5800 System oder in den **cobas**® 6800/8800 Systemen werden bei angemessenen Temperaturen aufbewahrt und ihr Verfallsdatum wird vom System überwacht. Das System lässt die Verwendung der Reagenzien nur zu, wenn alle in Tabelle 6, Tabelle 7 und Tabelle 8 angegebenen Bedingungen erfüllt sind. Das System verhindert automatisch die Verwendung von abgelaufenen Reagenzien. Die Informationen zur verbleibenden Haltbarkeit nach dem Öffnen des Kits und zur zulässigen Anzahl der Verwendungen des Kits der für den Test benötigten Reagenzien finden Sie in der Benutzeroberfläche des Systems.

Tabelle 6 Bedingungen für die Haltbarkeit der Reagenzien, die vom **cobas**® 5800 System überwacht werden

Reagenz	Haltbarkeit nach dem Öffnen des Kits	Zulässige Anzahl an Verwendungen des Kits	Haltbarkeit im Gerät
cobas® MAI	90 Tage ab erstem Gebrauch	40	36 Tage ab dem Laden
cobas® MAI Positive Control Kit	Behälter zum Einmalgebrauch	16	36 Tage ab dem Laden
cobas® Buffer Negative Control Kit	Behälter zum Einmalgebrauch	16	36 Tage ab dem Laden

Tabelle 7 Bedingungen für die Haltbarkeit für Reagenzien, die von den **cobas**® 6800/8800 Systemen überwacht werden

Reagenz	Haltbarkeit nach dem Öffnen des Kits	Zulässige Anzahl an Verwendungen des Kits	Haltbarkeit im Gerät (außerhalb der Kühlung im Gerät)
cobas® MAI	90 Tage ab erstem Gebrauch	40	40 Stunden
cobas® MAI Positive Control Kit	Behälter zum Einmalgebrauch	16	10 Stunden
cobas® Buffer Negative Control Kit	Behälter zum Einmalgebrauch	16	10 Stunden

Tabelle 8 gibt die Haltbarkeit nach dem Öffnen des Kits mit den **cobas**® **omni** Reagenzien an. Das System überprüft vor jedem Testdurchgang die Haltbarkeit nach dem Öffnen des Kits und ob die Reagenzienmenge ausreicht. Daher ist für diese Reagenzien keine zulässige Anzahl an Verwendungen des Kits und keine Haltbarkeit im Gerät festgelegt.

Tabelle 8 Bedingungen für die Haltbarkeit der **cobas**® **omni** Reagenzien, die von den **cobas**® 5800/6800/8800 Systemen geprüft werden

Reagenz	Haltbarkeit nach dem Öffnen des Kits
cobas® **omni** Lysis Reagent	30 Tage ab dem Laden
cobas® **omni** MGP Reagent	30 Tage ab erstem Gebrauch
cobas® **omni** Specimen Diluent	30 Tage ab dem Laden
cobas® **omni** Wash Reagent	30 Tage ab dem Laden

Zusätzlich benötigte Materialien für die cobas® 5800/6800/8800 Systeme

Tabelle 9 Materialien zur Verwendung auf den **cobas**® 5800/6800/8800 Systemen

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

Tabelle 10 Verbrauchsmaterialien zur Verwendung auf dem **cobas**® 5800 System*

Material
cobas® **omni** Processing Plate 24
cobas® **omni** Amplification Plate 24
cobas® **omni** Liquid Waste Plate 24
cobas® **omni** Liquid Waste Container
Pipettenspitzen CORE TIPS mit Filter, 1 ml
Pipettenspitzen CORE TIPS mit Filter, 300 µl
Beutel für Festabfälle* oder Beutel für Festabfälle mit Einsatz
S-Carrier für Röhrchen mit 16 Positionen komplett
5-Positionen-Rack-Carrier

* Bestellnummern sind der Benutzerunterstützung des **cobas**® 5800 Systems zu entnehmen.

Tabelle 11 Verbrauchsmaterialien zur Verwendung auf den **cobas**® 6800/8800 Systemen*

Material
cobas® **omni** Processing Plate
cobas® **omni** Amplification Plate
cobas® **omni** Pipette Tips
cobas® **omni** Liquid Waste Container
Beutel für Festabfälle und Festabfallbehälter oder Beutel für Festabfälle mit Einsatz und Kit-Schublade
STD-Rack Rerun R001-R025 PINK

* Bestellnummern sind der Benutzerunterstützung der **cobas**® 6800/8800 Systeme zu entnehmen.

Tabelle 12 Weitere Materialien und Verbrauchsmaterialien, die für die präanalytische Behandlung benötigt werden

Materialien
cobas® Microbial Inactivation Solution (P/N 08185476001)
Ultraschallgerät TS 5 für Röhrchen (Rinco Ultrasonics AG – P/N 46690)
5-ml-Polypropylenröhrchen (75 × 13 mm) mit Rundboden (Sarstedt: Röhrchen P/N 60.504.010) und Schraubverschluss (Schraubverschlüsse P/N 65.163)*
MPA RACK, 13 MM, LIGHT GREEN 7001-7050 (Roche – P/N 03118878001 oder gleichwertig)**
Zentrifuge (Einstellmöglichkeit der RCF auf max. 3000 g, kompatibel mit Schraubverschlussröhrchen 75 × 13 mm)
Vortexmischer
Thermostabile Barcode-Etiketten (OPAL Associates AG, P/N 20300824 TR PE-Folie Pharma oder gleichwertig)***

* Die Verwendung anderer als der oben empfohlenen Röhrchen muss vom Anwender vor dem Einsatz im **cobas**® MAI-Arbeitsablauf im Labor überprüft werden.

** Für den Betrieb des Ultraschallgeräts TS 5 werden 13-mm-MPA-Racks benötigt. Eine ausführliche Bestellliste für gleichwertige Probenracks in anderen Farben oder Nummernbereichen ist beim zuständigen Kundendienst von Roche Diagnostics erhältlich. Beachten Sie, dass RD5-Racks nicht mit dem Ultraschallgerät TS 5 kompatibel sind.

*** Detaillierte Informationen zu den Barcodespezifikationen sind der Benutzerunterstützung der **cobas**® 5800/6800/8800 Systeme zu entnehmen. Die Verwendung anderer als der oben empfohlenen Barcode-Etiketten muss vom Anwender vor dem Einsatz im **cobas**® MAI-Arbeitsablauf im Labor überprüft werden. Weitere Informationen zu kompatiblen Barcode-Etiketten und Vorschläge zur Überprüfung der Kompatibilität erhalten Sie vom zuständigen Kundendienst von Roche Diagnostics. Die Verwendung nicht kompatibler Barcode-Etiketten kann zu Beschädigungen der Röhrchen während der Ultraschallbehandlung und somit zur Kontamination des Geräts führen.

Benötigte Geräte und Software

Die Software des **cobas**® 5800 Systems, die Software der **cobas**® 6800/8800 Systeme und das **cobas**® MAI-Analysenpaket (ASAP) für die **cobas**® 5800/6800/8800 Systeme müssen auf dem jeweiligen Gerät installiert sein.

Für die **cobas**® 5800 und die **cobas**® 6800/8800 Systeme mit Software 2.0 oder höher werden die x800 Data Manager-Software und der PC (bzw. Server) mit dem System bereitgestellt.

Bei den **cobas**® 6800/8800 Systemen mit Softwareversion 1.4 ist der IG-Server (Instrument Gateway) Bestandteil der Systeme.

Tabelle 13 Ausstattung

Ausstattung	**P/N**
cobas® 5800 System	08707464001
cobas® 6800 System	05524245001 und 09575154001
cobas® 8800 System	05412722001 und 09575154001
Probenzufuhrmodul für die **cobas**® 6800/8800 Systeme	06301037001 und 09936882001

Zusätzliche Informationen finden Sie in der Benutzerunterstützung des **cobas**® 5800 Systems bzw. der **cobas**® 6800/8800 Systeme.

Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Wie bei allen Testverfahren ist gute Laborpraxis eine unerlässliche Voraussetzung für die uneingeschränkte Leistung dieses Tests. Aufgrund der hohen Sensitivität dieses Tests ist besonders darauf zu achten, dass die Reagenzien und Amplifikationsgemische nicht kontaminiert werden.

- Nur zur Verwendung als *In-vitro*-Diagnostikum bestimmt.
- Alle Patientenproben sind als potenziell infektiös zu behandeln. Alle biologischen Proben sind daher als potenziell infektiös, gemäß den Vorschriften für sicheres Arbeiten im Labor und nach einer angemessenen Risikobewertung wie in „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“, dem CLSI-Dokument M29-A4 und im „Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual“ der WHO beschrieben zu behandeln.[16–18] Dieses Verfahren darf nur von Personal angewandt werden, das mit dem **cobas**® MAI-Test und den **cobas**® 5800/6800/8800 Systemen vertraut und in der Handhabung infektiöser Materialien geschult ist.
- Das gesamte Personal muss persönliche Schutzausrüstung tragen, einschließlich Laborkittel, Einweghandschuhen sowie Augen- und Atemschutz gemäß den Sicherheitsverfahren und -praktiken der jeweiligen Einrichtung, und die Sicherheitsverfahren der jeweiligen Einrichtung für Arbeiten mit Chemikalien und biologischen Proben befolgen.
- Jedes Labor muss die Arbeitsschritte für den Umgang mit Proben vor und nach der Inaktivierung der Mykobakterien durch die MIS auf der Grundlage einer angemessenen Risikobewertung festlegen und die empfohlenen Vorschriften für die biologische Sicherheit sowie die lokalen und laborspezifischen Richtlinien bzw. Vorschriften einhalten.[16]
- Der Erfolg der mykobakteriellen Inaktivierung hängt von der Einhaltung der in diesem Dokument beschriebenen Verfahren und der vollständigen Vermischung der Probe mit der MIS ab. Die Verflüssigung der Proben und die Inaktivierung der Mykobakterien durch die MIS muss gemäß den örtlichen und laborspezifischen Richtlinien oder Vorschriften und auf der Basis einer angemessenen Risikobewertung durchgeführt werden.
- Alle von Menschen gewonnenen Materialien sind als potenziell infektiös zu betrachten und müssen unter Anwendung genereller Vorsichtsmaßnahmen gehandhabt werden. Wenn Material verschüttet wurde, betroffenes Areal unverzüglich mit einer frisch zubereiteten Lösung aus 0,5%igem Natrium- oder Kaliumhypochlorit in destilliertem oder entionisiertem Wasser desinfizieren oder die jeweiligen Laborverfahren beachten.
- **Wenn Proben in MIS (die Guanidinthiocyanat enthält) verschüttet werden, ist darauf zu achten, dass diese nicht mit Natrium- oder Kaliumhypochlorit in Berührung kommen. Dieses Gemisch kann ein hochgiftiges Gas erzeugen.** Wenn Proben in MIS verschüttet werden, muss der betroffene Bereich ZUERST mit einem geeigneten Laborreinigungsmittel und Wasser und anschließend mit 70%igem Ethanol gereinigt werden.
- MIS ist lichtempfindlich und wird in lichtgeschützten Flaschen ausgeliefert. MIS muss aufrecht gelagert werden.
- Nur die mitgelieferten oder als erforderlich angegebenen Verbrauchsmaterialien verwenden, um die angegebene Testleistung zu gewährleisten.
- Alle Verfahren und Vorschriften sind sorgfältig einzuhalten, um eine korrekte Durchführung des Tests sicherzustellen. Jede Abweichung von den Verfahren und Vorschriften kann sich auf die angegebene Leistung des Tests auswirken.

- Es kann zu falsch-positiven Ergebnissen kommen, wenn während der Handhabung und Bearbeitung der Proben eine Probenverschleppung nicht vermieden wird.
- Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS) sind auf Anfrage beim zuständigen Kundendienst von Roche Diagnostics erhältlich.
- Schwerwiegende Vorkommnisse, die bei Verwendung dieses Tests auftreten, müssen den zuständigen Behörden und dem Hersteller gemeldet werden.

Umgang mit Reagenzien

- Alle Reagenzien, Kontrollen und Proben sind gemäß der guten Laborpraxis zu handhaben, um eine Verschleppung der Proben, Reagenzien und Kontrollen zu vermeiden.
- Alle Reagenzkassetten, Diluenten, Lysereagenzien und Waschreagenzien vor der Verwendung visuell auf auslaufende Flüssigkeit überprüfen. Liegen Anzeichen für undichte Stellen vor, das betreffende Material nicht für den Test verwenden.
- **cobas**® **omni** Lysis Reagent und MIS enthalten Guanidinthiocyanat, eine potenziell gesundheitsgefährdende Chemikalie. Haut, Augen und Schleimhäute vor Kontakt mit Reagenzien schützen. Bei Kontakt sofort mit reichlich Wasser abspülen, um Verätzungen zu vermeiden.
- **cobas**® **omni** Lysis Reagent und MIS enthalten Guanidinthiocyanat und dürfen nicht in Kontakt mit Natrium- oder Kaliumhypochloritlösung gebracht werden. Dieses Gemisch kann ein hochgiftiges Gas erzeugen.
- Da aufgebrauchte Kontrollkits eingestochene Behälter mit Reagenzrückständen enthalten, ist besondere Vorsicht bei der Entsorgung geboten, um das Verschütten von und den Kontakt mit Flüssigkeiten zu vermeiden.
- Der **cobas**® MAI-Test, das **cobas**® MAI Positive Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, **cobas**® **omni** MGP Reagent und **cobas**® **omni** Specimen Diluent enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel. Haut, Augen und Schleimhäute vor Kontakt mit Reagenzien schützen. Bei Kontakt sofort mit reichlich Wasser abspülen, um Verätzungen zu vermeiden. Verschüttete Reagenzien vor dem Aufwischen zunächst mit Wasser verdünnen.
- Sämtliche Materialien, die mit Proben und Reagenzien in Berührung gekommen sind, gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

Gute Laborpraxis

- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- In den Arbeitsbereichen des Labors nicht essen, trinken oder rauchen.
- Alle biologischen Proben, einschließlich mit MIS behandelte Proben, sind wie potenzielle Überträger von Infektionserregern gemäß den lokalen und laborspezifischen Richtlinien oder Vorschriften und/oder auf der Basis einer angemessenen Risikobewertung zu behandeln.[14]
- Beim Umgang mit Proben und Reagenzien gemäß den Richtlinien des Instituts Laborhandschuhe, Laborkittel, Schutzbrille und Atemschutz tragen. Darauf achten, dass die Handschuhe beim Umgang mit den Proben und Kontrollen nicht kontaminiert werden. Um Kontamination zu vermeiden, müssen die Handschuhe zwischen der Handhabung von Proben und dem **cobas**® MAI-Test, **cobas**® MAI Positive Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, **cobas**® **omni** Reagenzien und Verbrauchsmaterialien jeweils gewechselt werden.
- Nach Gebrauch der Proben und Reagenzien sowie nach dem Ausziehen der Handschuhe gründlich die Hände waschen und desinfizieren.

- Alle Arbeitsflächen im Labor gründlich mit einer frisch hergestellten Lösung aus 0,5%igem Natrium- oder Kaliumhypochlorit in destilliertem oder entionisiertem Wasser reinigen und desinfizieren. Anschließend die Arbeitsflächen mit 70%igem Ethanol abwischen.
- Wenn Flüssigkeiten auf den **cobas**® 5800/6800/8800 Systemen verschüttet wurden, die Oberflächen der Geräte gemäß den Anweisungen in der Benutzerunterstützung des **cobas**® 5800 Systems bzw. der **cobas**® 6800/8800 Systeme reinigen und dekontaminieren.

Entnahme, Transport und Lagerung von Proben

Hinweis: Alle Proben und Kontrollen sind wie potenzielle Überträger von Infektionserregern zu behandeln.

Proben

Sputum crudum sowie mit NALC-NaOH behandelte(s) Sputum und BAL-Flüssigkeit können für den **cobas**® MAI-Test verwendet werden.

Transport und Lagerung von Proben

Sputum-crudum-Proben können vor der Probenverflüssigung und -inaktivierung mittels MIS bis zu 3 Tage bei 2 bis 35 °C gelagert und/oder transportiert werden, gefolgt von bis zu 7 Tagen bei 2 bis 8 °C. Zur Langzeitlagerung von Sputum-crudum-Proben ohne MIS-Behandlung werden Temperaturen von ≤ –20 °C empfohlen.

Mit NALC-NaOH behandelte(s) Sputum und BAL-Flüssigkeit können vor der Probeninaktivierung mittels MIS bis zu 7 Tage bei 2 bis 8 °C gelagert werden. Für die Langzeitlagerung von Sputum und BAL-Flüssigkeit, die nicht mit MIS behandelt wurden, können die Proben bei Temperaturen von ≤ –20 °C bis zu 9 Monate eingefroren gelagert werden und dürfen zweimal eingefroren und wieder aufgetaut werden.

Wenn Proben versandt werden sollen, sind sie gemäß den geltenden nationalen und internationalen Vorschriften für den Transport von infektiösen Proben und Krankheitserregern zu verpacken und zu beschriften.

Lagerung inaktivierter Proben

Sputum crudum sowie mit NALC-NaOH behandelte(s) Sputum und BAL-Flüssigkeit, die mit MIS behandelt (inaktiviert) wurden, können bis zu 12 Stunden bei 15 °C bis 35 °C gelagert werden, gefolgt von bis zu 7 Tagen bei 2 °C bis 8 °C und 30 Tagen bei ≤ –20 °C, und dürfen vor der Verarbeitung auf den **cobas**® 5800/6800/8800 Systemen zweimal eingefroren und wieder aufgetaut werden.

Hinweis: MIS-behandelte Proben gefrieren aufgrund des hohen Isopropanolgehalts möglicherweise nicht.

Hinweis: Die Ultraschallbehandlung der Proben kann jederzeit nach der initialen Inkubation mit MIS über mindestens 60 Minuten durchgeführt werden. Detaillierte Informationen sind dem Abschnitt „Ultraschall-behandlung der Proben“ zu entnehmen.

Gebrauchsanweisung

Hinweise zum Verfahren

- Den **cobas**® MAI-Test, das **cobas**® MAI Positive Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, MIS und die **cobas**® **omni** Reagenzien nach dem Verfallsdatum nicht mehr verwenden.
- Verbrauchsmaterialien nicht wiederverwenden. Sie sind ausschließlich zum Einmalgebrauch vorgesehen.
- Zur Durchführung des **cobas**® MAI-Tests ist ein Probenvolumen von mindestens 1,2 ml erforderlich, davon werden 850 µl verarbeitet.
- Darauf achten, dass die thermostabilen Barcode-Etiketten auf den Probenröhrchen in den Öffnungen oben an der Seite der MPA-Probenracks sichtbar sind. Barcode-Spezifikationen und zusätzliche Informationen zum Laden von Probenröhrchen sind Abbildung 1 sowie der Benutzerunterstützung der **cobas**® 5800/6800/8800 Systeme zu entnehmen.
- Sicherstellen, dass die Probenröhrchen nach der Ultraschallbehandlung und vor dem Laden in die **cobas**® 5800/6800/8800 Systeme geöffnet werden.
- Informationen zur ordnungsgemäßen Wartung enthält die Benutzerunterstützung der **cobas**® 5800/6800/8800 Systeme.

Vor dem Einsatz des MAI-Tests auf den **cobas**® 5800/6800/8800 Systemen müssen die Proben gemäß den folgenden Abschnitten verarbeitet werden: „Verarbeitung von Sputum-crudum-Proben“ oder „Verarbeitung von Sputum und BAL-Flüssigkeit“ und „Ultraschallbehandlung der Proben“. Eine Zusammenfassung des entsprechenden Arbeitsablaufs ist für Sputum-crudum-Proben in Tabelle 14 und für BAL-Proben in Tabelle 15 dargestellt. Detaillierte Informationen sind den entsprechenden Abschnitten zu entnehmen.

Hinweis: Der Umgang mit den Proben vor und nach der Inaktivierung der Mykobakterien durch die **cobas**® MIS muss gemäß den lokalen und laborspezifischen Richtlinien oder Vorschriften und/oder auf der Basis einer angemessenen Risikobewertung erfolgen.[16]

Hinweis: Die Ultraschallbehandlung der mit MIS behandelten Proben muss gemäß den lokalen und laborspezifischen Richtlinien oder Vorschriften und/oder auf der Basis einer angemessenen Risikobewertung erfolgen.[16]

Tabelle 14 Übersicht über den Arbeitsablauf für Sputum-crudum-Proben

1			2 Teile MIS zu 1 Teil Sputum crudum geben.
2		30–60 Sekunden	30–60 Sekunden lang kräftig schütteln oder vortexen.
3		≥ 60 Minuten	Die Probe mindestens 60 Minuten lang bei 15–30 °C (Raumtemperatur) inkubieren.
4		30–60 Sekunden	30–60 Sekunden lang kräftig schütteln oder vortexen.
5		1,2 ml für 1 Test 2,4 ml für 2 Tests 3,6 ml für 3 Tests	1,2 bis 3,6 ml der MIS-behandelten Probe in ein Sekundärröhrchen mit Schraubverschluss überführen.
6		5 Minuten	Die MIS-behandelte Probe mit Ultraschall behandeln.
7		Max. 1 Minute	Die Probe höchstens 1 Minute lang bei einer RCF von maximal 3000 g zentrifugieren.
8			Die unverschlossene Probe in die **cobas**® 5800 oder **cobas**® 6800/8800 Systeme laden und den Lauf mit der Sputum-crudum-Probe starten.

Tabelle 15 Übersicht über den Arbeitsablauf für Sputum- und BAL-Proben

1		0,2 ml für 1 Test 0,4 ml für 2 Tests 0,6 ml für 3 Tests	Vortexen und 0,2 bis 0,6 ml der Sputum-/BAL-Probe in ein Sekundärröhrchen mit Schraubverschluss überführen.
2			5 Teile MIS zu 1 Teil Sputum-/BAL-Probe geben. • 1 ml MIS für 1 Test (0,2 ml Sputum-/BAL-Probe) • 2 ml MIS für 2 Tests (0,4 ml Sputum-/BAL-Probe) • 3 ml MIS für 3 Tests (0,6 ml Sputum-/BAL-Probe)
3		30–60 Sekunden	30–60 Sekunden lang kräftig schütteln oder vortexen.
4		≥ 60 Minuten	Die Probe mindestens 60 Minuten lang bei 15–30 °C (Raumtemperatur) inkubieren.
5		30–60 Sekunden	30–60 Sekunden lang kräftig schütteln oder vortexen.
6		5 Minuten	Die MIS-behandelte Probe mit Ultraschall behandeln.
7		Max. 1 Minute	Die Probe höchstens 1 Minute lang bei einer RCF von maximal 3000 g zentrifugieren.
8			Die unverschlossene Probe in die **cobas**® 5800 oder **cobas**® 6800/8800 Systeme laden und den Lauf mit der Sputum-/BAL-Probe starten.

Verarbeitung von Sputum-crudum-Proben

- Sicherstellen, dass der Sputum-crudum-Behälter korrekt gekennzeichnet ist und mindestens 0,4 ml Sputum enthält. Bei Gefrierlagerung die Probe auftauen und auf Umgebungstemperatur äquilibrieren lassen.
- Die MIS-Flaschen vor dem Gebrauch zwei- bis viermal umschwenken.
- Den Sputumbehälter öffnen und ungefähr zwei Teile MIS zu einem Teil Sputumprobe geben (z. B. 2 ml MIS zu 1 ml Sputumprobe). Das Volumen dabei visuell mit einer Einwegpipette abmessen. Den Sputumbehälter gut verschließen.
- Die MIS-Flaschen sofort nach dem Gebrauch verschließen.
- 30–60 Sekunden lang kräftig schütteln oder vortexen.

  Hinweis: Sicherstellen, dass die gesamte Sputumprobe mit der MIS vermischt ist.

- Die Probe mindestens 60 Minuten lang bei 15–30 °C (Raumtemperatur) inkubieren.

  Hinweis: Die maximalen Lagerbedingungen sind dem Abschnitt „Lagerung inaktivierter Proben“ zu entnehmen.

- 30–60 Sekunden lang kräftig schütteln oder vortexen, bzw. so lange, bis die Probe vollständig homogenisiert ist.

- Mindestens 1,2 ml und maximal 3,6 ml der MIS-behandelten Sputumprobe in ein 5-ml-Polypropylenröhrchen (75 × 13 mm) mit Schraubverschluss, Rundboden (Sarstedt: Röhrchen P/N 60.504.010, Verschluss P/N 65.163) und einem thermostabilen Barcode-Etikett überführen. Das Röhrchen fest verschließen.

  Hinweis: Vor der Überführung der Probe sicherstellen, dass die Barcodeinformationen auf dem Sputumbehälter mit denen auf dem 5-ml-Sekundärröhrchen übereinstimmen.

  Hinweis: Siehe Tabelle 16.

- Die inaktivierte Probe vor der Durchführung des **cobas**® MAI-Laufs gemäß den Anweisungen in Abschnitt „Ultraschallbehandlung der Proben“ mit Ultraschall behandeln.

Verarbeitung von Sputum und BAL-Flüssigkeit

- Sicherstellen, dass der Behälter mit dem mit NALC-NaOH behandelten Sputum sowie der Behälter mit der mit NALC-NaOH behandelten BAL-Flüssigkeit korrekt gekennzeichnet sind und mindestens 0,2 ml Probe enthalten. Bei Gefrierlagerung die Probe auftauen und auf Umgebungstemperatur äquilibrieren lassen.
- Die Sputum-/BAL-Probe mindestens 10 Sekunden lang vortexen.
- Mindestens 0,2 ml und maximal 0,6 ml der Sputum-/BAL-Probe in ein 5-ml-Polypropylenröhrchen (75 × 13 mm) mit Schraubverschluss, Rundboden (Sarstedt: Röhrchen P/N 60.504.010, Verschluss P/N 65.163) und einem thermostabilen Barcode-Etikett überführen.

  Hinweis: Vor der Überführung der Probe sicherstellen, dass die Barcodeinformationen auf dem Probenbehälter mit denen auf dem 5-ml-Sekundärröhrchen übereinstimmen.

- Die MIS-Flaschen vor dem Gebrauch zwei- bis viermal umschwenken.
- Fünf Teile MIS zu einem Teil Probe geben (z. B. 1 ml MIS zu 0,2 ml Probe). Das Röhrchen fest verschließen.

  Hinweis: Siehe Tabelle 16.

- Die MIS-Flaschen sofort nach dem Gebrauch verschließen.
- 10- bis 20-mal kräftig schütteln oder 30 bis 60 Sekunden lang vortexen.

  Hinweis: Sicherstellen, dass die gesamte Probe mit der MIS vermischt ist.

- Die Probe mindestens 60 Minuten lang bei 15–30 °C (Raumtemperatur) inkubieren.

  Hinweis: Die maximalen Lagerbedingungen sind dem Abschnitt „Lagerung inaktivierter Proben“ zu entnehmen.

- 30–60 Sekunden lang kräftig schütteln oder vortexen.
- Die inaktivierte Probe vor der Durchführung des **cobas**® MAI-Laufs gemäß den Anweisungen in Abschnitt „Ultraschallbehandlung der Proben“ mit Ultraschall behandeln.

Tabelle 16 Für den **cobas**® MAI-Test benötigte Volumen der mit **cobas**® Microbial Inactivation Solution behandelten Proben

Anzahl der Tests, die aus dem Sekundärröhrchen durchgeführt werden sollen	Erforderliches Mindestvolumen der MIS-behandelten Probe	Zulässiges Maximalvolumen der MIS-behandelten Probe
1 Testauftrag	1,2 ml	3,6 ml
2 Testaufträge*	2,4 ml	3,6 ml
3 Testaufträge*	3,6 ml	3,6 ml

* Kann für die gleichzeitige Verarbeitung mit anderen **cobas**® 5800/6800/8800 Tests (Mixed Batching) mit der gleichen Probenart oder für Testwiederholungen verwendet werden.

Ultraschallbehandlung der Proben

- Die Ultraschallbehandlung der Proben, die mit dem **cobas**® MAI-Test analysiert werden sollen, muss mit dem Ultraschallgerät TS 5 der Firma Rinco Ultrasonics AG (P/N 46690) durchgeführt werden. Der Gebrauch anderer Ultraschallgeräte kann zu falsch-positiven, falsch-negativen und/oder ungültigen Ergebnissen führen. Die Bedienung des Ultraschallgeräts ist im Benutzerhandbuch des Herstellers ausführlich beschrieben.
- Fünf verschlossene, mit Barcode gekennzeichnete Schraubverschluss-Röhrchen mit 1,2 ml bis 3,6 ml MIS-behandelter Probe in ein MPA-Rack stellen.

  Hinweis: Darauf achten, dass die thermostabilen Barcode-Etiketten auf den Probenröhrchen zu den Öffnungen oben an der Seite der MPA-Probenracks zeigen und durch diese sichtbar sind (siehe Abbildung 1).

  Hinweis: Sicherstellen, dass jedes Röhrchen mit einem Barcode-Etikett gekennzeichnet ist.

  Hinweis: Sicherstellen, dass alle fünf Röhrchenpositionen des MPA-Racks besetzt sind. Wenn weniger als fünf Röhrchen mit MIS-behandelter Probe vorhanden sind, müssen die verbleibenden Positionen mit barcodierten Dummy-Tubes des gleichen Typs, gefüllt mit Wasser oder MIS, besetzt werden.

Abbildung 1 Korrekte Platzierung von Probenröhrchen im MPA-Rack vor der Ultraschallbehandlung

- Das Ultraschallgerät einschalten.
- Das vordefinierte Ultraschallprofil „Respiratory Samples“ (Respiratorische Proben) auswählen.
- Das Ultraschallgerät öffnen und das MPA-Rack gemäß den Anweisungen des Herstellers einsetzen.
- Das Ultraschallgerät schließen.
- Den Ultraschalllauf starten.

- Sicherstellen, dass der Ultraschalllauf erfolgreich war, und das MPA-Rack herausnehmen.
  Hinweis: Es ist zu erwarten, dass sich die Probenröhrchen während der Ultraschallbehandlung erwärmen. Beim Herausnehmen des MPA-Racks mit den Probenröhrchen vorsichtig vorgehen.
  Hinweis: Wenn bei der Ultraschallbehandlung ein Fehler auftritt, die Gebrauchsanweisung des Herstellers einsehen, die Fehlerursache beseitigen und den Ultraschalllauf wiederholen, nachdem die Proben mindestens 15 Minuten lang abgekühlt sind.
- Die mit MIS und Ultraschall behandelten Proben können nun mit dem **cobas**® MAI-Test analysiert oder gemäß den Anweisungen in Abschnitt „Lagerung inaktivierter Proben“ gelagert werden.

Durchführung des cobas® MAI-Tests auf den cobas® 5800/6800/8800 Systemen

- Die Bedienung der Geräte ist in der Benutzerunterstützung des **cobas**® 5800 Systems und der **cobas**® 6800/8800 Systeme ausführlich beschrieben.
- Informationen zur ordnungsgemäßen Wartung der Geräte finden Sie in der Benutzerunterstützung des **cobas**® 5800 Systems bzw. der **cobas**® 6800/8800 Systeme.
- Es wird empfohlen, vor dem Öffnen der Röhrchen und Laden der Proben in das **cobas**® 5800 System die Zell- und Matrixrückstände der Probe zu pelletieren, indem die Proben höchstens 1 Minute lang bei einer RCF von maximal 3000 g zentrifugiert werden.
- Ein einzelner Lauf kann eine Kombination aus Proben enthalten (Sputum crudum, Sputum und BAL-Flüssigkeit).
- Darauf achten, dass die Barcode-Etiketten auf den Probenröhrchen durch die Öffnungen an der Seite der RD5- bzw. MPA-Probenracks sichtbar sind. Barcode-Spezifikationen und zusätzliche Informationen zum Laden von Probenröhrchen sind in der Benutzerunterstützung des **cobas**® 5800 Systems bzw. der **cobas**® 6800/8800 Systeme enthalten.

Hinweis: Die Proben mindestens 10 Sekunden lang vortexen, wenn die Proben nach der Ultraschallbehandlung und vor der Zentrifugation über 1 Stunde gelagert wurden.

Hinweis: Der Wegfall des Zentrifugationsschritts kann beim **cobas**® 5800 System zu vermehrten Verklumpungen in der Probe führen.

Abbildung 2 **cobas**® MAI-Testablauf auf dem **cobas**® 5800 System

1	Beim System anmelden.

2	Proben in das System laden.
	• Den Verschluss von den Röhrchen entfernen.
	• Das Röhrchen direkt in ein Rack stellen.
	• Probenracks in das System laden.
	• Vorbereitung erfolgt automatisch durch das System.
	• Tests auswählen:
	  • Für MIS-behandelte Sputum-crudum-Proben die Option „Raw sputum“ (Sputum crudum) auswählen.
	  • Für MIS-behandelte(s) Sputum/BAL-Flüssigkeit „Sediment“ auswählen.

3	Reagenzien und Verbrauchsmaterialien auf Anforderung des Systems nachfüllen. • Testspezifische Reagenzkassette(n) laden. • Kontroll-Miniracks laden. • Probenaufarbeitungsspitzen laden. • Elutionsspitzen laden. • Probenaufarbeitungsplatten laden. • Flüssigabfallplatten laden. • Amplifikationsplatten laden. • MGP-Kassette laden. • Probendiluent nachfüllen. • Lysereagenz nachfüllen. • Waschreagenz nachfüllen.
4	Den Lauf starten, indem Sie in der Benutzeroberfläche die Schaltfläche für den Bearbeitungsstart auswählen; alle nachfolgenden Läufe starten automatisch, sofern sie nicht manuell verschoben werden.
5	Ergebnisse prüfen und exportieren.
6	Probenröhrchen, die die Anforderungen an das Mindestvolumen erfüllen, bei Bedarf für weitere Anwendungen entnehmen und verschließen. Das Gerät reinigen. • Leere Kontroll-Miniracks entnehmen. • Leere testspezifische Reagenzkassette(n) entnehmen. • Die Amplifikationsplattenschublade leeren. • Flüssigabfall entsorgen. • Festabfall entsorgen.

Abbildung 3 **cobas**® MAI-Testablauf auf den **cobas**® 6800/8800 Systemen

1	Beim System anmelden. Zum Vorbereiten des Systems „Start“ drücken. Tests auswählen: • Für MIS-behandelte Sputum-crudum-Proben die Option „Raw sputum“ (Sputum crudum) auswählen. • Für MIS-behandelte(s) Sputum/BAL-Flüssigkeit „Sediment“ auswählen.
2	Reagenzien und Verbrauchsmaterialien auf Anforderung des Systems nachfüllen. • Testspezifische Reagenzkassette laden. • Kontrollkassetten laden. • Pipettierspitzen laden. • Probenaufarbeitungsplatten laden. • MGP-Reagenz laden. • Amplifikationsplatten laden. • Probendiluent nachfüllen. • Lysereagenz nachfüllen. • Waschreagenz nachfüllen.
3	Proben in das System laden: • Für jede Probe o Den Verschluss vom Röhrchen entfernen. o Röhrchen in ein Rack stellen. • Das Probenrack und die Racks für gestopfte Spitzen in das Probenzufuhrmodul laden. • Sicherstellen, dass die Proben im Transfermodul aufgenommen wurden.
4	Lauf starten.
5	Ergebnisse prüfen und exportieren.
6	Probenröhrchen, die die Anforderungen an das Mindestvolumen erfüllen, bei Bedarf für weitere Anwendungen entnehmen und verschließen. Das Gerät reinigen: • Leere Kontrollkassetten entnehmen. • Die Amplifikationsplattenschublade leeren. • Flüssigabfall entsorgen. • Festabfall entsorgen.

Ergebnisse

Der **cobas**® MAI-Test führt für alle Proben und Kontrollen automatisch die Detektion und Differenzierung der DNA von *M. avium* und *M. intracellulare* durch und zeigt die Gültigkeit des Tests sowie die einzelnen Ergebnisse nach Zielregion an.

- Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse auf dem **cobas**® 5800 System und den **cobas**® 6800/8800 Systemen mit Softwareversion 2.0 oder höher.
- Mindestens alle 72 Stunden und mit jeder neuen Kitcharge müssen eine **cobas**® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] und eine **cobas**® MAI Positive Control [MAI (+) C] mitgeführt werden. Positiv- bzw. Negativkontrollen können, wenn dies aufgrund der Laborverfahren und/oder der geltenden Vorschriften erforderlich ist, auch häufiger angesetzt werden.
- Die Software und/oder den Bericht auf Flags und entsprechende Ergebnisse kontrollieren, um die Gültigkeit der Ergebnisse sicherzustellen. (Eine Liste der Flag-Codes finden Sie in der Benutzerunterstützung des x800 Data Managers.)
- Kontrollen werden in der Spalte „Kontrollergebnis“ mit „Gültig“ gekennzeichnet, wenn die entsprechenden Zielsequenzen der Kontrollen als gültig ausgegeben wird. Kontrollen werden in der Spalte „Kontrollergebnis“ mit „Ungültig“ gekennzeichnet, wenn die entsprechenden Zielsequenzen der Kontrollen als ungültig ausgegeben werden.
- Bei mit „Ungültig“ gekennzeichneten Kontrollen erscheint in der Spalte „Flags“ ein Hinweis. In der Detailansicht werden weitere Informationen dazu angezeigt, warum die Kontrolle als ungültig ausgegeben wurde und was der Flag bedeutet.
- Ist eine der Kontrollen ungültig, müssen alle Kontrollen und alle zugehörigen Proben erneut getestet werden.

Die Gerätesoftware nimmt je nach den Kontrollergebnissen automatisch eine Validierung der Ergebnisse vor.

HINWEIS: Das **cobas**® 5800 System und die **cobas**® 6800/8800 Systeme mit Softwareversion 2.0 oder höher werden mit der Standardeinstellung ausgeliefert, bei der mit jedem Lauf ein Satz Kontrollen (Positiv- und Negativkontrollen) analysiert wird; es kann aber je nach Laborverfahren und geltenden Vorschriften auch so konfiguriert werden, dass das Intervall bis zu 72 Stunden beträgt. Für weitere Informationen wenden Sie sich an Ihren Roche Servicetechniker und/oder den technischen Kundendienst von Roche.

Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse auf den cobas® 6800/8800 Systemen mit Softwareversion 1.4

- Mit jedem Batch eines angeforderten Ergebnistyps werden eine **cobas**® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] und eine **cobas**® MAI Positive Control [MAI (+) C] verarbeitet.
- Die Software der **cobas**® 6800/8800 Systeme und/oder den Bericht auf Flags und entsprechende Ergebnisse kontrollieren, um die Gültigkeit des Batchs zu überprüfen.
- Eine Beschreibung aller Flags ist der Benutzerunterstützung der **cobas**® 6800/8800 Systeme zu entnehmen.
- Der Batch ist gültig, wenn für keine der Kontrollen Flags ausgegeben werden. Wenn der Batch ungültig ist, muss der Test mit allen Proben wiederholt werden.

Die Gerätesoftware nimmt je nach den Kontrollergebnissen automatisch eine Validierung der Batch-Ergebnisse vor.

Interpretation der Ergebnisse auf den cobas® 5800/6800/8800 Systemen

Die Ergebnisse und die zugehörige Interpretation bei der Detektion von MAI sind nachstehend in Tabelle 17 dargestellt.

Tabelle 17 cobas® MAI-Ergebnisse und Interpretation

Zielregion 1	Zielregion 2	Interpretation
MIN Positive	**MAV Positive**	Alle angeforderten Ergebnisse waren gültig. Zielsignal für *M. intracellulare*- und *M. avium*-DNA detektiert.
MIN Positive	**MAV Negative**	Alle angeforderten Ergebnisse waren gültig. Zielsignal für *M. intracellulare*-DNA detektiert. Kein Zielsignal für *M. avium*-DNA detektiert.
MIN Positive	**Invalid**	Es waren nicht alle angeforderten Ergebnisse gültig. Zielsignal für *M. intracellulare*-DNA detektiert. Das *M. intracellulare*-Ergebnis ist gültig. Das *M. avium*-Ergebnis ist ungültig. Originalprobe erneut testen, um gültige *M. avium*-Ergebnisse zu erhalten. Ist das Ergebnis weiterhin ungültig, sollte eine neue Probe verwendet werden.
MIN Negative	**MAV Positive**	Alle angeforderten Ergebnisse waren gültig. Kein Zielsignal für *M. intracellulare*-DNA detektiert. Zielsignal für *M. avium*-DNA detektiert.
MIN Negative	**MAV Negative**	Alle angeforderten Ergebnisse waren gültig. Kein Zielsignal für *M. intracellulare*-DNA detektiert. Kein Zielsignal für *M. avium*-DNA detektiert.
MIN Negative	**Invalid**	Es waren nicht alle angeforderten Ergebnisse gültig. Kein Zielsignal für *M. intracellulare*-DNA detektiert. Das *M. intracellulare*-Ergebnis ist gültig. Das *M. avium*-Ergebnis ist ungültig. Originalprobe erneut testen, um gültige *M. avium*-Ergebnisse zu erhalten. Ist das Ergebnis weiterhin ungültig, sollte eine neue Probe verwendet werden.
Invalid	**MAV Positive**	Es waren nicht alle angeforderten Ergebnisse gültig. Das *M. intracellulare*-Ergebnis ist ungültig. Originalprobe erneut testen, um gültige *M. intracellulare*-Ergebnisse zu erhalten. Ist das Ergebnis weiterhin ungültig, sollte eine neue Probe verwendet werden. Zielsignal für *M. avium*-DNA detektiert. Das *M. avium*-Ergebnis ist gültig.
Invalid	**MAV Negative**	Es waren nicht alle angeforderten Ergebnisse gültig. Das *M. intracellulare*-Ergebnis ist ungültig. Originalprobe erneut testen, um gültige *M. intracellulare*-Ergebnisse zu erhalten. Ist das Ergebnis weiterhin ungültig, sollte eine neue Probe verwendet werden. Kein Zielsignal für *M. avium*-DNA detektiert. Das *M. avium*-Ergebnis ist gültig.
Invalid	**Invalid**	Sowohl das *M. intracellulare*- als auch das *M. avium*-Ergebnis ist ungültig. Originalprobe erneut testen, um gültige *M. intracellulare*- und *M. avium*-Ergebnisse zu erhalten. Sind die Ergebnisse weiterhin ungültig, sollte eine neue Probe verwendet werden.

Interpretation der Ergebnisse auf dem cobas® 5800 System und den cobas® 6800/8800 Systemen mit Softwareversion 2.0 oder höher

Die Ergebnisse der Proben werden in der Software in der Anwendung „Ergebnisse“ angezeigt. Abbildung 4 enthält Beispiele der Anzeige von Ergebnissen.

Bei gültigen Kontrollbatches die einzelnen Proben in der Software und/oder im Bericht auf Flags kontrollieren. Die Ergebnisse sind wie folgt zu interpretieren:

- Für einem gültigen Kontrollbatch zugehörige Proben wird in der Spalte „Kontrollergebnis“ der Text „Gültig“ angezeigt, wenn für die entsprechenden Kontrollzielsequenzen das Ergebnis „Gültig“ ausgegeben wurde. Für einem fehlgeschlagenen Kontrollbatch zugehörige Proben wird in der Spalte „Kontrollergebnis“ der Text „Ungültig“ angezeigt, wenn für die entsprechenden Kontrollzielsequenzen das Ergebnis „Ungültig“ ausgegeben wurde.

- Wenn die zu einem Probenergebnis gehörigen Kontrollen ungültig sind, wird das Probenergebnis mit einem der folgenden Flags versehen:
    - Q05D: Fehler bei der Ergebnisvalidierung infolge einer ungültigen Positivkontrolle
    - Q06D: Fehler bei der Ergebnisvalidierung infolge einer ungültigen Negativkontrolle
- Die Ergebniswerte in der Spalte „Ergebnisse“ zu den einzelnen Zielergebnissen einer Probe sind wie in Tabelle 17 oben dargestellt zu interpretieren.
- Wenn mindestens eine Zielsequenz einer Probe als „Ungültig“ gekennzeichnet wurde, zeigt die Software einen Hinweis in der Spalte „Flags“ an. In der Detailansicht werden weitere Informationen dazu angezeigt, warum die Zielsequenz(en) der Probe als ungültig ausgegeben wurde(n) und was der Flag bedeutet.

Abbildung 4 Anzeigebeispiel für **cobas**® MAI-Ergebnisse auf dem **cobas**® 5800 System und den **cobas**® 6800/8800 Systemen mit Softwareversion 2.0

Proben-ID	Test	Kontroll-ergebnis	Flag	Status	Ergebnis		Erstellungsdatum/ -zeit
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

Interpretation der Ergebnisse auf den cobas® 6800/8800 Systemen mit Softwareversion 1.4

Bei gültigen Batches die einzelnen Proben in der Software der **cobas**® 6800/8800 Systeme und/oder im Bericht auf Flags kontrollieren. Die Ergebnisse sind wie folgt zu interpretieren:

- Ein gültiger Batch kann sowohl gültige als auch ungültige Probenergebnisse enthalten.
- Die Spalten „Gültig“ und „Gesamtergebnis“ sind für Probenergebnisse des **cobas**® MAI-Tests nicht zutreffend und werden durch „NA“ gekennzeichnet. Die in diesen Spalten angegebenen Werte haben **keinen** Einfluss auf die Gültigkeit der Ergebnisse, die in den Spalten für die verschiedenen Zielergebnisse angezeigt werden.
- Die für die einzelnen Proben angegebenen Zielergebnisse sind gültig, sofern in der Spalte des entsprechenden Zielergebnisses nicht „Invalid“ (Ungültig) angezeigt wird.
- Die Ergebnisse dieses Tests sollten nur in Verbindung mit den Daten interpretiert werden, die im Rahmen einer klinischen Beurteilung der Patienten und ihrer Anamnese erfasst wurden.

Abbildung 5 Anzeigebeispiel für **cobas**® MAI-Ergebnisse auf den **cobas**® 6800/8800 Systemen mit Softwareversion 1.4

Test	Proben-ID	Gültig	Flags	Probenart	Gesamtergebnis	Zielregion 1	Zielregion 2
MAI	MAI_R_0001	NA		Raw sputum	**NA**	MIN Negative	MAV Positive
MAI	MAI_R_0002	NA		Raw sputum	**NA**	MIN Positive	MAV Negative
MAI	MAI_R_0003	NA	P02T	Raw sputum	**NA**	Invalid	Invalid
MAI	MAI_S_0001	NA		Sediment	**NA**	MIN Negative	MAV Positive
MAI	MAI_S_0002	NA		Sediment	**NA**	MIN Positive	MAV Negative
MAI	MAI_S_0003	NA	C02H1	Sediment	**NA**	Invalid	Invalid
MAI	C161420284090428828404	Yes		(-) Ctrl	**Valid**	Valid	Valid
MAI	C161420284093009580264	Yes		MAI (+) C	**Valid**	Valid	Valid

Verfahrenseinschränkungen

- Der **cobas**® MAI-Test sollte stets in Verbindung mit einer mykobakteriellen Kultur durchgeführt werden, um die Gefahr falsch-negativer Ergebnisse auf ein Minimum zu reduzieren und eine Prüfung der Antibiotikaempfindlichkeit des MAC-Isolats zur Unterstützung der Patientenversorgung zu ermöglichen.
- Der **cobas**® MAI-Test wurde validiert für Sputum-crudum-Proben sowie anhand von Sputum- und BAL-Flüssigkeit-Proben, die mit NALC-NaOH verflüssigt, dekontaminiert und aufkonzentriert wurden. Der Einsatz anderer Probenarten kann zu falsch-positiven, falsch-negativen und/oder ungültigen Ergebnissen führen.
- Der Verdau und die Dekontamination sollten mit den von der CDC empfohlenen NALC-NaOH-Verfahren durchgeführt werden.[19] Die Verwendung anderer präanalytischer Probenvorbereitungsverfahren kann zu falsch-positiven, falsch-negativen und/oder ungültigen Ergebnissen führen.
- Der **cobas**® MAI-Test wurde für die Verwendung mit Sputum crudum sowie mit NALC-NaOH behandeltem Sputum und NALC-NaOH behandelter BAL-Flüssigkeit validiert, die mit MIS chemisch inaktiviert wurden. Der Einsatz anderer Inaktivierungsverfahren wurde nicht evaluiert und kann zu falsch-positiven, falsch-negativen und/oder ungültigen Ergebnissen führen.
- Der Erfolg der mykobakteriellen Inaktivierung hängt von der Einhaltung der in diesem Dokument beschriebenen Verfahren und der vollständigen Vermischung der Probe mit der MIS ab. Die Verflüssigung der Proben und die Inaktivierung der Mykobakterien durch die MIS muss gemäß den örtlichen und laborspezifischen Richtlinien oder Vorschriften und auf der Basis einer angemessenen Risikobewertung durchgeführt werden.
- Das Überschreiten von Volumengrenzen und/oder das Abweichen von den in den Abschnitten „Verarbeitung von Sputum-crudum-Proben“, „Verarbeitung von Sputum und BAL-Flüssigkeit“ und „Ultraschallbehandlung der Proben“ beschriebenen Verfahrensschritten kann zu falsch-positiven, falsch-negativen und/oder ungültigen Ergebnissen führen.
- Nukleinsäure-Amplifikationstests sind nicht in der Lage, die Lebensfähigkeit von Organismen zu bestimmen.
- Ein Therapieerfolg bzw. -misserfolg kann mit diesem Test nicht festgestellt werden.
- Dieses Produkt darf nur von Personal verwendet werden, das in der PCR-Technik und der Verwendung der **cobas**® 5800/6800/8800 Systeme geschult ist.
- Der **cobas**® MAI-Test ist ausschließlich für eine Anwendung mit dem **cobas**® MAI Positive Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, **cobas**® **omni** MGP Reagent, **cobas**® **omni** Lysis Reagent, **cobas**® **omni** Specimen Diluent und **cobas**® **omni** Wash Reagent auf den **cobas**® 5800/6800/8800 Systemen und unter Verwendung von MIS und des Ultraschallgeräts TS 5 der Firma Rinco Ultrasonics AG validiert.
- Zuverlässige Ergebnisse hängen von der sachgemäßen Gewinnung, Lagerung und Bearbeitung der Proben ab.

- Der **cobas**® MAI-Test ist nicht vorgesehen für die Verwendung mit respiratorischen Proben zur Überwachung der Therapieantwort oder zur Heilungskontrolle.
- Der **cobas**® MAI-Test unterscheidet zwischen *M. intracellulare* und *M. avium*. Andere Spezies des *M. avium*-Komplexes werden vom **cobas**® MAI-Test detektiert, aber nicht differenziert. Sie werden entweder in der *M. intracellulare*- oder in der *M. avium*-Zielregion detektiert. Detaillierte Informationen hierzu sind der Inklusivitäts-Studie im Abschnitt „Bewertung der Leistungsmerkmale“ zu entnehmen.
- Die Detektion des *M. avium*-Komplexes hängt von der Anzahl der in der Probe enthaltenen Organismen ab und kann durch das Probenentnahmeverfahren sowie durch patientenbezogene Faktoren (z. B. Alter, Schwere der Erkrankung, HIV-Status) beeinflusst werden.
- Bei Patienten, die sowohl mit MAC als auch mit HIV infiziert sind, ist ein negativer Befund des mikroskopischen Ausstrichs wahrscheinlicher und MAC-DNA kann daher in einer Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests vorliegen.
- Die Ergebnisse müssen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte des Patienten, des klinischen Bildes sowie anderer Labor- und Röntgenbefunde interpretiert werden.
- Polymerase-Inhibition kann zu falsch-negativen oder ungültigen Ergebnissen führen. Der **cobas**® MAI-Test enthält eine interne Kontrolle zur Erkennung von Substanzen in den Proben, die bei der Isolierung der Nukleinsäuren und der PCR-Amplifikation störend wirken.
- Das Enzym AmpErase im **cobas**® MAI Master-Mix-Reagenz ermöglicht eine selektive Amplifikation der Ziel-DNA; es ist jedoch gute Laborpraxis sowie die genaue Einhaltung der in dieser Gebrauchsanweisung beschriebenen Verfahren erforderlich, um eine Kontamination von Reagenzien zu vermeiden.
- Mutationen in den hochkonservierten Regionen der genomischen DNA des *M. avium*-Komplexes, die durch die Primer und/oder Sonden des **cobas**® MAI-Tests abgedeckt sind, treten zwar selten auf, können jedoch dazu führen, dass das Bakterium nicht erkannt wird.
- Bevor Benutzer von einer Methode zu einer anderen wechseln, sollten sie aufgrund der inhärenten Unterschiede zwischen den Verfahren in ihrem Labor Korrelationsstudien durchführen, um die Unterschiede der Techniken aufzuzeigen. Eine hundertprozentige Übereinstimmung der Ergebnisse ist aufgrund der bereits erwähnten Unterschiede zwischen den Verfahren nicht zu erwarten.
- Die Verwendung anderer als der in Tabelle 10 empfohlenen Röhrchen muss vom Anwender vor dem Einsatz im **cobas**® MAI-Arbeitsablauf im Labor überprüft werden. Die Verwendung anderer Röhrchentypen kann dazu führen, dass die Röhrchen beschädigt und die Oberflächen des Ultraschallgeräts kontaminiert werden. Eine weitere mögliche Folge sind falsch-negative Ergebnisse aufgrund einer unzureichenden Übertragung der Ultraschallenergie.
- Die Verwendung anderer als der in Tabelle 10 empfohlenen Barcodes muss vom Anwender vor dem Einsatz im **cobas**® MAI-Arbeitsablauf im Labor überprüft werden. Die Verwendung anderer Barcodes kann dazu führen, dass die Barcodes beschädigt werden.

Bewertung der Leistungsmerkmale

Systemäquivalenz

Die Systemäquivalenz der **cobas**® 5800, **cobas**® 6800 und **cobas**® 8800 Systeme wurde anhand von Leistungsstudien belegt. Die in dieser Gebrauchsanweisung aufgeführten Daten zeigen, dass die Leistungsmerkmale für alle Systeme gleich sind.

Wichtigste Leistungsmerkmale

Probeninaktivierung

Die Reduktion des mykobakteriellen Infektionsrisikos durch die Behandlung von Proben mit MIS wurde mit hoch positiven Kulturen von zwei Stämmen des MTB-Komplexes (MTB CDC268 und MTB H37) an drei verschiedenen Zentren und unter Verwendung von drei verschiedenen MIS-Reagenzchargen untersucht. Für jede Bedingung wurden fünf Kulturaliquote mit Konzentrationen bis zu 5×10^7 KBE/ml im Verhältnis 1:2 für 60 Minuten bei Raumtemperatur mit MIS behandelt. Die Proben wurden dann 15 Minuten lang bei 3000 g zentrifugiert, zweimal mit steriler PBS gewaschen und anschließend in 0,5 ml steriler PBS resuspendiert. An zwei Untersuchungszentren wurde die gesamte inaktivierte Probe im BACTEC™ MGIT™ 320 Mycobacterial Detection System (Becton Dickinson) inokuliert und auf Wachstum untersucht. Im dritten Zentrum wurde die MTB-Lebensfähigkeit auf festem Löwenstein-Jensen-Medium getestet. Bei keiner der inaktivierten Proben wurde nach 56 Tagen Inkubationszeit ein Wachstum der Bakterien des *M. tuberculosis*-Komplexes festgestellt.

Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze des **cobas**® MAI-Tests wurde durch die Analyse von Reihenverdünnungen eines *M. intracellulare*-Stamms (ATCC® 13209™) und eines *M. avium*-Stamms (ATCC® 19075™) in jeweils zwei gepoolten negativen klinischen Matrizen (Sputum crudum und Sputum/BAL-Flüssigkeit) bestimmt. Panels verschiedener Konzentrationen plus Leerprobe wurden mit drei Chargen von **cobas**® MAI-Testreagenzien unter Verwendung von insgesamt 72 Replikaten pro Konzentration an mehreren Tagen und mit mehreren Läufen, Anwendern und Instrumenten getestet.

Die Nachweisgrenze für *M. intracellulare* lag im Bereich von 46,3 KBE/ml (Sputum/BAL-Flüssigkeit) bis 46,6 KBE/ml (Sputum crudum).

Die Nachweisgrenze für *M. avium* lag im Bereich von 43,5 KBE/ml (Sputum/BAL-Flüssigkeit) bis 44,9 KBE/ml (Sputum crudum).

Inklusivität

Die Inklusivität des **cobas**® MAI-Tests für elf Mitglieder des *M. avium*-Komplexes wurde durch Tests von insgesamt 25 Stämmen bestätigt.

Die folgenden Spezies wurden nachgewiesen und führten zu positiven Ergebnissen für *M. intracellulare*:

- *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)

Die folgenden Spezies wurden nachgewiesen und führten zu positiven Ergebnissen für *M. avium*:

- *M. avium* (N-315 und N-337, Kulturisolat japanischer Patienten)
- *M. avium* subsp. *avium* (B95-X25 Serotyp 3, B95-25522 Serotyp 8, B95-18302 Serotyp 15, ATCC® 35718™)
- *M. avium* subsp. *hominissuis* (ITM 960255)
- *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (B98-11.02.0221)
- *M. avium* subsp. *silvaticum* (DSM 44157)
- *M. bouchedurhonense* (CCUG 56331)

Alle Stämme wurden mit 256 KBE/ml für *M. intracellulare* und 241 KBE/ml für *M. avium* unter Verwendung von Sputum-/BAL-Proben nachgewiesen.

Präzision

Die interne Präzision wurde mit einem Panel bestimmt, das aus Kulturen von *M. intracellulare* (ATCC® 13209™) und *M. avium* (ATCC® 19075™) bestand, die in zwei gepoolten negativen klinischen Matrizen (Sputum crudum und Sputum/BAL-Flüssigkeit) verdünnt wurden. Mögliche Quellen der Variabilität wurden anhand eines aus drei Konzentrationsstufen bestehenden Panels, drei Chargen von **cobas**® MAI-Reagenzien und zwei Geräten in insgesamt 24 Läufen über einen Zeitraum von 12 Tagen untersucht. Tabelle 18 und Tabelle 19 enthalten eine Beschreibung der Präzisionspanels und der ermittelten Positivitätsraten. Alle negativen Panelproben erwiesen sich in der Studie als negativ. Die Analyse der Standardabweichung und des prozentualen Variationskoeffizienten der Ct-Werte von Tests mit positiven Panelproben (siehe Tabelle 20 und Tabelle 21) ergab VK-Gesamtwerte (in %) von 1,5 % bis 2,7 % für *M. intracellulare* und von 1,5 % bis 2,5 % für *M. avium*.

Tabelle 18 Zusammenfassung der laborinternen Präzision – *M. intracellulare*

Konzentration der Zielsequenz	Anzahl getestet	Anz. MIN Positive	MIN-Positivitätsrate	95 %-Konfidenzintervall	
				Untere Grenze	Obere Grenze
M. intracellulare – Sputum crudum					
Negativ	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
77,4 KBE/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
232 KBE/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
M. intracellulare – Sputum/BAL					
Negativ	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
74,3 KBE/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
223 KBE/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %

Tabelle 19 Zusammenfassung der laborinternen Präzision – *M. avium*

Konzentration der Zielsequenz	Anzahl getestet	Anz. MAV Positive	MAV-Positivitätsrate	95 %-Konfidenzintervall	
				Untere Grenze	Obere Grenze
M. avium – Sputum crudum					
Negativ	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
88,0 KBE/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
264 KBE/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
M. avium – Sputum/BAL					
Negativ	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
71,1 KBE/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
213 KBE/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %

Tabelle 20 Gesamtwerte für Mittelwert, Standardabweichung und Variationskoeffizient (%) des Schwellenwertzyklus – für *M. intracellulare* positive Panels

Konzentration der Zielsequenz	Positivitäts-rate	Mittlerer Ct	Innerhalb des Laufs		Von Lauf zu Lauf		Von Tag zu Tag		Von Gerät zu Gerät		Von Charge zu Charge		Gesamt	
			SD	VK%	SD	VK%	SD	VK%	SD	VK%	SD	VK%	SD	VK%
M. intracellulare – Sputum crudum														
77,4 KBE/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 KBE/ml	100,0 %	36,5	0,74	2,0	0,47	1,3	0,33	0,9	0,00	0,0	0,29	0,8	0,98	2,7
M. intracellulare – Sputum/BAL														
74,3 KBE/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 KBE/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

Tabelle 21 Gesamtwerte für Mittelwert, Standardabweichung und Variationskoeffizient (%) des Schwellenwertzyklus – für *M. avium* positive Panels

Konzentration der Zielsequenz	Positivitäts-rate	Mittlerer Ct	Innerhalb des Laufs		Von Lauf zu Lauf		Von Tag zu Tag		Von Gerät zu Gerät		Von Charge zu Charge		Gesamt	
			SD	VK%	SD	VK%	SD	VK%	SD	VK%	SD	VK%	SD	VK%
M. avium – Sputum crudum														
88,0 KBE/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 KBE/ml	100,0 %	36,4	0,48	1,3	0,40	1,1	0,35	1,0	0,16	0,4	0,00	0,0	0,73	2,0
M. avium – Sputum/BAL														
71,1 KBE/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 KBE/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

Analytische Spezifität und Kreuzreaktivität

Zur Bestimmung der analytischen Spezifität wurde ein Panel aus 173 Bakterien, Pilzen und Viren, einschließlich solcher, die häufig in den Atemwegen vorkommen, mit dem **cobas**® MAI-Test getestet. Die in Tabelle 22 aufgeführten Organismen wurden mit einer Konzentration von ungefähr 1×10^6 Einheiten/ml (Bakterien) und ungefähr 1×10^5 Einheiten/ml (Viren) getestet. Es wurden sowohl in Abwesenheit als auch in Gegenwart (in einer Konzentration von 200 KBE/ml)

der Zielregionen von *M. intracellulare*/*M. avium* Tests mit jedem potenziell störenden Organismus durchgeführt. Keiner der Organismen führte in Form falsch-positiver Ergebnisse zu einer Störung des Tests. Mit Ausnahme von *M. kansasii* und *M. szulgai* bei Konzentrationen > 1E+05 KBE/ml und *M. gastri* bei Konzentrationen > 1E+04 KBE/ml wurde die Detektion der *M. intracellulare*-/*M. avium*-Zielregion durch die getesteten Organismen nicht beeinträchtigt.

Die potenzielle Kreuzreaktivität von *Histoplasma capsulatum*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium pinnipedii* und *Mycobacterium suricattae* wurde *in silico* untersucht. Die Ergebnisse der *In-silico*-Analysen sagen eine geringe Wahrscheinlichkeit einer Amplifikation und Detektion dieser Organismen bei Verwendung des **cobas**® MAI-Tests voraus.

Tabelle 22 Zur Bestimmung der analytischen Spezifität bzw. Kreuzreaktivität getestete Mikroorganismen

Mikroorganismus	Konzentration	Mikroorganismus	Konzentration
Acinetobacter baumannii	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium gordonae*	1,0E+06 KBE/ml
Acinetobacter calcoaceticus	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium haemophilum*	1,0E+06 KBE/ml
Actinomyces israelii	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium holsaticum*	1,0E+06 KBE/ml
Actinomyces odontolyticus	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium intermedium*	1,0E+06 KBE/ml
Adenovirus	1,0E+05 U/ml	*Mycobacterium kansasii*	1,0E+05 KBE/ml*
Aeromonas hydrophila	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium kumamotonense*	1,0E+06 KBE/ml
Aspergillus fumigatus	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium lentiflavum*	1,0E+06 KBE/ml
Bacillus cereus	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium malmoense*	1,0E+06 KBE/ml
Bacillus subtilis subsp. *subtilis*	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium mantenii*	1,0E+06 KBE/ml
Bacteroides fragilis	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium marinum*	1,0E+06 KBE/ml
Blastomyces dermatitidis	1,0E+06 GEq/ml	*Mycobacterium mucogenicum*	1,0E+06 KBE/ml
Bordetella parapertussis	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium neoaurum*	1,0E+06 KBE/ml
Bordetella pertussis	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium nonchromogenicum*	1,0E+06 KBE/ml
Burkholderia cepacia	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium orygis*	1,0E+06 KBE/ml
Campylobacter jejuni subsp. *jejuni*	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium peregrinum*	1,0E+06 KBE/ml
Candida albicans	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium scrofulaceum*	1,0E+06 KBE/ml
Candida glabrata	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium simiae*	1,0E+06 KBE/ml
Candida krusei	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium smegmatis*	1,0E+06 KBE/ml
Candida parapsilosis	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium szulgai*	1,0E+05 KBE/ml*
Candida tropicalis	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium terrae*	1,0E+06 KBE/ml
Chlamydia trachomatis	1,0E+06 IFU/ml	*Mycobacterium thermoresistibile*	1,0E+06 KBE/ml
Chlamydophila pneumoniae	1,0E+06 IFU/ml	*Mycobacterium triviale*	1,0E+06 KBE/ml
Chromobacterium violaceum	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium tuberculosis*	1,0E+06 KBE/ml
Citrobacter freundii	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium vaccae*	1,0E+06 KBE/ml
Clostridium perfringens	1,0E+06 KBE/ml	*Mycobacterium xenopi*	1,0E+06 KBE/ml
Corynebacterium diphtheriae	1,0E+06 KBE/ml	*Mycoplasma pneumoniae*	1,0E+06 CCU/ml
Corynebacterium jeikeium	1,0E+06 KBE/ml	*Neisseria gonorrhoeae*	1,0E+06 KBE/ml
Corynebacterium pseudodiphtheriticum	1,0E+06 KBE/ml	*Neisseria lactamica*	1,0E+06 KBE/ml
Corynebacterium ulcerans	1,0E+06 GEq/ml	*Neisseria meningitidis*	1,0E+06 KBE/ml
Corynebacterium xerosis	1,0E+06 KBE/ml	*Neisseria mucosa*	1,0E+06 KBE/ml
Cryptococcus neoformans	1,0E+06 KBE/ml	*Neisseria sicca*	1,0E+06 KBE/ml
Zytomegalievirus	1,0E+05 IFU/ml	*Nocardia asteroides*	1,0E+06 KBE/ml
Eikenella corrodens	1,0E+06 KBE/ml	*Nocardia brasiliensis*	1,0E+06 GEq/ml
Enterobacter aerogenes	1,0E+06 KBE/ml	*Nocardia cyriacigeorgica*	1,0E+06 KBE/ml
Enterobacter cloacae subsp. *cloacae*	1,0E+06 KBE/ml	*Nocardia farcinica*	1,0E+06 KBE/ml
Enterococcus avium	1,0E+06 KBE/ml	*Nocardia nova*	1,0E+06 KBE/ml
Enterococcus faecalis	1,0E+06 KBE/ml	*Nocardia otitidiscaviarum*	1,0E+06 KBE/ml
Enterococcus faecium	1,0E+06 KBE/ml	*Nocardia transvalensis*	1,0E+06 KBE/ml
Enterovirus Typ 68/2007	1,0E+05 U/ml	*Pasteurella multocida* subsp. *tigris*	1,0E+06 KBE/ml
Escherichia coli	1,0E+06 KBE/ml	*Pediococcus acidilactici*	1,0E+06 GEq/ml

Mikroorganismus	**Konzentration**	**Mikroorganismus**	**Konzentration**
Escherichia coli bildende ESBL CTX-M-15	1,0E+06 KBE/ml	*Pediococcus pentosaceus*	1,0E+06 KBE/ml
Fusobacterium nucleatum subsp. *nucleatum*	1,0E+06 KBE/ml	*Penicillium chermesinum*	1,0E+06 KBE/ml
Gordona rubropertinctus	1,0E+06 GEq/ml	*Peptostreptococcus anaerobius*	1,0E+06 KBE/ml
Haemophilus influenzae	1,0E+06 KBE/ml	*Peptostreptococcus magnus*	1,0E+06 KBE/ml
Haemophilus parahaemolyticus	1,0E+06 KBE/ml	*Porphyromonas asaccharolytica*	1,0E+06 KBE/ml
Haemophilus parainfluenzae	1,0E+06 KBE/ml	*Prevotella melaninogenica*	1,0E+06 KBE/ml
Herpes-simplex-Virus Typ 1	1,0E+05 Kopien/ml	*Propionibacterium acnes*	1,0E+06 KBE/ml
Herpes-simplex-Virus Typ 2	1,0E+05 Kopien/ml	*Proteus mirabilis*	1,0E+06 KBE/ml
Humanes Immundefizienz-Virus	1,0E+05 Kopien/ml	*Proteus vulgaris*	1,0E+06 KBE/ml
Humanes Influenza-Virus A	1,0E+05 U/ml	*Providencia stuartii*	1,0E+06 KBE/ml
Humanes Influenza-Virus B	1,0E+05 U/ml	*Pseudomonas aeruginosa*	1,0E+06 KBE/ml
Humanes Metapneumovirus	1,0E+05 U/ml	*Rhizopus* spp.	1,0E+06 KBE/ml
Humanes Parainfluenza-Virus, Typ 1	1,0E+05 U/ml	*Rhodococcus equi*	1,0E+06 KBE/ml
Humanes Parainfluenza-Virus, Typ 2	1,0E+05 U/ml	Rubella-Virus	1,0E+05 U/ml
Humanes Parainfluenza-Virus, Typ 3	1,0E+05 U/ml	Rubeola-Virus	1,0E+05 U/ml
Humanes Parainfluenza-Virus, Typ 4	1,0E+05 U/ml	Rubula-Virus	1,0E+05 U/ml
Humanes respiratorisches Synzytial-Virus A	1,0E+05 U/ml	*Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Dublin	1,0E+06 KBE/ml
Humanes respiratorisches Synzytial-Virus B	1,0E+05 U/ml	*Scedosporium* spp.	1,0E+06 KBE/ml
Humanes Rhinovirus 16	1,0E+05 U/ml	*Serratia marcescens* subsp. *marcescens*	1,0E+06 KBE/ml
Kingella kingae	1,0E+06 KBE/ml	*Shigella flexneri*	1,0E+06 KBE/ml
Kingella oralis	1,0E+06 KBE/ml	*Shigella sonnei*	1,0E+06 KBE/ml
Klebsiella oxytoca	1,0E+06 KBE/ml	*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*	1,0E+06 KBE/ml
Klebsiella pneumoniae bildende *Carbapenemase* KPC-3	1,0E+06 KBE/ml	*Staphylococcus capitis* subsp. *capitis*	1,0E+06 KBE/ml
Klebsiella pneumoniae subsp. *pneumoniae*	1,0E+06 KBE/ml	*Staphylococcus epidermidis*	1,0E+06 KBE/ml
Lactobacillus acidophilus	1,0E+06 KBE/ml	*Staphylococcus haemolyticus*	1,0E+06 KBE/ml
Lactobacillus casei	1,0E+06 KBE/ml	*Staphylococcus hominis* subsp. *hominis*	1,0E+06 KBE/ml
Legionella micdadei	1,0E+06 KBE/ml	*Staphylococcus lugdunensis*	1,0E+06 KBE/ml
Legionella pneumophila subsp. *pneumophila*	1,0E+06 KBE/ml	*Stenotrophomonas maltophilia*	1,0E+06 KBE/ml
Leuconostoc mesenteroides subsp. *mesenteroides*	1,0E+06 KBE/ml	*Streptococcus agalactiae*	1,0E+06 KBE/ml
Listeria monocytogenes	1,0E+06 KBE/ml	*Streptococcus constellatus* subsp. *constellatus*	1,0E+06 KBE/ml
Moraxella catarrhalis	1,0E+06 KBE/ml	*Streptococcus equi* subsp. *equi*	1,0E+06 KBE/ml
Morganella morganii subsp. *morganii*	1,0E+06 KBE/ml	*Streptococcus mitis*	1,0E+06 KBE/ml
Mycobacterium abscessus	1,0E+06 KBE/ml	*Streptococcus mutans*	1,0E+06 KBE/ml
Mycobacterium asiaticum	1,0E+06 KBE/ml	*Streptococcus parasanguinis*	1,0E+06 KBE/ml
Mycobacterium bovis BCG	1,0E+06 KBE/ml	*Streptococcus pneumoniae*	1,0E+06 KBE/ml
Mycobacterium bovis subsp. *bovis*	1,0E+06 KBE/ml	*Streptococcus pyogenes*	1,0E+06 KBE/ml
Mycobacterium bovis subsp. *caprae*	1,0E+06 KBE/ml	*Streptococcus salivarius* subsp. *salivarius*	1,0E+06 KBE/ml
Mycobacterium canetti	1,0E+06 KBE/ml	*Streptococcus sanguinis*	1,0E+06 KBE/ml
Mycobacterium caprae	1,0E+06 KBE/ml	*Streptococcus uberis*	1,0E+06 KBE/ml
Mycobacterium celatum	1,0E+06 KBE/ml	*Streptomyces anulatus*	1,0E+06 KBE/ml
Mycobacterium chelonae	1,0E+06 KBE/ml	*Streptomyces griseus*	1,0E+06 KBE/ml
Mycobacterium chubuense	1,0E+06 KBE/ml	*Tsukamurella* spp.	1,0E+06 GEq/ml
Mycobacterium confluentis	1,0E+06 KBE/ml	Varicella-Zoster-Virus	1,0E+05 Kopien/ml
Mycobacterium flavescens	1,0E+06 KBE/ml	*Veillonella atypica*	1,0E+06 KBE/ml
Mycobacterium fortuitum	1,0E+06 KBE/ml	*Veillonella parvula*	1,0E+06 KBE/ml
Mycobacterium fuerth	1,0E+06 KBE/ml	*Weissella paramesenteroides*	1,0E+06 KBE/ml
Mycobacterium gastri	1,0E+04 KBE/ml*	-	-

* Konzentration, bei der keine Störung der *M. intracellulare*- und der *M. avium*-Detektion beobachtet wurde; auch getestet mit einer Konzentration von 1,0E+06 KBE/ml, bei der ein Störeinfluss auf die *M. intracellulare*- und die *M. avium*-Zielregion festgestellt wurde.

Störeinflüsse

Es wurde die Wirkung exogener Substanzen untersucht, die sich in respiratorischen Proben befinden könnten (Tabelle 23). In künstlich hergestellten Sputumproben wurde jede potenzielle Störsubstanz in oder über klinisch relevanten Konzentrationen in Gegenwart und Abwesenheit der *M. intracellulare*- und der *M. avium*-Zielregion (zugesetzt in einer Konzentration von 200 KBE/ml) untersucht.

Keine der Substanzen führte in Form falsch-negativer oder falsch-positiver Ergebnisse zu einer Störung des Tests.

Tabelle 23 Liste der auf Störungen getesteten exogenen Substanzen

Substanz	Konzentration	Substanz	Konzentration
Albuterolsulfat	0,5 µg/ml	Kanamycin-Monosulfat	240 µg/ml
Amikacin	80,1 µg/ml	Levofloxacin	5 mg/ml
Amoxicillin	86,4 µg/ml	Lidocain-HCl	1,2 % (Massenvol.-%)
Beclometason	3459 pg/ml	Menthol	0,50 % (Massenvol.-%)
Benzocain	1,2 % (Massenvol.-%)	Methylsalicylat	0,06 % (Vol.-%)
Budesonid	3 mg/ml	Mometason	100 µg/ml
Pestwurz	225 mg/ml	Moxifloxacin	15 µg/ml
Capreomycin	80 µg/ml	Mupirocin	5 % (Massenvol.-%)
Cetylpyridiniumchlorid	0,5 % (Massenvol.-%)	NaCl	5 % (Massenvol.-%)
Chlorhexidingluconat	1 % (Vol.-%)	Nikotin	1 µg/ml
Cicloserin (Cycloserin)	105 µg/ml	Nystatin	1 % (Vol.-%)
Clarithromycin	20 µg/ml	Oxymetazolin	12 ng/ml
Dexamethason	601 ng/ml	Pentamidin	1366 ng/ml
Ephedrin-Hydrochlorid	1 mg/ml	Phenylephrin	5 mg/ml
Epinephrin	100 pg/ml	Prednisolon	3 µg/ml
Ethambutol	50 µg/ml	Pyrazinamid	240 µg/ml
Ethionamid	15 µg/ml	Rifampicin	25 µg/ml
Eucalyptol	0,002 % (Vol.-%)	Brennnesselextrakt (500 mg)	5 mg
Flunisolid	400 µg/ml	Streptomycin	240 µg/ml
Fluticasonpropionat	5 µg/ml	Schwefel	0,01 % (Massenvol.-%)
Formoterolfumarat-Dihydrat	66 µg/ml	Teebaumöl	0,50 % (Vol.-%)
Gelbwurzel (Kapseln 570 mg)	5,7 mg	Theophyllin	20 µg/ml
Guaifenesin	5 mg/ml	Tobramycin	24,1 µg/ml
Isoniazid	50 µg/ml	Zanamivir	10 mg/ml

Endogene Substanzen, die in respiratorischen Proben vorkommen können, wurden auf Interferenz mit dem Test untersucht (Tabelle 24). In künstlich hergestellten Sputumproben wurde jede potenzielle Störsubstanz in oder über klinisch relevanten Konzentrationen in Gegenwart und Abwesenheit der *M. intracellulare*- und der *M. avium*-Zielregion (zugesetzt in einer Konzentration von 200 KBE/ml) untersucht.

Keine der Substanzen führte in Form falsch-positiver Ergebnisse zu einer Störung des Tests. Keine der Substanzen mit Ausnahme von Schleim mit einer Konzentration von 5 % führte in Form falsch-negativer Ergebnisse zu einer Störung des Tests. Keine Störung wurde für Schleim mit einer Konzentration von 4 % oder weniger beobachtet.

Tabelle 24 Liste der auf Störungen getesteten endogenen Substanzen

Substanz	Konzentration		Substanz	Konzentration
Magensaft	10 % (Vol.-%)		Schleim	4 %*
Hämoglobin	2 g/l		Eiter	5 %
Menschliches Vollblut	5 % (Vol.-%)		Speichel	10 % (Vol.-%)
hDNA	4 mg/l		-	-

* Konzentration, bei der keine Störung der *M. intracellulare*- und der *M. avium*-Detektion beobachtet wurde; auch getestet mit einer Konzentration von 5 %, bei der ein teilweiser Störeinfluss auf die *M. intracellulare*- und die *M. avium*-Zielregion festgestellt wurde.

Gesamtsystemausfall

Bei den zur Bestimmung des Gesamtsystemausfalls verwendeten Proben handelte es sich um künstlich hergestellte Sputum-crudum-Proben und Sputum-/BAL-Proben, die mit der Zielregion von *M. intracellulare* und *M. avium* auf eine Konzentration der ca. 3fachen Nachweisgrenze (LoD) in der entsprechenden Matrix versetzt wurden. Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, dass alle Replikate gültig und für *M. intracellulare* und *M. avium* positiv waren, was zu einer Gesamtsystemausfallrate von 0 % mit einem oberen einseitigen 95-%-Konfidenzintervall von 3,0 % führte.

Kreuzkontamination

Die potenzielle Kreuzkontamination auf den **cobas**® 6800/8800 Systemen bei Verwendung des **cobas**® MAI-Tests wurde unter Verwendung des verwandten **cobas**® MTB-Tests mit identischen Probenarten und Arbeitsabläufen untersucht. Kreuzkontamination kann zu falsch-positiven Ergebnissen führen. Die Kreuzkontaminationsrate von Probe zu Probe lag bei dieser Untersuchung, bei der über mehrere Läufe abwechselnd hoch positive und negative Proben getestet wurden, bei 0,0 % (0/240). Die Tests wurden mit künstlich hergestellten Sputum-/BAL-Proben durchgeführt, die mit der Zielsequenz des MTB-Komplexes in einer Konzentration von 2×10^6 KBE/ml versetzt wurden. Bei dieser Probenkonzentration ist der Ct-Wert niedriger als bei 95 % der Proben infizierter Patienten einer in der Zweckbestimmung beschriebenen Population.

Leistungsmerkmale anhand von klinischen Proben

Die Leistung des **cobas**® MAI-Tests wurde anhand von klinischen Proben evaluiert, indem archivierte, prospektiv entnommene Proben (Sputum crudum, Sputum/BAL-Flüssigkeit) von Patienten mit einem Mindestalter von 18 Jahren mit Verdacht auf eine mykobakterielle Atemwegsinfektion aus Deutschland, Japan, der Schweiz, Südafrika und Texas getestet wurden. Dazu wurde ein Vergleichstest mit dem COBAS® TaqMan® MAI-Test durchgeführt. Sensitivität und Spezifität wurden im Vergleich zur mykobakteriellen Kultur bestimmt. Die Patientenpopulation für die Sensitivitäts-bestimmung umfasste 51 Personen mit negativem AFB-Ausstrich (49 %), 13 mit schwach positivem AFB-Ausstrich (13 %), 19 mit AFB-Ausstrich 1+ (18 %), 15 mit AFB-Ausstrich 2+ (14 %), 4 mit AFB-Ausstrich 3+ (4 %) und 2 mit unklarem AFB-Ausstrich (2 %) für Sputum/BAL-Flüssigkeit (insgesamt: Sputum: 81 / BAL-Flüssigkeit: 23). Für Sputum crudum wurden 26 Personen mit negativem AFB-Ausstrich (47 %), 5 mit schwach positivem AFB-Ausstrich (9 %), 8 mit AFB-Ausstrich 1+ (15 %), 12 mit AFB-Ausstrich 2+ (22 %) und 4 mit AFB-Ausstrich 3+ (7 %) getestet.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 25 zusammengefasst.

Tabelle 25 Sensitivität und Spezifität des **cobas®** MAI-Tests bei Verwendung klinischer Proben

				Roche **cobas® MAI**	Roche **COBAS® TaqMan® MAI**
Sensitivität	**Sputum crudum**	**MIN K+**	MIN	16/24 **66,7 %** [44,7–84,4 %]	n. z.
		MAV K+	MAV	27/31 **87,1 %** [70,1–96,3 %]	n. z.
		MIN a/o MAV K+	MIN/MAV	44/55 **80,0 %** [67,0–89,6 %]	n. z.
	Sputum	**MIN K+**	MIN	27/46 **58,7 %** [43,2–73,0 %]	32/46 **69,6 %** [54,2–82,3 %]
		MAV K+	MAV	35/58 **60,3 %** [46,6–72,9 %]	36/58 **62,1 %** [48,4–74,5 %]
		MIN a/o MAV K+	MIN/MAV	62/104 **59,6 %** [49,5–69,1 %]	68/104 **65,4 %** [55,4–74,4 %]
Spezifität	**Sputum crudum**	**MIN K-**	MIN	350/350 **100,0 %** [99,0–100,0 %]	n. z.
		MAV K-	MAV	350/350 **100,0 %** [99,0–100,0 %]	n. z.
		MIN und MAV K-	MIN/MAV	350/350 **100,0 %** [99,0–100,0 %]	n. z.
	Sputum	**MIN K-**	MIN	412/412 **100,0 %** [99,1–100,0 %]	408/412 **99,0 %** [97,5–99,7 %]
		MAV K-	MAV	412/412 **100,0 %** [99,1–100,0 %]	411/412 **99,8 %** [98,7–100,0 %]
		MIN und MAV K-	MIN/MAV	412/412 **100,0 %** [99,1–100,0 %]	407/412 **98,8 %** [97,2–99,6 %]

				Roche **cobas® MAI**	Roche **COBAS® TaqMan® MAI**
PPV	**Sputum crudum**	**MIN PCR+**	MIN	16/16 **100,0 %** [79,4–100 %]	n. z.
		MAV PCR+	MAV	27/27 **100,0 %** [87,2–100 %]	n. z.
		MIN u/o MAV PCR+	MIN/MAV	44/44 **100,0 %** [92,0–100 %]	n. z.
	Sputum	**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 u/o MAV PCR+	MIN/MAV	62/62 **100,0 %** [94,2–100 %]	68/73 **93,2 %** [84,7–97,7 %]
NPV	**Sputum crudum**	**MIN PCR–**	MIN	350/358 **97,7 %** [95,6–99,0 %]	n. z.
		MAV PCR-	MAV	350/354 **98,9 %** [97,1–99,7 %]	n. z.
		MIN u/o MAV PCR-	MIN/MAV	350/361 **96,7 %** [94,6–98,5 %]	n. z.
	Sputum	**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 u/o MAV PCR-	MIN/MAV	412/454 **90,7 %** [87,7–93,3 %]	407/443 **91,9 %** [88,9–94,2 %]

K = Kultur, MIN = *Mycobacterium intracellulare*, MAV = *Mycobacterium avium*, u/o = und/oder

Weitere Informationen

Wichtigste Leistungsmerkmale des Tests

Probenarten

- Sputum crudum
- Mit NALC-NaOH behandelte(s) Sputum und BAL-Flüssigkeit

Verarbeitete Probenmenge

- ≥ 0,4 ml Patientenprobe mit MIS im Verhältnis 1:2 behandelt (Gesamtvolumen ≥ 1,2 ml) in Probenröhrchen für Sputum crudum, Gerät verarbeitet 0,85 ml
- ≥ 0,2 ml Patientenprobe mit MIS im Verhältnis 1:5 behandelt (Gesamtvolumen ≥ 1,2 ml) in Probenröhrchen für Sputum/BAL-Flüssigkeit, Gerät verarbeitet 0,85 ml

Symbole

Die folgenden Symbole werden bei der Kennzeichnung von Roche PCR-Diagnostikprodukten verwendet.

Tabelle 26 Symbole zur Kennzeichnung von Roche PCR-Diagnostikprodukten

Age/DOB Alter oder Geburtsdatum	Produkt nicht für eine patientennahe Testung geeignet	QS IU/PCR Quantifizierungsstandard zur Berechnung der Ergebnisse, in Internationalen Einheiten pro PCR-Reaktion
SW Zusatz-Software	Produkt nicht für Selbsttests geeignet	
Assigned Range [copies/mL] Sollbereich (Kopien/ml)	Vertrieb *(Hinweis: ggf. Angabe von Land/ Region unter dem Symbol)*	SN Seriennummer
Assigned Range [IU/mL] Sollbereich (IE/ml)	Nicht wiederverwenden	Site Zentrum, Labor
EC REP Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft	Frauen, weiblich	Procedure Standard Standardverfahren
BARCODE Barcode-Datenblatt	Nur zur Beurteilung der IVD-Leistung	STERILE EO Mit Ethylenoxid sterilisiert
LOT Chargenbezeichnung	GTIN Globale Artikelnummer GTIN	Im Dunkeln lagern
Biogefährdung	Import	Temperaturbegrenzung
REF Bestellnummer	IVD *In-vitro*-Diagnostikum	TDF Testdefinitionsdatei
CE CE-Kennzeichnung für Konformität; dieses Produkt entspricht den geltenden Vorschriften für die CE-Kennzeichnung für *In-vitro*-Diagnostika.	LLR Unterer Grenzwert des Sollbereichs	Diese Seite oben
	Männer, männlich	Procedure UltraSensitive Ultrasensitives Verfahren
Collect Date Entnahmedatum	Hersteller	UDI Einmalige Produktkennung
Gebrauchsanweisung beachten	CONTROL − Negativkontrolle	ULR Oberer Grenzwert des Sollbereichs
Σ Ausreichend für <*n*> Tests	NON STERILE Nicht steril	Urine Fill Line Fülllinie für Urin
CONTENT Inhalt des Kits	Patientenname	Rx Only Für die USA: Vorsicht: In den USA darf dieses Produkt nach den gesetzlichen Vorschriften nur durch einen Arzt oder auf ärztliche Verschreibung abgegeben werden.
CONTROL Kontrolle	Patienten-ID	
Herstellungsdatum	Hier abziehen	Verwendbar bis
Produkt für patientennahe Tests	CONTROL + Positivkontrolle	
Produkt zur Eigenanwendung	QS copies / PCR Quantifizierungsstandard zur Berechnung der Ergebnisse, in Kopien pro PCR-Reaktion.	

Technischer Support

Für technischen Support wenden Sie sich bitte an Ihre Roche-Vertretung vor Ort:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Hersteller

Tabelle 27 Hersteller

Hergestellt in den USA

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

Hergestellt in den USA

Marken und Patente

Siehe https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents

Copyright

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.

CE 0123

IVD

Literatur

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.

Dokumentversion

Dokumentversionsübersicht	
Doc Rev. 2.0 05/2024	Die Anweisungen zur biologischen Sicherheit wurden aktualisiert; sie entsprechen nun den lokalen Vorschriften und enthalten Verweise auf die WHO sowie WHO-Daten. Die Angabe „mit einem Mindestalter von 18 Jahren“ wurde aus dem Abschnitt **Verfahrens-einschränkungen** entfernt und in den Abschnitt **Leistungsmerkmale anhand von klinischen Proben** eingefügt. Die Marke **cobas**® wurde aktualisiert. Die Angabe zur Meldung schwerwiegender Vorkommnissen an die zuständigen Behörden wurde aktualisiert. Das Symbol „Rx Only“ wurde von der Titelseite entfernt. Die Symbolbezeichnungen auf der Symbolseite wurden im Zuge der Harmonisierung aktualisiert. Bei Fragen wenden Sie sich bitte an den Kundendienst von Roche Diagnostics vor Ort.
Doc Rev. 3.0 12/2024	Für die **cobas**® 6800/8800 Systeme wurden Informationen zur Systemsoftware Version 2.0 hinzugefügt. Die Beispiele für Ergebnisse, die auf den **cobas**® 6800/8800 Systemen mit Softwareversion 1.4 angezeigt werden, wurden aktualisiert. Die Bestellnummern (P/N) der Verbrauchsmaterialien wurden entfernt. Es wird nun auf die Benutzerunterstützung der **cobas**® 5800 und **cobas**® 6800/8800 Systeme für detaillierte Informationen zu Verbrauchsmaterialien verwiesen. Bei Fragen wenden Sie sich bitte an den Kundendienst von Roche Diagnostics vor Ort.

Unter dem folgenden Link finden Sie eine Zusammenfassung des Berichts zu Sicherheit und Leistung:
https://ec.europa.eu/tools/eudamed