

cobas[®] MTB-RIF/INH

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

Til *in vitro*-diagnostik brug

cobas[®] MTB-RIF/INH

P/N: 09040617190

Til brug på cobas[®] 5800 system

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

P/N: 09040625190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

Til brug på cobas[®] 6800/8800 systems

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

P/N: 07833342190 eller

P/N: 09040625190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 07002238190 eller

P/N: 09051953190

Indholdsfortegnelse

Anvendelse	4
Oversigt og forklaring af testen	4
Reagenser og materialer	7
cobas® MTB-RIF/INH reagenser og kontroller.....	7
cobas® omni-reagenser til prøveforberedelse.....	9
Krav til opbevaring af reagenser.....	10
Krav til håndtering af reagenser for cobas® 5800-systemet eller cobas® 6800/8800-systemerne.....	10
Yderligere påkrævede materialer til cobas® 5800/6800/8800-systemerne.....	11
Påkrævede instrumenter og software	13
Krav til forholdsregler og håndtering	13
Advarsler og forholdsregler	13
Håndtering af reagenser	14
God laboratoriepraksis	15
Indsamling, transport og opbevaring af prøver.....	15
Prøve	15
Transport og opbevaring af prøver	15
Opbevaring af inaktiverede prøver	16
Brugsanvisning	16
Procedurebemærkninger.....	16
Behandling af rå sputumprøver.....	18
Behandling af sputum- og BAL-sedimenter.....	19
Sonikering af prøver.....	20
Kørsel af cobas® MTB-RIF/INH på cobas® 5800/6800/8800-systemerne.....	21
Resultater	24
Kvalitetskontrol og validitet af resultater på cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 2.0 eller nyere.....	24
Kvalitetskontrol og validitet af resultater i cobas® 6800/8800-systemernes softwareversion 1.4	24
Fortolkning af resultater for cobas® 5800/6800/8800-systemerne.....	25

Fortolkning af resultater for cobas ® 5800-systemet og cobas ® 6800/8800-systemerne med softwareversion 2.0 eller nyere.....	27
Fortolkning af resultater på cobas ® 6800/8800-systemerne med softwareversion 1.4	28
Begrænsninger ved procedurerne	29
Evaluering af performance.....	31
Systemækvivalens.....	31
Vigtige egenskaber for performance.....	31
Inaktivering af prøver.....	31
Detektionsgrænse (LoD).....	31
Heteroresistens.....	31
Inklusivitet for mutationer forbundet med resistens.....	32
Specificitet for vildtype-MTB-kompleks	32
Præcision.....	33
Analytisk specificitet/krydsreaktivitet.....	34
Interferens.....	36
Systemfejlfrekvens	38
Krydskontaminering	38
Performance ved brug af kliniske prøver.....	38
Yderligere oplysninger.....	41
Vigtige analysefunktioner	41
Symboler.....	42
Teknisk support.....	43
Producent	43
Varemærker og patenter	43
Copyright.....	43
Referencer.....	44
Dokumentrevision	45

Anvendelse

cobas® MTB-RIF/INH til brug på **cobas® 5800/6800/8800**-systemerne er en automatiseret, kvalitativ *in vitro*-diagnostisk test, der bruger real-time-PCR (Polymerase Chain Reaction) til direkte detektion af mutationer, der er forbundet med Rifampicin-resistens, af *rpoB*-genet og mutationer, der er forbundet med Isoniazid-resistens, i *katG*- og *inhA*-generne, af *Mycobacterium tuberculosis* fra humane luftvejsprøver. Testen er beregnet til brug med rå sputumprøver samt fordøjede og dekontaminerede (N-acetyl-L-cysteine/NaOH-behandlede) sputumprøver og BAL-prøver (brokoalveolær lavage), der er testet positive for *Mycobacterium tuberculosis*-kompleks (MTBC) med **cobas® MTB**. Denne test er beregnet til brug sammen med dyrkningstest og test af lægemiddelmodtageligheden og som en reflektstest sammen med **cobas® MTB** som en hjælp til diagnosticeringen af infektion med en *M. tuberculosis* (MDR-TB), som er resistent over for flere lægemidler.

Oversigt og forklaring af testen

Baggrund

Tuberkulose er en bakterieinfektion, der er forårsaget af MTBC, som både er et stort globalt sundhedsproblem og den primære årsag til dødsfald, som skyldes infektionssygdomme, globalt set.¹ Verdenssundhedsorganisationen (WHO) anslår, at en fjerdedel af verdens befolkning er inficeret med MTB med omkring 10,6 millioner nye TB-infektioner og over 1,3 millioner dødsfald i 2022.¹ Mennesker, der lever med HIV (PLHIV), blev anslået at udgøre 167.000 af de 1,3 millioner dødsfald.¹

M. tuberculosis-komplekset består af en gruppe nært beslægtede arter inden for slægten *Mycobacterium*, som forårsager sygdommen hos mennesker og dyr, og omfatter *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG (Bacillus Calmette-Guérin), *M. africanum*, *M. canetti*, *M. microti*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. mungi*, *M. suricattae*, *M. orygis*, bakterier fra klipperotter og bakterier fra chimpanser. Selvom en infektion med ethvert medlem af MTB-komplekset kan medføre tuberkulose, er *M. tuberculosis* den hyppigste årsag. Lungesygdom er den hyppigste sygdom, der er forårsaget af MTB-komplekset. Der kan opstå ekstrapulmonal sygdom, men dette er relativt mere udbredt blandt børn. *M. bovis* er årsagen til tuberkulose hos op til 2,8 % af patienterne i forskellige geografiske områder.² Andre medlemmer af MTB-komplekset, udover *M. bovis* og *M. tuberculosis*, er mindre hyppige årsager til sygdom hos mennesker. *M. africanum* har været forbundet med tuberkulose i vestafrikanske lande, *M. canetti* på Afrikas Horn og *M. orygis* forårsager tuberkulose hos mennesker og dyr fra Afrika og Sydasiens. *M. caprae* anses for at være en underart af *M. bovis*. *M. microti* forårsager hovedsageligt sygdom hos gnavere, *M. pinnipedii* er forbundet med sygdom hos sæler, og *M. suricattae* forårsager tuberkulose hos surikater i Sydafrika. *M. mungi* blev identificeret som en årsag til tuberkulose hos zebamanguster.³

Tuberkulose spredes fra person til person via dråber fra luftvejene. De fleste mennesker, som er inficeret med *M. tuberculosis*, er symptomfrie og kan bære sygdommen efter den primære infektion. Dette kaldes også latent tuberkuloseinfektion. Latente infektioner kan vare i årtier, og i de fleste tilfælde medfører de aldrig klinisk sygdom. Hos nogle mennesker overvinder organismen immunforsvaret, hvilket medfører progression fra latent tuberkuloseinfektion til aktiv tuberkulose. Dette opstår som regel enten inden for de første to år med infektionen eller efter lange perioder med latent infektion. Overordnet set er der en risiko på 5-10 % for, at patienter med en latent infektion udvikler aktiv TB-sygdom, men risikoen varierer på grund af mange faktorer og kan øges væsentligt ved immunsuppression som f.eks. behandling med "biologiske metoder"⁴ (dvs. TNF-hæmmere) og HIV-infektion.^{5,6} Personer med aktiv lungetuberkulose kan producere dråber ved hoste, tale eller under medicinske indgreb. Personer med aktiv lungesygdom anses for at være meget smitsomme, og en diagnose er derfor bydende nødvendig.

Diagnosen af aktiv TB er baseret på kliniske fund/mistanke samt laboratorieundersøgelser og radiografiske undersøgelser. Patienter kan blive bedt om at aflevere luftvejsprøver til syrefast bakterie-smear og mykobakteriel dyrkning samt direkte nukleinsyreamplifikationstest. Det er altafgørende, at den mykobakterielle dyrkning udføres som supplement til nukleinsyretesten for at afhjælpe risikoen for falsk-negative resultater og for at give mulighed for test af lægemiddelmodtageligheden for patienter, som er positive.

En lægemiddelresistent TB-stamme defineres som resistent over for mindst ét lægemiddel, der bruges til at behandle tuberkulose. En TB, der er resistent over for flere lægemidler (MDR-TB), defineres som resistent over for mindst isoniazid og rifampicin, de to mest effektive anti-TB-lægemidler, og en ekstremt lægemiddelresistent TB-stamme (XDR-TB) har yderligere resistens over for rifampicin og fluorquinolon samt et injicerbart lægemiddel (f.eks. amikacin) i anden linje eller mindst ét af lægemidlerne bedaquilin og linezolid.

Hyppigheden af MDR-TB varierer efter område. Forekomsten af MDR-TB er højere blandt tidligere behandlede patienter. Behandling af tuberkulose involverer længerevarende indgivelse af flere lægemidler og er som regel effektiv. Behandling af MTB-stammer, der er resistente over for ét eller flere lægemidler, gør dog behandlingen vanskeligere. Behandling af MDR-TB og XDR-TB kræver behandling med flere giftige stoffer i en længere periode end for TB-patienter, der er modtagelige for lægemidler, med en tilhørende lavere sandsynlighed for succesfuld behandling.⁷

TB-diagnosen kan fastlægges på baggrund af det kliniske billede, laboratiemæssige og radiografiske fund, herunder syrefast bakterie-smear/mykobakterielle dyrkninger og nukleinsyreamplifikationstest. Derudover kan analyser, der måler antistof eller antigenrespons, også anvendes (f.eks. hudtest med tuberkulin, interferon-gamma [INF γ]-frigivelsesanalyse (IGRAs)).⁸ Hudtesten med tuberkulin og IGRA-analyser kan dog være negative ved aktiv sygdom og kan ikke differentiere mellem latent infektion og aktiv sygdom. Den endelige sygdomsdiagnose bekræftes ved genfindning af organismen ved dyrkning eller ved direkte detektion af MTB-kompleks nukleinsyre i en klinisk prøve. Det er nødvendigt at foretage test af lægemiddelmodtageligheden (DST) for at bekræfte den relevante empiriske behandling, men dette tager lang tid, og resultatet vil først foreligge efter flere uger, afhængigt af metoden. Alternativt kan der detekteres tilknyttede genetiske markører for lægemiddelresistens direkte fra kliniske prøver eller fra dyrkningsisolater ved hjælp af molekulære metoder, hvilket giver en hurtigere formodet diagnose for lægemiddelresistens. På grund af MTBs smitsomme natur og forekomsten af stigende resistens er en hurtig og nøjagtig diagnose et vigtigt element i MTB-behandlingen og -kontrollen.⁸

Forklaring af testen

cobas® MTB-RIF/INH til brug på cobas® 5800/6800/8800-systemerne er en automatiseret, kvalitativ real-time-PCR-test udviklet som en reflekstest sammen med cobas® MTB til detektion af mutationer, der er forbundet med Rifampicin-resistens, af *rpoB*-genet, og mutationer, der er forbundet med Isoniazid-resistens i *katG*- og *inhA*-generne, af *Mycobacterium tuberculosis*-komplekset. Testen er beregnet til brug med rå sputumprøver samt fordøjede og dekontaminerede (N-acetyl-L-cysteine/NaOH-behandlede) sputumprøver og BAL-prøver (brokoalveolær lavage), der er testet positive for *Mycobacterium tuberculosis*-kompleks (MTBC) med cobas® MTB. Detektion af vildtype-MTB-kompleks DNA fungerer som en intern kontrol til at overvåge hele prøveforberedelsen og PCR-amplifikationsprocessen. Derudover bruger testen en positiv kontrol med lav titer og en negativ kontrol.

Principper for proceduren

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

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

Selektiv amplifikation og detektion af target-nukleinsyre fra prøven opnås ved brug af target-genspecifikke forward og reverse primere. 18 mutationer forbundet med Rifampicin-resistens (*rpoB*-genet) detekteres af ét sæt primer og flere mutationsspecifikke prober. Syv mutationer forbundet med Isoniazid-resistens (*katG*-genet og *inhA*-genpromoterregionen) detekteres af to sæt primere og flere mutationsspecifikke prober. MTB detekteres af ét sæt primere og én probe, der er målrettet den bedst konserverede genomiske sekvens i en enkelt kopi af MTB-komplekset. Der anvendes et termostabilt DNA-polymerase-enzym til PCR-amplifikation. Target-sekvenserne amplificeres samtidigt ved hjælp af en universel PCR-amplifikationsprofil med foruddefinerede temperaturtrin og cyklusantal. Master mix'et indeholder deoxyuridintrifosfat (dUTP) i stedet for deoxythymidin-trifosfat (dTTP), som inkorporeres i det nyligt syntetiserede DNA (amplikon). Ethvert kontaminerende amplikon fra tidligere PCR-kørsler elimineres med AmpErase-enzymet, der er inkluderet i PCR master mix, ved opvarmning under den første termiske cyklus.⁹ Nyligt dannet amplikon elimineres dog ikke, da AmpErase-enzymet inaktiveres, når det udsættes for temperaturer over 55 °C.

cobas® MTB-RIF/INH Master Mix indeholder flere prober, der er specifikke for mutationer forbundet med Rifampicin-resistens og mutationer forbundet med Isoniazid-resistens og én probe, der er specifik for MTB-komplekset. Proberne er mærket med targetspecifikke fluorescerende rapportfarvestoffer, hvilket giver mulighed for samtidig detektion af mutationer forbundet med Rifampicin-resistens, mutationer forbundet med Isoniazid-resistens og MTB-kompleks-target i fem forskellige target-kanaler (mutationer forbundet med Rifampicin-resistens detekteres i tre af de fem detektionskanaler).^{10, 11} Når fluorescenssignalet ikke er bundet til target-sekvensen, undertrykkes det i de intakte prober af et quencher-farvestof. Under PCR-amplifikationstrinnet medfører hybridiseringen af proberne til den specifikke enkeltstrengede DNA-template en kløvning af proben vha. 5' til 3'-exonukleaseaktiviteten i DNA-polymerasen, hvilket forårsager separation af rapport- og quencher-farvestofferne, og derved generering af et fluorescenssignal. For hver PCR-cyklus genereres øgede mængder af kløvede prober, og det samlede signal fra rapportfarvestoffet forøges tilsvarende. Der opnås real-time-detektion og diskrimination af PCR-produkter ved at måle fluorescensen i de frigivne rapportfarvestoffer for hhv. mutationer forbundet med Rifampicin-resistens, mutationer forbundet med Isoniazid-resistens og MTB-kompleks-target.

Reagenser og materialer

cobas® MTB-RIF/INH reagenser og kontroller

De medfølgende materialer til cobas® MTB-RIF/INH findes i Tabel 1. Nødvendige men ikke medfølgende materialer findes i Tabel 2, Tabel 3, Tabel 4, Tabel 10 til Tabel 12.

Alle uåbnede reagenser og kontroller skal opbevares som anbefalet i Tabel 1 til Tabel 4.

Tabel 1 cobas® MTB-RIF/INH

cobas® MTB-RIF/INH

Opbevares ved 2-8 °C.

Kassette med 192 tests (P/N 09040617190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit
Proteinaseopløsning (PASE)	Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, kalciumklorid, kalciumacetat, 8 % proteinase, glycerol EUH210: Sikkerhedsdatablad kan på anmodning rekvireres. EUH208: Indeholder subtilisin fra <i>Bacillus subtilis</i> . Kan udløse allergisk reaktion.	22,3 ml
Generic Specimen Diluent (GSD)	Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % ikke-MTB-relateret armored RNA-konstruktion, 0,002 % Poly rA RNA (syntetisk), < 0,1 % natriumazid	21,2 ml
Elueringsbuffer (EB)	Tris-buffer, 0,2 % methyl-4-hydroxybenzoat	21,2 ml
Master Mix-reagens 1 (MMX-R1)	Manganacetat, kaliumhydroxid, < 0,1 % natriumazid	7,5 ml
MTB-RIF/INH Master Mix-reagens 2 (MTB-RIF/INH MMX-R2)	Tricin-buffer, kaliumacetat, EDTA, glycerol, 18 % dimethylsulfoxid, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,1 % Tween 20, < 0,1 % natriumazid, < 0,1 % Z05 DNA-polymerase, < 0,1 % AmpErase-enzym (uracil-N glycosylase) (mikrobielt), < 0,01 % upstream- og downstream-primere, < 0,01 % fluorescensmærkede oligonukleotide prober, der er specifikke for mutationer forbundet med Rifampicin-resistens, mutationer forbundet med Isoniazid-resistens og MTB-kompleks, < 0,01 % oligonukleotid aptamer	9,7 ml

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

Opbevares ved 2-8 °C

Til brug på cobas® 5800 system og cobas® 6800/8800 systems med softwareversion 2.0 eller nyere (P/N 09040625190)

Til brug på cobas® 6800/8800 systems med softwareversion 1.4 (P/N 07833342190 eller P/N 09040625190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit
MTB-RIF/INH Positive Control (MTB-RIF/INH (+) C)	Tris-buffer, < 0,05 % natriumazid, < 0,05 % EDTA, 0,002 % Poly rA, < 0,01 % ikke-smitsomt plasmid-DNA (mikrobielt) indeholdende genomiske <i>M. tuberculosis</i> -sekvenser (16S, muteret <i>rpoB</i> - og muteret <i>inhA</i> -promoterregion)	16 ml (16 × 1 ml)

Tabel 3 cobas® Buffer Negative Control Kit

Opbevares ved 2-8 °C

Til brug på cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 2.0 eller nyere (P/N 09051953190)

Til brug på cobas® 6800/8800 systems med softwareversion 1.4 (P/N 07002238190 eller P/N 09051953190)

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

cobas® omni-reagenser til prøveforberedelse

Tabel 4 cobas® omni-reagenser til prøveforberedelse

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

* Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

** Biologisk farligt stof.

Krav til opbevaring af reagenser

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

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

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

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

Krav til håndtering af reagenser for **cobas®** 5800-systemet eller **cobas®** 6800/8800-systemerne

Reagenser, der er indsat på **cobas®** 5800 system eller **cobas®** 6800/8800 systems, opbevares ved de relevante temperaturer, og deres udløbsdato overvåges og håndhæves af systemet. Systemet giver kun mulighed for brug af reagenserne, hvis alle de betingelser for reagenshåndtering, der vist i Tabel 6, Tabel 7 og Tabel 8, overholdes. Systemet forhindrer automatisk brugen af udløbne reagenser. Oplysninger om resterende holdbarhed for åbent kit og antal anvendelser af kittet til analysespecifikke reagenser er tilgængeligt via systemets brugerinterface.

Tabel 6 Udløbsbetingelser for reagenser som overvåget og håndhævet af **cobas®** 5800-systemet

Reagens	Holdbarhed for åbent kit	Antal anvendelser af kit	Holdbarhed på systemet
cobas® MTB-RIF/INH	90 dage fra første brug	40	36 dage fra indsætning
cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit	Engangsflaske	16	36 dage fra indsætning
cobas® Buffer Negative Control Kit	Engangsflaske	16	36 dage fra indsætning

Tabel 7 Udløbsbetingelser for reagenser som håndhæves af **cobas®** 6800/8800-systemerne

Reagens	Holdbarhed for åbent kit	Antal anvendelser af kit	Holdbarhed på systemet (uden for køleskab på systemet)
cobas® MTB-RIF/INH	90 dage fra første brug	40	40 timer
cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit	flaske til engangsbrug	16	10 timer
cobas® Buffer Negative Control Kit	flaske til engangsbrug	16	10 timer

Tabel 8 viser holdbarheden for et åbent kit med **cobas® omni**-reagenser. Før hver kørsel bekræfter systemet holdbarheden for det åbne kit og sikrer tilstrækkeligt fyldningsvolumen. Disse reagenser har derfor ikke fået tildelt et antal anvendelser af kit eller en holdbarhed på systemet.

Tabel 8 Udløbsbetingelser for **cobas® omni**-reagenser som håndhævet af **cobas®** 5800/6800/8800-systemerne

Reagens	Holdbarhed for åbent kit
cobas® omni Lysis Reagent	30 dage fra indsætning
cobas® omni MGP Reagent	30 dage fra første brug
cobas® omni Specimen Diluent	30 dage fra indsætning
cobas® omni Wash Reagent	30 dage fra indsætning

Yderligere påkrævede materialer til **cobas®** 5800/6800/8800-systemerne

Tabel 9 Materialer til brug på **cobas®** 5800/6800/8800-systemerne

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

Tabel 10 Forbrugsartikler til brug på **cobas®** 5800-systemet*

Materiale
cobas® omni Processing Plate 24
cobas® omni Amplification Plate 24
cobas® omni Liquid Waste Plate 24
cobas® omni Liquid Waste Container
Pipettespids CORE TIPS med filter, 1 ml
Pipettespids CORE TIPS med filter, 300 µl
Pose til fast affald* eller pose til fast affald med indsats
16-positions rør-S-carrier, komplet
5-positions rack-carrier

* Se brugerassistancen til **cobas®** 5800-systemet for oplysninger om varenumre.

Tabel 11 Forbrugsartikler til brug på cobas® 6800/8800-systemerne*

Materiale
cobas® omni Processing Plate
cobas® omni Amplification Plate
cobas® omni Pipette Tips
cobas® omni Liquid Waste Container
Pose til fast affald og beholder til fast affald eller pose til fast affald med indsats og kitskuffe
STD-Rack. Reanalysering R001-R025 PINK

* Se brugerassistancen til cobas® 6800/8800-systemerne for oplysninger om varenumre.

Tabel 12 Andre materialer og forbrugsartikler, der kræves til den præanalytiske arbejdsgang

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

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

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

*** Få yderligere oplysninger om strekkodespecifikationer i brugerassistancen til cobas® 5800/6800/8800-systemerne. Brug af andre strekkodeetiketter end dem, der er anbefalet ovenfor, skal godkendes af brugeren før implementering i cobas® MTB-RIF/INH-arbejdsgangen i laboratoriet. Kontakt din lokale Roche-repræsentant for at få yderligere oplysninger om kompatible strekkodeetiketter og forslag til bekræftelse af kompatibilitet. Brugen af ikke-kompatible strekkodeetiketter kan medføre rørbeskadigelse under sonikering og efterfølgende kontaminering af instrumentet.

Påkrævede instrumenter og software

cobas® 5800-softwaren, cobas® 6800/8800-systemsoftwaren og cobas® MTB-RIF/INH-analysepakken til cobas® 5800/6800/8800-systemerne skal være installeret.

For cobas® 5800 og cobas® 6800/8800 systems-software 2.0 eller nyere følger x800 Data Manager-softwaren og pc'en (eller serveren) med systemet.

For cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 1.4 følger IG-serveren (Instrument Gateway-serveren) med systemet.

Tabel 13 Instrumenter

Udstyr	P/N
cobas® 5800 system	08707464001
cobas® 6800 system	05524245001 og 09575154001
cobas® 8800 system	05412722001 og 09575154001
Prøveforsyningsmodul til cobas® 6800/8800 systems	06301037001 og 09936882001

Se brugerassistanzen til cobas® 5800 system eller cobas® 6800/8800 systems for at få yderligere oplysninger.

Krav til forholdsregler og håndtering

Advarsler og forholdsregler

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

- Kun til *in vitro*-diagnostik brug.
- Alle patientprøver skal anses for at være potentielt smittefarlige. Derfor skal alle biologiske prøver håndteres som smittefarlige ved hjælp af god laboratorteknik og med en relevant risikovurdering som beskrevet i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, i CLSI-dokumentet M29-A4 og i Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual fra WHO.¹²⁻¹⁴ Denne procedure må kun udføres af medarbejdere, der er uddannet i håndtering af smittefarligt materiale og i brugen af cobas® MTB-RIF/INH og cobas® 5800/6800/8800-systemerne.
- Alle medarbejdere skal bære beskyttelsesudstyr, herunder arbejdstøj, engangshandsker samt beskyttelsesbriller og åndedrætsværn i henhold til institutionens sikkerhedsprocedurer og praksis, og de skal følge institutionens sikkerhedsprocedurer for arbejde med kemikalier og biologiske prøver.
- Alle laboratorier skal fastsætte de nødvendige prøvehåndteringstrin før og efter inaktivering af MIS baseret på en relevant risikovurdering, og laboratorierne skal overholde de anbefalede bestemmelser for biologisk sikkerhed, lokale og institutionens retningslinjer eller bestemmelser.¹⁴
- En vellykket TB-inaktivering afhænger af overholdelse af de procedurer, der er beskrevet i dette dokument, samt en fuldstændig blanding af prøven med MIS. Omdannelse af prøver til flydende form og inaktivering af mykobakterier med MIS skal udføres i overensstemmelse med de lokale og institutionens retningslinjer eller bestemmelser og baseres på en relevant risikovurdering.

- Alt materiale, der stammer fra mennesker, skal betragtes som potentielt smittefarligt og skal håndteres med generelle sikkerhedsforanstaltninger.
- Hvis der spildes materiale, skal det berørte område straks desinficeres med en nyfremstillet 0,5 % opløsning af natrium- eller kaliumhypoklorit i destilleret eller deioniseret vand, eller de relevante procedurer for laboratoriet følges.
- **Hvis der forekommer spildt materiale i MIS (som indeholder guanidinthiocyanat), må det ikke komme i kontakt med natrium- eller kaliumhypoklorit. Denne blanding kan danne en meget giftig gas.** Hvis der forekommer spildt materiale i MIS, skal man FØRST rengøre med et passende laboratorierengøringsmiddel og vand og derefter med 70 % ethanol.
- MIS er lysfølsomt og sendes i lysbeskyttende flasker. MIS skal opbevares oprejst.
- Brug kun medfølgende eller specificerede forbrugsartikler for at sikre den etablerede testperformance.
- Følg de angivne procedurer og retningslinjer nøje, så testen udføres korrekt. Eventuelle afvigelser fra procedurerne og retningslinjerne kan påvirke den etablerede testperformance.
- Der kan forekomme falsk-positive resultater, hvis krydskontaminering ikke kontrolleres tilstrækkeligt under håndtering og behandling af prøver.
- Der kan rekvireres sikkerhedsdatablade (SDS'er) ved henvendelse til den lokale Roche-repræsentant.
- Informer den lokale kompetente myndighed og producent om eventuelle alvorlige hændelser, der måtte opstå ved brug af denne analyse.

Håndtering af reagenser

- Håndter alle reagenser, kontroller og prøver i overensstemmelse med god laboratoriepraksis for at undgå carry-over af prøver, reagenser eller kontroller.
- Inspicer hver reagenskassette, diluent, lysisreagens og vaskereagens visuelt før brug for at sikre, at der ikke er tegn på utætheder. Materialet må ikke anvendes til test, hvis der er tegn på utætheder.
- **cobas® omni** Lysis Reagent og MIS indeholder guanidinthiocyanat, et potentielt farligt kemikalie. Undgå, at hud, øjne og slimhinder kommer i kontakt med reagenser. Ved kontakt skylles straks med rigelige mængder vand. Ellers kan der opstå ætsninger.
- **cobas® omni** Lysis Reagent eller MIS, som indeholder guanidinthiocyanat, må ikke komme i kontakt med en natrium- eller kaliumhypokloritopløsning. Denne blanding kan danne en meget giftig gas.
- Anvendte kontrolkit indeholder brudte beholdere med reagensrester. Man skal udvise særlig omhyggelighed ved bortskaffelse for at undgå, at der spildes reagens, eller at man kommer i kontakt med reagens.
- **cobas® MTB-RIF/INH**, **cobas® MTB-RIF/INH** Positive Control Kit, **cobas®** Buffer Negative Control Kit, **cobas® omni** MGP Reagent og **cobas® omni** Specimen Diluent indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Undgå, at hud, øjne og slimhinder kommer i kontakt med reagenser. Ved kontakt skylles straks med rigelige mængder vand. Ellers kan der opstå ætsninger. Hvis disse reagenser spildes, fortyndes der med vand, før de tørres op.
- Alt materiale, der har været i kontakt med prøver og reagenser, skal bortskaffes i overensstemmelse med nationale, regionale og lokale bestemmelser.

God laboratoriepraksis

- Brug ikke mundpipettering.
- Der må ikke spises, drikkes eller ryges i de angivne arbejdsområder.
- Behandl alle biologiske prøver, herunder MIS-behandlede prøver, som potentielt smittefarlige i henhold til lokale og institutionens retningslinjer eller bestemmelser og/eller baseret på en relevant risikovurdering.¹⁴
- Anvend beskyttelseshandsker, særligt arbejdstøj og beskyttelsesbriller samt åndedrætsværn ved håndtering af prøver og reagenser i henhold til institutionens sikkerhedsprocedurer. Undgå at kontaminere handsker ved håndtering af prøver og kontroller. Handskerne skal skiftes mellem håndtering af prøver og cobas® MTB-RIF/INH, cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit, cobas® Buffer Negative Control Kit, cobas® omni-reagenser og forbrugsmaterialer for at forhindre kontaminering.
- Desinficer og vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og reagenser og efter at have taget handskerne af.
- Rengør og desinficer alle arbejdsflader i laboratoriet grundigt med blegemiddel fortyndet med destilleret eller deioniseret vand til en 0,5 % opløsning af natrium- eller kaliumhypoklorit. Opløsningen skal være nyfremstillet. Tør overfladen efter med 70 % ethanol.
- Hvis der spildes materiale på cobas® 5800/6800/8800-systemerne, skal anvisningerne i brugervejledningen til cobas® 5800- eller cobas® 6800/8800-systemerne følges for korrekt rengøring og dekontaminering af instrumentoverfladerne.

Indsamling, transport og opbevaring af prøver

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

Prøve

Rå sputumprøver samt NALC-NaOH-behandlede sputum- og BAL-sedimenter kan bruges sammen med cobas® MTB-RIF/INH.

Transport og opbevaring af prøver

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

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

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

Opbevaring af inaktiverede prøver

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

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

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

Brugsanvisning

Procedurebemærkninger

- Brug ikke cobas® MTB-RIF/INH, cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit, cobas® Buffer Negative Control Kit, MIS eller cobas® omni-reagenser efter deres udløbsdatoer.
- Genanvend ikke forbrugsartikler. De er kun beregnet til engangsbrug.
- cobas® MTB-RIF/INH kan køres med et mindstevolumen for prøver på 1,2 ml, hvoraf 850 µl processeres.
- Sørg for, at termostabile stregkodeetiketter på prøverør er rettet mod og synlige gennem slidserne øverst på siden af MPA-prøveracksene. Se Figur 1 og brugerassistancen til cobas® 5800/6800/8800-systemerne for at få oplysninger om de korrekte stregkodespecifikationer og yderligere oplysninger om indsætning af prøverørene.
- Sørg for, at prøverørene er uden låg efter sonikering og før indsætning i cobas® 5800/6800/8800-systemerne.
- Se brugerassistancen til cobas® 5800/6800/8800-systemerne for at få oplysninger om korrekt vedligeholdelse af instrumenterne.

Før kørsel af cobas® MTB-RIF/INH på cobas® 5800/6800/8800-systemerne skal prøverne behandles i henhold til følgende afsnit: "Behandling af rå sputumprøver", "Behandling af sputum- og BAL-sedimenter" og "Sonikering af prøver".

Forkortede repræsentative arbejdsgange er opsummeret i Tabel 14 for rå sputumprøver og i Tabel 15 for sedimentprøver. Se de efterfølgende afsnit for at få yderligere oplysninger.

Bemærk! Prøvehåndtering før og efter inaktivering af cobas® MIS skal udføres i henhold til lokale og institutionens retningslinjer eller bestemmelser og/eller baseret på en relevant risikovurdering.¹⁴

Bemærk! Sonikering af MIS-behandlede prøver skal udføres i henhold til lokale og institutionens retningslinjer eller bestemmelser og/eller baseres på en relevant risikovurdering.¹⁴

Tabel 14 Oversigt over arbejdsgang – Rå sputumprøver

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

Tabel 15 Oversigt over arbejdsgang – Sedimentprøvetype

1		0,2 ml til 1 test 0,4 ml til 2 test 0,6 ml til 3 test	Bland i en vortex-mixer, og overfør 0,2 til 0,6 ml sedimentprøve til et sekundært rør med skruelåg
2	  		Tilføj 5 dele MIS til 1 del sedimentprøve • 1 ml MIS til 1 test (0,2 ml sedimentprøve) • 2 ml MIS til 2 test (0,4 ml sedimentprøve) • 3 ml MIS til 3 test (0,6 ml sedimentprøve)
3		30-60 sekunder	Ryst prøven kraftigt, eller bland den på en vortex-mixer i 30-60 sekunder
4		≥ 60 minutter	Inkuber prøven i mindst 60 minutter ved 15-30 °C (stuetemperatur)
5		30-60 sekunder	Ryst prøven kraftigt, eller bland den på en vortex-mixer i 30-60 sekunder
6		5 minutter	Soniker den MIS-behandlede prøve
7		Maks. 1 minut	Centrifuger prøven i højst 1 minut ved maksimalt RCF på 3.000 × g
8			Indsæt prøven uden låg i cobas® 5800- eller cobas® 6800/8800-systemerne, og start kørslen som en sedimentprøve

Behandling af rå sputumprøver

- Bekræft, at beholderen til rå sputum er korrekt mærket og indeholder mindst 0,4 ml sputum. Hvis den opbevares nedfrosset, skal prøven optøs til den omgivende temperatur.
- Vend MIS-flaskerne to til fire gange før brug.
- Åbn sputumbeholderen, og tilsæt ca. to dele MIS til en del sputumprøve (f.eks. 2 ml MIS til 1 ml sputumprøve) ved hjælp af en visuel volumenestimering og en engangspipette. Luk sputumbeholderen tæt til.
- Luk MIS-flaskerne straks efter brug.
- Ryst prøven kraftigt, eller bland den på en vortex-mixer i 30-60 sekunder.
Bemærk! Sørg for, at hele sputumprøven blandes med MIS.
- Inkuber prøven i mindst 60 minutter ved 15-30 °C (stuetemperatur).
Bemærk! Se de maksimale opbevaringsbetingelser i afsnittet "Opbevaring af inaktiverede prøver".
- Ryst prøven kraftigt, eller bland den på en vortex-mixer i 30-60 sekunder, eller indtil prøven er fuldstændigt homogeniseret.

- Overfør mindst 1,2 ml og højst 3,6 ml MIS-behandlet sputumprøve i et termostabilt barkodemærket 5 ml polypropylenrør med skruelåg 75 × 13 mm, rundbundet (Sarstedt-rør P/N 60.504.010, låg P/N 65.163). Luk røret godt til.

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

Bemærk! Se Tabel 16.

- Soniker den inaktiverede prøve i henhold til afsnittet "Sonikering af prøver" før kørsel af cobas® MTB-RIF/INH.

Behandling af sputum- og BAL-sedimenter

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

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

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

Bemærk! Se Tabel 16.

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

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

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

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

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

Tabel 16 Krav til cobas® Microbial Inactivation Solution-behandlet prøvevolumen for kørsel af cobas® MTB-RIF/INH

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

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

Sonikering af prøver

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

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

Bemærk! Sørg for, at hvert rør er mærket med én termostabil stregkodeetiket.

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

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



- Start rørsnikatoren.
- Vælg den foruddefinerede sonikeringsprofil "Respiratory Samples".
- Åbn rørsnikatorenheden, og indsæt MPA-racket i henhold til producentens anvisninger.
- Luk rørsnikatoren.
- Start sonikeringskørslen.
- Bekræft, at sonikeringskørslen blev udført, og fjern MPA-racket.

Bemærk! Prøverørene opvarmes under sonikeringskørslen. Udvis forsigtighed ved fjernelse af MPA-racket med prøverør.

Bemærk! I tilfælde af en sonikeringsfejl skal man følge producentens anvisninger, afhjælpe årsagen og gentage sonikeringskørslen, efter at prøverne har kølet ned i mindst 15 minutter.

- MIS-behandlede og sonikerede prøver kan nu køres med cobas® MTB-RIF/INH eller opbevares i henhold til afsnittet "Opbevaring af inaktiverede prøver".

Kørsel af cobas® MTB-RIF/INH på cobas® 5800/6800/8800-systemerne

- Betjeningen af instrumenterne er beskrevet i detaljer i brugerassistancen til cobas® 5800-systemet eller cobas® 6800/8800-systemerne.
- Se brugerassistancen til cobas® 5800 system eller cobas® 6800/8800 systems for at få oplysninger om korrekt vedligeholdelse af instrumenter. Før aftagning af lågene og indsættelse af prøverne i cobas® 5800-systemet anbefales det at pelletere celle- og matrixpartikler ved prøvecentrifugering i højst 1 minut ved maksimalt RCF på $3.000 \times g$.
- En enkelt kørsel kan bestå af en kombination af prøver (rå sputumprøve, sediment).
- Kontrollér, at prøvens stregkodeetiketter på prøverørene er synlige gennem åbningen i siden af de pågældende RD5- eller MPA-prøverack. Se brugerassistancen til cobas® 5800 system eller cobas® 6800/8800 systems for at få oplysninger om de korrekte stregkodespecifikationer og yderligere oplysninger om indsætning af prøverørene.

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

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

Figur 2 cobas® MTB-RIF/INH-testproceduren på cobas® 5800-systemet

1	Log på systemet
2	Indsættelse af prøver i systemet • Tag låget af rørene • Overfør røret direkte til racket • Indsæt prøveracks i systemet • Systemet forberedes automatisk • Bestil test • Vælg "Raw sputum" for at bestille MIS-behandlede rå sputumprøver • Vælg "Sediment" for at bestille MIS-behandlede sputum-/BAL-sedimentprøver
3	Genopfyld reagenser og forbrugsartikler som angivet af systemet • Indsæt de(n) testspecifikke reagenskassette(r) • Indsæt miniracks til kontroller • Indsæt processeringsspidsr • Indsæt elueringspidsr • Indsæt processeringsplader • Indsæt plader til flydende affald • Indsæt amplifikationsplader • Indsæt MGP-kassette • Genopfyld prøvediluent • Genopfyld lysisreagens • Genopfyld vaskereagens
4	Start kørslen ved at vælge tasten til "Start processing" (Start processering) i brugerinterfacet. Alle efterfølgende kørsler starter automatisk, hvis de ikke udsættes manuelt
5	Gennemse og eksportér resultater
6	Fjern og sæt om nødvendigt låg på de prøverør, der opfylder det påkrævede mindstevolumen, til fremtidig brug Rengør instrumentet • Udtag tomme miniracks til kontroller • Udtag tom(me) testspecifik(ke) reagenskassette(r) • Tøm skuffe til amplifikationsplader • Tøm flydende affald • Tøm fast affald

Figur 3 cobas® MTB-RIF/INH-testproceduren på cobas® 6800/8800-systemerne

1	Log på systemet Tryk på Start for at forberede systemet Bestil test • Vælg "Raw sputum" for at bestille MIS-behandlede rå sputumprøver • Vælg "Sediment" for at bestille MIS-behandlede sputum-/BAL-sedimentprøver
2	Genopfyld reagenser og forbrugsartikler som angivet af systemet • Indsæt den testspecifikke reagenskassette • Indsæt kontrolkassetter • Indsæt pipettespidser • Indsæt processeringsplader • Indsæt MGP-reagens • Indsæt amplifikationsplader • Genopfyld prøvediluent • Genopfyld lysisreagens • Genopfyld vaskereagens
3	Indsættelse af prøver i systemet • For hver prøve ◦ Tag låget af røret ◦ Overfør røret til racket • Indsæt prøveracket og rackene til clot-spidser i prøveforsyningsmodulet • Bekræft, at prøverne er blevet accepteret i transfermodulet
4	Start kørsel
5	Gennemse og eksportér resultater
6	Fjern og sæt om nødvendigt låg på de prøverør, der opfylder det påkrævede mindstevolumen, til fremtidig brug Rengør instrumentet • Udtag tomme kontrolkassetter • Tøm skuffe til amplifikationsplader • Tøm flydende affald • Tøm fast affald

Resultater

cobas® MTB-RIF/INH detekterer automatisk mutationer forbundet med Rifampicin-resistens og mutationer forbundet med Isoniazid-resistens for prøver og kontroller og viser validiteten af testen samt de individuelle target-resultater.

Kvalitetskontrol og validitet af resultater på cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 2.0 eller nyere

- Der behandles én cobas® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] og én cobas® MTB-RIF/INH Positive Control [MTB-RIF/INH (+) C] mindst hver 72. time og med hvert nye kitlot. Positive og/eller negative kontroller kan planlægges til at udføres oftere på baggrund af laboratorieprocedurer og/eller lokale bestemmelser.
- I softwaren og/eller rapporten kontrolleres for flagmarkeringer og deres tilhørende resultater for at sikre validiteten af resultaterne (se brugerassistancen til x800 Data Manager for en "liste over flagkoder").
- Kontroller er markeret med "Valid" i kolonnen "Control result" (Kontrolresultat), hvis det pågældende target for kontrollerne rapporteres som værende validt. Kontroller er markeret med "Invalid" i kolonnen "Control result", hvis det pågældende target for kontrollerne rapporteres som værende invalidt.
- Kontroller, der er markeret med "Invalid", viser et flag i kolonnen "Flags". Der er flere oplysninger om, hvorfor kontrollen rapporteres som invalid, herunder oplysninger om markeringer, i detaljevisningen.
- Hvis én af kontrollerne er invalid, skal testen af alle kontroller og alle tilhørende prøver gentages.

Resultater valideres automatisk af instrumentsoftwaren på baggrund af kontrolresultaterne.

Bemærk! cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 2.0 eller nyere leveres med standardindstillingen til kørsel af et sæt kontroller (positive og negative) med hver kørsel men kan konfigureres til at udføres med længere intervaller op til hver 72. time på baggrund af laboratorieprocedurer og/eller lokale bestemmelser. Kontakt en servicetekniker fra Roche og/eller Roches tekniske kundesupport for at få flere oplysninger.

Kvalitetskontrol og validitet af resultater i cobas® 6800/8800-systemernes softwareversion 1.4

- Én cobas® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] og én cobas® MTB-RIF/INH Positive Control [MTB-RIF/INH (+) C] behandles med hver batch af en ønsket resultattype.
- I cobas® 6800/8800-systemernes software og/eller rapporten skal du kontrollere for flagmarkeringer og deres tilhørende resultater for at sikre, at batchen er valid.
- Alle flag beskrives i brugerassistance til cobas® 6800/8800-systemerne.
- Batchen er valid, hvis der ingen flag vises for alle kontrollerne. Hvis batchen er invalid, er det påkrævet at gentage testen af hele batchen.

Resultater valideres automatisk af instrumentsoftwaren på baggrund af kontrolresultaterne.

Fortolkning af resultater for cobas® 5800/6800/8800-systemerne

Tabel 17 cobas® MTB-RIF/INH-resultater og fortolkning

Target 1	Target 2	Target 3	Target 4	Fortolkning
INH Negative	RIF1 Negative	RIF2 Negative	RIF3 Negative	INH-resultatet er validt. Mutationer forbundet med INH-resistens er ikke detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutationer forbundet med RIF-resistens er ikke detekteret.
INH Negative	RIF 1 Positive	RIF 2 Negative	RIF 3 Negative	INH-resultatet er validt. Mutationer forbundet med INH-resistens er ikke detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Negative	RIF 1 Negative	RIF 2 Positive	RIF 3 Negative	INH-resultatet er validt. Mutationer forbundet med INH-resistens er ikke detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Negative	RIF 1 Negative	RIF 2 Negative	RIF 3 Positive	INH-resultatet er validt. Mutationer forbundet med INH-resistens er ikke detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Negative	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	RIF 3 Negative	INH-resultatet er validt. Mutationer forbundet med INH-resistens er ikke detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Negative	RIF 1 Positive	RIF 2 Negative	RIF 3 Positive	INH-resultatet er validt. Mutationer forbundet med INH-resistens er ikke detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Negative	RIF 1 Negative	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	INH-resultatet er validt. Mutationer forbundet med INH-resistens er ikke detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Negative	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	INH-resultatet er validt. Mutationer forbundet med INH-resistens er ikke detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Positive	RIF 1 Negative	RIF 2 Negative	RIF 3 Negative	INH-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med INH-resistens er detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutationer forbundet med RIF-resistens er ikke detekteret.
INH Positive	RIF 1 Positive	RIF 2 Negative	RIF 3 Negative	INH-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med INH-resistens er detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Positive	RIF 1 Positive	Invalid	Invalid	INH-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med INH-resistens er detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.

Target 1	Target 2	Target 3	Target 4	Fortolkning
INH Positive	RIF 1 Negative	RIF 2 Positive	RIF 3 Negative	INH-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med INH-resistens er detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Positive	Invalid	RIF 2 Positive	Invalid	INH-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med INH-resistens er detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Positive	RIF 1 Negative	RIF 2 Negative	RIF 3 Positive	INH-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med INH-resistens er detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Positive	Invalid	Invalid	RIF 3 Positive	INH-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med INH-resistens er detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Positive	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	RIF 3 Negative	INH-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med INH-resistens er detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Positive	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	Invalid	INH-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med INH-resistens er detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Positive	RIF 1 Positive	RIF 2 Negative	RIF 3 Positive	INH-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med INH-resistens er detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Positive	RIF 1 Positive	Invalid	RIF 3 Positive	INH-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med INH-resistens er detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Positive	RIF 1 Negative	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	INH-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med INH-resistens er detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Positive	Invalid	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	INH-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med INH-resistens er detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Positive	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	INH-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med INH-resistens er detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Positive	Invalid	Invalid	Invalid	INH-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med INH-resistens er detekteret. RIF-resultatet er invalidt. Se ovennævnte instruktioner.
Invalid	RIF 1 Positive	Invalid	Invalid	INH-resultatet er invalidt. Se ovennævnte instruktioner. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.

Target 1	Target 2	Target 3	Target 4	Fortolkning
Invalid	Invalid	RIF 2 Positive	Invalid	INH-resultatet er invalidt. Se ovennævnte instruktioner. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
Invalid	Invalid	Invalid	RIF 3 Positive	INH-resultatet er invalidt. Se ovennævnte instruktioner. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
Invalid	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	Invalid	INH-resultatet er invalidt. Se ovennævnte instruktioner. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
Invalid	RIF 1 Positive	Invalid	RIF 3 Positive	INH-resultatet er invalidt. Se ovennævnte instruktioner. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
Invalid	Invalid	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	INH-resultatet er invalidt. Se ovennævnte instruktioner. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
Invalid	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	INH-resultatet er invalidt. Se ovennævnte instruktioner. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
INH Positive	RIF 1 Negative	Invalid	RIF 3 Positive	INH-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med INH-resistens er detekteret. RIF-resultatet er validt. Mutation(er) forbundet med RIF-resistens er detekteret.
Invalid	Invalid	Invalid	Invalid	INH-resultatet er invalidt. Se ovennævnte instruktioner. RIF-resultatet er invalidt. Se ovennævnte instruktioner.

Fortolkning af resultater for cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 2.0 eller nyere

Resultaterne af prøverne vises i appen "Results" i softwaren. Der kan ses eksempler på visningen af resultater i Figur 4.

For en valid kontrolbatch skal hver enkelt prøve kontrolleres for flag i softwaren og/eller rapporten. Resultatfortolkningen skal være som følger:

- Prøver, der er tilknyttet en valid kontrolbatch, vises som "Valid" i kolonnen "Control result" (Kontrolresultat), hvis de pågældende target-resultater for kontrollen rapporteres som valide. Prøver, der er tilknyttet en mislykket kontrolbatch, vises som "Invalid" i kolonnen "Control result", hvis de pågældende target-resultater for kontrollen rapporteres som invalide.
- Hvis de tilhørende kontroller for et prøveresultat er invalide, bliver følgende specifikke flag føjet til prøveresultatet:
 - Q05D: Fejl i resultatvalidering på grund af en invalid positiv kontrol
 - Q06D: Fejl i resultatvalidering på grund af en invalid negativ kontrol
- Værdierne i kolonnen "Results" (Resultater) for individuelt target-resultat af prøven skal fortolkes som vist i Tabel 17 ovenfor.
- Hvis en eller flere prøve-targets er markeret med "Invalid", viser softwaren et flag i kolonnen "Flags". Der er flere oplysninger om, hvorfor prøve-target(s) rapporteres som invalid(e), herunder oplysninger om flag, i detaljevisningen.

Figur 4 Eksempel på **cobas®** MTB-RIF/INH-resultater på **cobas®** 5800-systemet og **cobas®** 6800/8800-systemerne med softwareversion 2.0

Prøve-id	Test	Kontrol-resultat	Flag	Status	Resultat				Dato/klokkeslæt for oprettelse
MRI_RS_inv-01	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Invalid	RIF1 Invalid	RIF2 Invalid	RIF3 Invalid	7/1/2022 11:45:19 AM
MRI_RS_neg-01	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Negative	RIF1 Negative	RIF2 Negative	RIF3 Negative	7/1/2022 11:45:20 AM
MRI_RS_neg-02	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Negative	RIF1 Negative	RIF2 Negative	RIF3 Negative	7/1/2022 11:45:20 AM
MRI_RS_pos-01	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Positive (Ct 41.56)	RIF1 Positive (Ct 40.12)	RIF2 Positive (Ct 41.08)	RIF3 Positive (Ct 40.38)	7/1/2022 11:45:18 AM
MRI_RS_pos-02	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Positive (Ct 40.22)	RIF1 Positive (Ct 42.00)	RIF2 Positive (Ct 42.78)	RIF3 Positive (Ct 42.77)	7/1/2022 11:45:19 AM
MRI_S_inv-01	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Invalid	RIF1 Invalid	RIF2 Invalid	RIF3 Invalid	7/1/2022 11:45:18 AM
MRI_S_neg-01	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Negative	RIF1 Negative	RIF2 Negative	INH Negative	7/1/2022 11:45:18 AM

Fortolkning af resultater på **cobas®** 6800/8800-systemerne med softwareversion 1.4

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

- En valid batch kan indeholde både valide og invalide prøveresultater.
- Kolonnerne "Valid" og "Overall Result" (Samlet resultat) er ikke relevante (NA) for prøveresultater for **cobas®** MTB-RIF/INH-testen og er markeret med "NA". Værdier, der rapporteres i disse kolonner, anvendes ikke og påvirker **ikke** validiteten af de resultater, der rapporteres i de individuelle kolonner med target-resultater.
- Rapporterede target-resultater for individuelle prøver er valide, medmindre de er angivet som "Invalid" i den individuelle kolonne med target-resultatet. Bemærk, at rapporterbare resultater af mutationer forbundet med RIF-resistens kan indeholde et eller to invalide individuelle target-resultater som angivet i Tabel 15.
- Der kan være mere end én mutation forbundet med RIF-resistens til stede, som detekteres i én af RIF-detektionskanalerne (Target 2, Target 3, Target 4). **cobas®** MTB-RIF/INH differentierer ikke mellem de specifikke mutationer forbundet med RIF-resistens.
- Der kan være mere end én mutation forbundet med INH-resistens til stede, som detekteres i INH-detektionskanalen (Target 1). **cobas®** MTB-RIF/INH differentierer ikke mellem de specifikke mutationer forbundet med INH-resistens.
- **cobas®** MTB-RIF/INH er en reflekstest til **cobas®** MTB og er som sådan baseret på detektion af vildtype-MTB-kompleks DNA for at monitorere hele prøveforberedelsen og PCR-amplifikationsprocessen. **cobas®** MTB adskiller sig fra **cobas®** MTB-RIF/INH ved højere sensitivitet for detektion af MTB-kompleks DNA som følge af dual target-tilgang, hvor ét target er til stede i flere genomiske kopier. I nogle tilfælde, hvor hverken MTB eller de pågældende resistensforbundne mutationer detekteres, kan tilstedeværelsen eller fraværet af resistensforbundne mutationer derfor ikke bestemmes med **cobas®** MTB-RIF/INH (resultatet "Invalid" i de pågældende kolonne med target-resultatet, Tabel 15). Hvis dette forekommer:
 - Kontrollér for tilhørende flag. Flagene "C02H1-H5" er indikative for utilstrækkelig MTB-kompleks DNA ved fraværet af andre flag.

- Test en inaktiveret prøven igen, hvis der er tilstrækkeligt med volumen tilgængelig i henhold til Tabel 14, og hvis den inaktiverede prøve har været opbevaret i henhold til afsnittet "Opbevaring af inaktiverede prøver", ellers skal der testes igen med en ny frisk prøve.
- Overvej at berige *M. tuberculosis*-bakteriebelastningen ved hjælp af dyrkningsudvidelse eller ved hjælp af alternative metoder, hvis der gentagne gange observeres invalide resultater for den samme patient.
- Resultaterne af denne test bør kun fortolkes sammen med oplysninger fra klinisk vurdering af patienten og patientens anamnese.

Resultaterne og den tilhørende fortolkning til detektion af mutationer forbundet med Rifampicin- og Isoniazid-resistens er vist i Tabel 15.

Figur 5 Eksempel på **cobas®** MTB-RIF/INH-resultater på **cobas®** 6800/8800 systemerne med softwareversion 1.4

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

Begrænsninger ved procedureerne

- **cobas®** MTB-RIF/INH skal altid udføres sammen med mykobakteriel dyrkning og test af lægemiddelmodtageligheden og som en reflekttest sammen med **cobas®** MTB (prøver, der er blevet bestemt positive med **cobas®** MTB) for at minimere risikoen for falsk-positive, falsk-negative og/eller invalide resultater. Performance for **cobas®** MTB-RIF/INH er blevet valideret for rå sputum samt for sputum- og BAL-sedimentprøver, der er blevet fortyndet, dekontamineret og koncentreret ved hjælp af NALC-NaOH. Brugen af andre prøvetyper kan medføre falsk-positive, falsk-negative og/eller invalide resultater. Fordøjelse og dekontaminering skal udføres ved hjælp af de NALC-NaOH-procedurer, der anbefales af CDC.¹⁵ Brugen af alternative præanalytiske prøveforberedelsesprocedurer kan medføre falsk-positive, falsk-negative og/eller invalide resultater.
- **cobas®** MTB-RIF/INH er blevet valideret til brug med rå sputum og NALC-NaOH-behandlede sputum- og BAL-sedimentprøver, der er kemisk inaktiveret ved hjælp af MIS. Andre inaktiveringsprocedurer er ikke blevet evalueret og kan medføre falsk-positive, falsk-negative og/eller invalide resultater.
- En vellykket TB-inaktivering afhænger af overholdelse af de procedurer, der er beskrevet i dette dokument, samt en fuldstændig blanding af prøven med MIS. Omdannelse af prøver til flydende form og inaktivering af mykobakterier med MIS skal udføres i overensstemmelse med de lokale og institutionens retningslinjer eller bestemmelser og baseres på en relevant risikovurdering.

- Overskridelse af volumenbegrænsningerne og/eller afvigelse fra de proceduremæssige trin, der er beskrevet i afsnittene "Behandling af rå sputumprøver", "Behandling af sputum- og BAL-sedimenter" og "Sonikering af prøver", kan medføre falsk-positive, falsk-negative og/eller invalide resultater.
- Nukleinsyreamplifikationsanalyser kan ikke bestemme levedygtigheden for organismer.
- Testen kan ikke afgøre den behandlingsmæssige succes eller fiasko af antituberkulosebehandlingen.
- Dette produkt må kun anvendes af medarbejdere, som er uddannet i brugen af PCR-teknikker og brugen af **cobas**® 5800/6800/8800-systemerne.
- **cobas**® MTB-RIF/INH er kun evalueret til brug sammen med **cobas**® MTB-RIF/INH Positive Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, **cobas**® **omni** MGP Reagent, **cobas**® **omni** Lysis Reagent, **cobas**® **omni** Specimen Diluent og **cobas**® **omni** Wash Reagent til brug på **cobas**® 5800/6800/8800-systemerne, MIS og rørsonikator TS 5 fra Rinco Ultrasonics AG.
- Pålidelige resultater er afhængige af korrekte procedurer til prøvetagning, -opbevaring og -håndtering.
- **cobas**® MTB-RIF/INH er ikke indikeret til brug med luftvejsprøver som en helbredstest.
- **cobas**® MTB-RIF/INH differentierer ikke mellem de forskellige arter af MTB-komplekset.
- Detektion af mutationer forbundet med Rifampicin-resistens og mutationer forbundet med Isoniazid-resistens afhænger af det antal organismer af MTB-komplekset, der er til stede i prøven, og kan være påvirket af prøvetagningsmetoder og patientfaktorer (dvs. alder, sygdommens alvor, HIV-status).
- For patienter, som er både MTB- og HIV-smittede, er der en højere sandsynlighed for, at prøverne er smear-negative, og at patienterne derfor har MTB-kompleks under analysens detektionsgrænse.
- Sundhedspersonalet skal fortolke resultater i sammenhæng med patientens anamnese, kliniske præsentation samt resultater af andre laboratorie- og radiologitest.
- Der kan forekomme falsk-negative eller invalide resultater pga. polymerasehæmning. Detektion af MTB-kompleks DNA, der er naturligt til stede i prøven, er inkluderet i **cobas**® MTB-RIF/INH-designet som en intern kontrol for at sikre, at prøverne indeholder tilstrækkeligt MTB-kompleks DNA.
- Tilsætningen af AmpErase-enzym til **cobas**® MTB-RIF/INH Master Mix-reagenset aktiverer selektivt amplifikation af target-DNA. Kontaminering fra reagenser kan dog kun undgås med god laboratoriepraksis og nøje overholdelse af de procedurer, der er angivet i denne brugervejledning.
- Selvom det er sjældent, kan mutationer forbundet med resistens muligvis ikke detekteres, hvis der er yderligere mutationer tæt på.
- På grund af naturlige forskelle mellem teknologier anbefales det, at brugeren udfører metodekorrelationsundersøgelser i laboratoriet for at fastlægge teknologiske forskelle, før der skiftes fra en teknologi til en anden. Man skal ikke forvente 100 procent overensstemmelse mellem resultaterne på grund af de ovennævnte forskelle mellem teknologierne.
- Brug af andre rør end dem, der er anbefalet i Tabel 12, skal godkendes af brugeren før implementering i **cobas**® MTB-RIF/INH-arbejdsgangen i laboratoriet. Brug af andre prøverør kan forårsage skader på rør og kontaminering af sonikatorens overflader. Der kan også forekomme falsk-negative resultater som følge af utilstrækkelig sonikeringsenergi.
- Brug af andre barkoder end dem, der er anbefalet i Tabel 12, skal godkendes af brugeren før implementering i **cobas**® MTB-RIF/INH-arbejdsgangen i laboratoriet. Brug af andre barkodetyper kan forårsage skader på barkoden.

Evaluering af performance

Systemækvivalens

Systemækvivalensen for cobas® 5800, cobas® 6800 og cobas® 8800 systems blev påvist via performance-undersøgelser. De data, der er præsenteret i denne brugsanvisning, understøtter tilsvarende ækvivalent performance for alle systemer.

Vigtige egenskaber for performance

Inaktivering af prøver

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

Detektionsgrænse (LoD)

Detektionsgrænsen for cobas® MTB-RIF/INH blev bestemt ved analyse af serielle fortyndinger af en stamme af mutant MTB-kompleks, der bærer den mest fremherskende mutation forbundet med Rifampicin-resistens (*rpoB*-genet) S531L og den mest fremherskende mutation forbundet med Isoniazid-resistens (*katG*-genet) S315T, i to poolede negative kliniske matricer – rå sputumprøver og sputum/BAL-sedimenter. Paneler af 10 til 11 koncentrationsniveauer samt et blindt blev testet ved hjælp af i alt 72 replikater pr. koncentrationsniveau og prøvetype ved hjælp af tre lot cobas® MTB-RIF/INH-testreagenser over flere kørsler, dage, operatører og instrumenter.

LoD for detektion af RIF-resistent *M. tuberculosis* varierede fra 94,0 CFU/ml (sputum/BAL-sediment) til 182 CFU/ml (rå sputumprøve).

LoD for detektion af INH-resistent *M. tuberculosis* varierede fra 12,6 CFU/ml (sputum/BAL-sediment) til 27,5 CFU/ml (rå sputumprøve).

Heteroresistens

Evnen til at detektere mutant MTB i en blandet infektion med vildtype-MTB blev bekræftet ved at teste forskellige mutant til vildtype-forhold. Lave koncentrationsniveauer af MDR MTB-dyrkningsisolat ($\sim 3 \times \text{LoD}$) på en baggrund af op til 60 % vildtype-MTB detekteres ved hjælp af cobas® MTB-RIF/INH i rå sputum- og sputum- samt BAL-sedimentprøver.

Inklusivitet for mutationer forbundet med resistens

Inklusiviteten for mutationer i *rpoB*-genet forbundet med rifampicin-resistens og i *katG*-genet og *inhA*-genpromoter-regionen forbundet med Isoniazid-resistens i organismer af MTB-komplekset blev bekræftet ved at teste dyrkningsstammer af Rifampicin- og/eller Isoniazid-resistente stammer af MTB-komplekset, der bærer følgende 23 mutationer:

- *rpoB*-genmutationer forbundet med fænotypisk Rifampicin-resistens:
 - L511P
 - Q513K, Q513L, Q513P
 - D516V, D516Y
 - S522L, S522Q
 - H526D, H526L, H526N, H526R, H526Y
 - S531L, S531W
 - L533P
- *katG*-genmutationer og mutationer af *inhA*-genpromoterregionen forbundet med fænotypisk Isoniazid-resistens:
 - *katG*-genet:
 - S315I, S315N, S315T, S315T2
 - *inhA*-genpromoterregionen:
 - T-8A, T-8C
 - C-15T

Alle mutationer blev detekteret ved 545 CFU/ml i rå sputumprøver og ved 282 CFU/ml i sputum- og BAL-sedimentprøver.

Inklusiviteten for yderligere to *rpoB*-genmutationer forbundet med Rifampicin-resistens – S522W og D516G – blev bekræftet ved at teste plasmider, og begge blev detekteret ved 77 kopier/ml.

Specificitet for vildtype-MTB-kompleks

Den analytiske specificitet for vildtype-MTB-komplekset blev bekræftet ved at teste 13 MTB-stammer ved høje koncentrationsniveauer (~1,00E+04 CFU/ml) i rå sputumprøver og sputum samt BAL-sediment og for følgende stammer af MTB-komplekset ved lave koncentrationsniveauer (~3 × LoD) i sediment:

- *M. tuberculosis* (H37 ATCC® 25177™)
- *M. bovis* BCG (understamme Tokyo 172 NIBSC 07/272 WHO og understamme Moscow NIBSC 07/274 WHO)
- *M. africanum* (ATCC® 25420™)
- *M. bovis* subsp. *bovis* (ATCC® 19210™)
- *M. canetti* (NLA 000016778)
- *M. caprae* (ATCC® BAA-824™)
- *M. microti* (ATCC® 19422™)
- *M. orygis* (NLA 001300863)
- *M. pinnipedii* (ATCC® BAA-688™)

Alle vildtype-stammer genererede valide negative resultater for RIF og INH.

Præcision

In-house-præcisionen blev undersøgt ved hjælp af et panel sammensat af en dyrket stamme af mutant MTB-kompleks, der bærer den mest fremherskende mutation forbundet med Rifampicin-resistens (*rpoB*-genet) S531L og den mest fremherskende mutation forbundet med Isoniazid-resistens (*katG*-genet) S315T, fortyndet i to poolede negative kliniske matricer – rå sputumprøve og sputum/BAL-sedimenter. Variabilitetskilderne blev undersøgt med paneler bestående af tre koncentrationsniveauer (inklusive blinde) ved hjælp af tre lots af cobas® MTB-RIF/INH-reagenser og to instrumenter over 12 dage og med i alt 24 kørsler. I Tabel 18 vises en beskrivelse af præcisionspanelerne og de observerede positivitetsprocenter. Alle negative panelmedlemmer testede negativt i hele undersøgelsen. Analysen af standardafvigelsen og variationskoefficienten i procent for Ct-værdier fra test, der blev udført på positive panelmedlemmer (se Tabel 19) gav overordnede CV (%) fra 1,8 % til 2,7 % for detektion af mutationer forbundet med INH-resistens og fra 1,5 % til 2,1 % for detektion af mutationer forbundet med RIF-resistens.

Tabel 18 Oversigt over intra-laboratoriepræcision

Targetkoncentration	Ant. testet	N positive	Positivitetsprocent	95 %-konfidensinterval	
				Nedre grænse	Øvre grænse
M. tuberculosis – rå sputumprøve for RIF-target					
Negativt	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
182 CFU/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %
545 CFU/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %
M. tuberculosis – sediment for RIF-target					
Negativt	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
94,0 CFU/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %
282 CFU/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %
M. tuberculosis – rå sputumprøve for INH-target					
Negativt	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
27,5 CFU/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %
82,5 CFU/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %
M. tuberculosis – sediment for INH-target					
Negativt	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
12,6 CFU/ml	48	47	97,9 %	88,9 %	99,9 %
37,8 CFU/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %

Tabel 19 Samlede gennemsnitlige standardafvigelser og variationskoefficienter (%) for cyklusgrænse, MTBC-positive paneler

Targetkoncentration	Positivitetsprocent	Gnsn. Ct	Intra-seriel kørsel		Inter-seriel kørsel		Fra dag til dag		Fra instrument til instrument		Fra lot til lot		I alt	
			SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%
M. tuberculosis – rå sputumprøve for RIF-target														
182 CFU/ml	100 %	37,3	0,48	1,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,34	0,9	0,00	0,0	0,59	1,6
545 CFU/ml	100 %	35,6	0,40	1,1	0,00	0,0	0,29	0,8	0,00	0,0	0,24	0,7	0,55	1,5
M. tuberculosis – sediment for RIF-target														
94,0 CFU/ml	100 %	39,3	0,36	0,9	0,14	0,3	0,45	1,1	0,00	0,0	0,42	1,1	0,72	1,8
282 CFU/ml	100 %	38,0	0,40	1,0	0,12	0,3	0,54	1,4	0,41	1,1	0,00	0,0	0,80	2,1
M. tuberculosis – rå sputumprøve for INH-target														
27,5 CFU/ml	100 %	37,5	0,74	2,0	0,00	0,0	0,31	0,8	0,17	0,5	0,00	0,0	0,82	2,2
82,5 CFU/ml	100 %	35,9	0,52	1,5	0,00	0,0	0,43	1,2	0,31	0,9	0,00	0,0	0,74	2,1
M. tuberculosis – sediment for INH-target														
12,6 CFU/ml	97,9 %	39,4	0,75	1,9	0,66	1,7	0,00	0,0	0,34	0,9	0,00	0,0	1,06	2,7
37,8 CFU/ml	100 %	37,5	0,56	1,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,31	0,8	0,15	0,4	0,66	1,8

Analytisk specificitet/krydsreaktivitet

Et panel på 145 bakterier, svampe og vira, herunder dem, der almindelig vis findes i luftvejene, blev testet med **cobas**® MTB-RIF/INH for at vurdere den analytiske specificitet og evne til at detektere lave koncentrationer af mutant- og vildtype-MTB ved tilstedeværelsen af andre organismer. De organismer, der er angivet i Tabel 20, blev tilsat ved koncentrationer på ca. 1×10^6 enheder/ml for bakterier og ca. 1×10^5 enheder/ml for vira. Testen blev udført med hver potentielt interfererende organisme ved fravær og tilstedeværelse af mutant MTB-kompleks-target (tilsat ved 282 CFU/ml) og vildtype-MTB-kompleks-target (tilsat ved 200 CFU/ml). Ingen af organismene interfererede med testens performance ved at generere falsk-positive resultater. Detektion af lave koncentrationer af mutant MTB-kompleks-target blev ikke påvirket af de testede organismer med undtagelse af *M. asiaticum*, *M. fuerth*, *M. intermedium*, *M. marseillense*, *M. peregrinum* og *M. szulgai* ved koncentrationsniveauer $> 1 \times 10^5$ CFU/ml og *M. chubuense* ved koncentrationsniveauer $> 1 \times 10^4$ CFU/ml. Detektion af lave koncentrationer af vildtype-MTB-kompleks-target blev ikke påvirket af de testede organismer med undtagelse af *M. avium* subsp. *hominissuis*, *M. avium* subsp. *silvaticum*, *M. colombiense*, *M. gastri*, *M. lentiflavum* og *M. marinum* ved koncentrationsniveauer $> 1 \times 10^5$ CFU/ml og *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, *M. bouchedurhonense* og *M. vulneris* ved koncentrationsniveauer $> 1 \times 10^4$ CFU/ml. Potentiel krydsreaktivitet i *Histoplasma capsulatum*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium mantanii* og *Mycobacterium timonense* blev evalueret *in silico*. Resultaterne af *in silico*-analyser forudsiger en meget lav sandsynlighed for amplifikation og detektion af disse organismer ved brug af **cobas**® MTB-RIF/INH.

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

Mikroorganisme	Koncentration	Mikroorganisme	Koncentration
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium gordonae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium haemophilum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	8,5E+05 CFU/ml	<i>Mycobacterium holsaticum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Adenovirus</i>	1,0E+05 kopier/ml	<i>Mycobacterium indicus pranii</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium intermedium</i>	1,0E+05 CFU/ml*
<i>Bacillus cereus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium kansasii</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Bacteroides fragilis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium kumamontense</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	1,0E+06 geq/ml	<i>Mycobacterium lentiflavum</i>	1,0E+05 CFU/ml*
<i>Burkholderia cepacia</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium malmoeense</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium marinum</i>	1,0E+05 CFU/ml*
<i>Candida glabrata</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium marseillense</i>	1,0E+05 CFU/ml*
<i>Candida krusei</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium mucogenicum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Candida parapsilosis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium neoaurum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Candida tropicalis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium nonchromogenicum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1,0E+06 IFU/ml	<i>Mycobacterium peregrinum</i>	1,0E+05 CFU/ml*
<i>Citrobacter freundii</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium simiae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium szulgai</i>	1,0E+05 CFU/ml*
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium terrae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Eikenella corrodens</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium triviale</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium vaccae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i> subsp. <i>cloacae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium vulneris</i>	1,0E+04 CFU/ml*
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium xenopi</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Enterococcus faecium</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium yongonense</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,0E+06 ccu/ml
<i>Escherichia coli</i> producerer CTX-M-15 ESBL	1,0E+06 CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i> subsp. <i>nucleatum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Neisseria lactamica</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Neisseria mucosa</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Neisseria sicca</i>	1,0E+06 CFU/ml
Human immundefektvirus	1,0E+05 kopier/ml	<i>Nocardia brasiliensis</i>	1,0E+06 geq/ml
Human influenzavirus A	1,0E+05 E/ml	<i>Nocardia farcinica</i>	1,0E+06 CFU/ml
Human influenzavirus B	1,0E+05 E/ml	<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	1,0E+06 CFU/ml
Humant metapneumovirus	1,0E+05 E/ml	<i>Pediococcus acidilactici</i>	1,0E+06 geq/ml
Human parainfluenza type 1	1,0E+05 E/ml	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	1,0E+06 CFU/ml
Human parainfluenza type 2	1,0E+05 E/ml	<i>Penicillium</i> spp.	1,0E+06 CFU/ml
Human parainfluenza type 3	1,0E+05 E/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1,0E+06 CFU/ml
Human parainfluenza type 4	1,0E+05 E/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1,0E+06 CFU/ml
Human respiratorisk syncytialvirus type A	1,0E+05 E/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1,0E+06 CFU/ml
Human respiratorisk syncytialvirus type B	1,0E+05 E/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1,0E+06 CFU/ml

Mikroorganisme	Koncentration	Mikroorganisme	Koncentration
Humant rhinovirus	1,0E+05 E/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Kingella kingae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Rhizopus</i> spp.	1,0E+06 CFU/ml
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Rhodococcus equi</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i> producerer KPC-3 carbapenemase	1,0E+06 CFU/ml	<i>Rubella-virus</i>	1,0E+05 E/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Rubeola-virus (mæslinger)</i>	1,0E+05 E/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Rubulavirus</i>	1,0E+05 E/ml
<i>Lactobacillus casei</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Scedosporium</i> spp.	1,0E+06 CFU/ml
<i>Legionella micdadei</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Serratia marcescens</i> subsp. <i>marcescens</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Legionella pneumophila</i> subsp. <i>pneumophila</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium abscessus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium arosiense</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium asiaticum</i>	1,0E+05 CFU/ml*	<i>Streptococcus constellatus</i> subsp. <i>constellatus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>avium</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>equi</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>hominissuis</i>	1,0E+05 CFU/ml*	<i>Streptococcus mitis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>silvaticum</i>	1,0E+05 CFU/ml*	<i>Streptococcus mutans</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i>	1,0E+04 CFU/ml*	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium bouchedurhonense</i>	1,0E+04 CFU/ml*	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium celatum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium chelonae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium chimaera</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium chubuense</i>	1,0E+04 CFU/ml*	<i>Streptococcus uberis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium colombiense</i>	1,0E+05 CFU/ml*	<i>Streptomyces anulatus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium confluentis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Tsukamurella</i> spp.	1,0E+06 geq/ml
<i>Mycobacterium flavescens</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Varicella-zoster-virus</i>	1,0E+05 kopier/ml
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Veillonella atypica</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium fuerth</i>	1,0E+05 CFU/ml*	<i>Veillonella parvula</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium gastri</i>	1,0E+05 CFU/ml*	-	-

* Niveau, hvor der ikke er observeret interferens med detektionen af *M. tuberculosis*, også testet ved 1,0E+06 CFU/ml, hvilket viste interferens.

Interferens

Effekten af eksogene stoffer, der potentielt udskilles i luftvejsprøver, blev evalueret (Tabel 21). Hvert potentielt interfererende stof blev testet ved eller over klinisk relevante niveauer i konstruerede sputumprøver ved fravær og tilstedeværelse af mutant MTB-kompleks-target (tilsat ved 545 CFU/ml) og vildtype-MTB-kompleks-target (tilsat ved 200 CFU/ml).

Ingen af de testede stoffer interfererede med testens performance ved at generere falsk-negative eller falsk-positive resultater. Ingen af de testede stoffer interfererede med testens performance ved at generere invalide/ikke-rapporterbare resultater med undtagelse af Butterbur ved koncentrationsniveauer > 25 mg/ml.

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

Stof	Koncentration	Stof	Koncentration
Albuterolsulfat	0,5 µg/ml	Kanamycin-monosulfat	240 µg/ml
Amikacin	80,1 µg/ml	Levofloxacin	5 mg/ml
Amoxicillin	86,4 µg/ml	Lidocain HCl	1,2 % (w/v)
Beclometason	3.459 pg/ml	Mentol	0,50 % (w/v)
Benzocain	1,2 % (w/v)	Methylsalicylat	0,06 % (v/v)
Budesonid	3 mg/ml	Mometasone	100 µg/ml
Butterbur-ekstrakt	25 mg/ml*	Moxifloxacin	15 µg/ml
Capreomycin	80 µg/ml	Mupirocin	0,05 % (w/v)
Cetylpyridinklorid	0,5 % (w/v)	NaCl	5 % (w/v)
Klorhexidinglukonat	1 % (v/v)	Nikotin	1 µg/ml
Cicloserin (Cycloserine)	105 µg/ml	Nystatin	1 % (v/v)
Clarithromycin	20 µg/ml	Oxymetazolin	12 ng/ml
Dexamethason	601 ng/ml	Pentamidine	1.366 ng/ml
Efedrinhydroklorid	1 mg/ml	Fenylefrin	5 mg/ml
Adrenalin	100 pg/ml	Prednisolon	3 µg/ml
Ethambutol	50 µg/ml	Pyrazinamid	240 µg/ml
Ethionamide	15 µg/ml	Rifampicin	25 µg/ml
Eucalyptol	0,002 % (v/v)	Brændenældeekstrakt (500 mg)	5 mg/ml
Flunisolid	400 µg/ml	Streptomycin	240 µg/ml
Fluticasonpropionat	5 µg/ml	Svovl	0,01 % (w/v)
Formoterolfumaratdihydrat	66 µg/ml	Tetræsolie	0,50 % (v/v)
Guldsegl (kapsler med 570 mg)	5,7 mg/ml	Teofyllin	20 µg/ml
Guaifenesin	2,5 mg/ml	Tobramycin	24,1 µg/ml
Isoniazid	50 µg/ml	Zanamivir	0,1 mg/ml

* Højeste niveau, hvor der ikke blev observeret nogen interferens

Endogene stoffer, der kan være til stede i luftvejsprøver, blev testet for interferens (Tabel 22). Hvert potentielt interfererende stof blev testet ved eller over klinisk relevante niveauer i konstruerede sputumprøver ved fravær og tilstedeværelse af mutant MTB-kompleks-target (tilsat ved op til 545 CFU/ml) og vildtype-MTB-kompleks-target (tilsat ved 200 CFU/ml).

Ingen af de testede stoffer interfererede med testens performance ved at generere falsk-negative, falsk-positive eller invalide/ikke-rapporterbare resultater.

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

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

Systemfejlfrekvens

De prøver, der blev testet i systemfejlsundersøgelsen, var konstruerede sputum- og sputumsedimentprøver tilsat en stamme af mutant MTB-kompleks, der bærer den mest fremherskende mutation forbundet med Rifampicin-resistens (*rpoB*-genet) S531L og den mest fremherskende mutation forbundet med Isoniazid-resistens (*katG*-genet) S315T til en koncentration på ca. $3 \times \text{LoD}$ af cobas® MTB-RIF/INH i den pågældende matrix. Alle 100 testede replikater pr. prøvetype var valide og positive for MTB-komplekset, hvilket resulterede i en systemfejlfrekvens på 0,0 % med et øvre ensidet 95 % konfidensinterval på 3,0 %.

Krydskontaminering

Krydskontamineringsforholdet fra prøve til prøve blev bestemt til at være 0,0 % (0/240), når skiftevis meget høje positive vildtype-MTB-prøver og negative prøver blev testet i flere kørsler med cobas® MTB. Testen blev udført ved hjælp af konstruerede sputumsedimentprøver tilsat MTB-kompleks target ved 2×10^6 CFU/ml, en prøvekoncentraton, der genererer Ct-værdier tidligere end i 95 % af prøverne fra de inficerede patienter i den tiltænkte anvendelsespopulation.

Performance ved brug af kliniske prøver

Performance for cobas® MTB-RIF/INH ved brug af kliniske prøver blev evalueret ved at teste prospektivt indsamlede og arkiverede prøver (rå sputumprøver og NaOH-NALC-behandlede sputum-sedimenter) fra personer på mindst 18 år med præsumptiv TB indsamlet i Peru, Ukraine, Rusland, Sydafrika og Uganda. Der blev udført side om side-sammenligningstest med Abbott RealTime MTB RIF/INH-resistensanalysen.

Resultaterne vises i Tabel 23 og Tabel 24.

Tabel 23 Sensitiviteten og specificiteten af **cobas®** MTB-RIF/INH ved brug af kliniske prøver – RIF-resistens

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

Tabel 24 Sensitiviteten og specificiteten af **cobas®** MTB-RIF/INH ved brug af kliniske prøver – INH-resistens

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

Yderligere oplysninger

Vigtige analysefunktioner

Prøvetyper

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

Processeret prøvemængde

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

Symboler

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

Tabel 25 Symboler, der er anvendt på etiketter til Roche PCR-diagnostiske produkter

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

Teknisk support

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

Producent

Tabel 26 Producent

Produceret i USA



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

Fremstillet i USA

Varemærker og patenter

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

Copyright

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Referencer

1. Global tuberculosis report 2023. Geneva: World Health Organization; 2023. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
2. Sitthidet Tharinjaroen C, Intorasoot S, Anukool U, et al. Novel targeting of the *lepB* gene using PCR with confronting two-pair primers for simultaneous detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and *Mycobacterium bovis*. *J Med Microbiol*. 2016;65:36-43.
3. Alexander KA, Laver PN, Michel AL, et al. Novel *Mycobacterium tuberculosis* complex pathogen, *M. mungi*. *Emerg Infect Dis*. 2010;16:1296-9.
4. Novosad SA, Winthrop KL. Beyond tumor necrosis factor inhibition: the expanding pipeline of biologic therapies for inflammatory diseases and their associated infectious sequelae. *Clin Infect Dis*. 2014;58:1587-98.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *MMWR Recomm Rep*. 2000;49:1-51.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for use of an isoniazid-rifapentine regimen with direct observation to treat latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2011;60:1650-3.
7. Orenstein EW, Basu S, Shah NS, et al. Treatment outcomes among patients with multidrug-resistant tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2009;9:153-61.
8. Pai M, Schito M. Tuberculosis diagnostics in 2015: landscape, priorities, needs, and prospects. *J Infect Dis*. 2015;211 Suppl 2:S21-8.
9. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8.
10. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7.
11. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
12. Chosewood LC, Wilson DE, eds. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. US Department of Health and Human Services; 2009.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*. 4th ed. M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; 2014.
14. World Health Organization. *Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual*. WHO: Geneva, Switzerland; 2012.
15. Kent PT, Kubica GP. *Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory*. Centers for Disease Control: Atlanta, GA; 1985.

Dokumentrevision

Oplysninger om dokumentrevision	
Doc Rev. 2.0 05/2024	Retningslinjerne for biologisk sikkerhed er opdateret for tilpasning til lokale bestemmelser, grammatiske rettelser og WHO-oplysninger/-reference. Rx Only er fjernet fra forsiden. Siden med harmoniserede symboler er opdateret. "mindst 18 år" er flyttet fra Begrænsninger ved procedurene til Performance ved brug af kliniske prøver. cobas®-branding er opdateret. Erklæring vedrørende kompetent myndighed er opdateret. Kontakt den lokale Roche-repræsentant ved eventuelle spørgsmål.
Doc Rev. 3.0 12/2024	Tilføjet oplysninger om systemsoftwareversion 2.0 til cobas® 6800/8800-systemerne. Opdateret visning af eksempelresultater på cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 1.4 (figur 5). P/N'er for forbrugsartikler er fjernet, der henvises til detaljerede oplysninger om forbrugsartikler i brugerassistancen til cobas® 5800 og cobas® 6800/8800 systems. Kontakt den lokale Roche-repræsentant ved eventuelle spørgsmål.

Du kan finde rapporten med oversigten over sikkerhed og performance ved hjælp af følgende link:

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