

# **cobas<sup>®</sup> MTB**

---

## **Test kwasu nukleinowego do użytku z systemami cobas<sup>®</sup> 5800/6800/8800**

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

**cobas<sup>®</sup> MTB**

P/N: 09040579190

**Do użytku z systemem cobas<sup>®</sup> 5800:**

**cobas<sup>®</sup> MTB Positive Control Kit**

P/N: 09040587190

**cobas<sup>®</sup> Buffer Negative Control Kit**

P/N: 09051953190

**Do użytku z systemami cobas<sup>®</sup> 6800/8800:**

**cobas<sup>®</sup> MTB Positive Control Kit**

P/N: 07544812190 lub  
P/N: 09040587190

**cobas<sup>®</sup> Buffer Negative Control Kit**

P/N: 07002238190 lub  
P/N: 09051953190

# Spis treści

<b>Przeznaczenie</b> .....	<b>4</b>
<b>Podsumowanie oraz opis testu</b> .....	<b>4</b>
<b>Odczynniki i materiały</b> .....	<b>7</b>
Odczynniki i kontrole do testu <b>cobas</b> ® MTB .....	7
Odczynniki <b>cobas</b> ® <b>omni</b> do przygotowywania próbek.....	9
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników .....	10
Wymagania dotyczące użytkowania systemu <b>cobas</b> ® 5800 i systemów <b>cobas</b> ® 6800/8800.....	10
Materiały dodatkowe wymagane dla systemów <b>cobas</b> ® 5800/6800/8800.....	11
Wymagane urządzenia i oprogramowanie .....	13
<b>Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania</b> .....	<b>13</b>
Ostrzeżenia i środki ostrożności.....	13
Użytkowanie odczynników .....	14
Dobra praktyka laboratoryjna .....	15
<b>Pobieranie, transport i przechowywanie próbek</b> .....	<b>16</b>
Próbki.....	16
Transport i przechowywanie próbek.....	16
Przechowywanie próbek inaktywowanych.....	16
<b>Instrukcja obsługi</b> .....	<b>17</b>
Uwagi dotyczące wykonania testu .....	17
Przetwarzanie próbek surowej płwociny.....	20
Przetwarzanie próbek w postaci osadu z płwociny i osadu z popłuczyn oskrzelowo- pęcherzykowych (BAL) .....	20
Sonikacja próbek .....	21
Wykonanie testu <b>cobas</b> ® MTB w systemach <b>cobas</b> ® 5800/6800/8800 .....	22
<b>Wyniki</b> .....	<b>25</b>
Kontrola jakości i ważność wyników w systemie <b>cobas</b> ® 5800 oraz w systemach <b>cobas</b> ® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 2.0 lub nowszej .....	25

Kontrola jakości i ważność wyników w systemach <b>cobas</b> ® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 1.4.....	26
Interpretacja wyników w systemach <b>cobas</b> ® 5800/6800/8800 .....	26
Interpretacja wyników w przypadku systemu <b>cobas</b> ® 5800 oraz systemów <b>cobas</b> ® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 2.0 lub nowszej.....	26
Interpretacja wyników w systemach <b>cobas</b> ® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 1.4 .....	27
Ograniczenia metody.....	28
<b>Ocena wiarygodności.....</b>	<b>30</b>
Równoważność systemu.....	30
Kluczowe parametry wiarygodności testu .....	30
Inaktywacja próbek.....	30
Granica wykrywalności (LoD) .....	30
Inkluzywność.....	31
Precyzja .....	31
Swoistość analityczna / reaktywność krzyżowa .....	33
Substancje wpływające na wynik testu.....	36
Błąd całego systemu.....	37
Skażenie krzyżowe .....	37
Ocena skuteczności przy użyciu próbek klinicznych.....	37
<b>Dodatkowe informacje .....</b>	<b>40</b>
Najważniejsze cechy oznaczenia .....	40
Oznaczenia .....	41
Pomoc techniczna .....	42
Wytwórca .....	42
Znaki towarowe i patenty.....	42
Prawo autorskie .....	42
Piśmiennictwo .....	43
Wersja dokumentu.....	44

## Przeznaczenie

Test cobas® MTB do stosowania z systemami cobas® 5800/6800/8800 to zautomatyzowany, jakościowy test diagnostyczny *in vitro*, wykorzystujący reakcję łańcuchową polimerazy (PCR) w czasie rzeczywistym do bezpośredniego wykrywania DNA prątków należących do kompleksu *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) w próbkach pobranych z układu oddechowego ludzi, w tym próbkach naturalnej płwociny oraz przetrawionych i odkażonych (poddanych działaniu N-acetylo-L-cysteiny/NaOH [NALC-NaOH]) próbkach płwociny i próbkach popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL).

Test przeznaczony jest do stosowania z próbkami od pacjentów, u których występuje podejrzenie zakażenia prątkami *Mycobacterium tuberculosis* oraz niepoddanych leczeniu przeciwprątkowemu. Wyniki testu, analizowane w kontekście innych wyników laboratoryjnych oraz przedmiotowych i podmiotowych objawów klinicznych, mają za zadanie pomóc w diagnostyce gruźlicy płuc.

## Podsumowanie oraz opis testu

### Informacje podstawowe

Gruźlica jest zakażeniem bakteryjnym wywoływanym przez prątki należące do kompleksu MTBC. Stanowi poważny, globalny problem zdrowotny i należy do najczęstszych przyczyn zgonów z powodu chorób zakaźnych na świecie.<sup>1</sup> Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) szacuje, że około jedna czwarta światowej populacji jest zakażona prątkiem MTB przy szacowanej liczbie 10,6 milionów nowych przypadków gruźlicy oraz 1,3 miliona zgonów w 2022 r.<sup>1</sup> Według oszacowań 167 000 z 1,3 miliona wspomnianych zgonów dotyczyło osób zakażonych wirusem HIV / chorujących na AIDS (ang. *people living with AIDS*, PLWA).<sup>1</sup>

Kompleks *M. tuberculosis* stanowi grupę blisko spokrewnionych gatunków należących do rodzaju *Mycobacterium* wywołujących choroby u ludzi oraz zwierząt i obejmuje następujące gatunki: *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG (szczep Bacillus Calmette-Guérin), *M. africanum*, *M. canetti*, *M. microti*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. mungi*, *M. suricattae*, *M. orygis*, prątek góralka skalnego oraz prątek stwierdzany u szympanów. Zakażenie jakimkolwiek z patogenów należących do kompleksu MTB może wywoływać gruźlicę, jednak najczęstszą przyczyną choroby jest *M. tuberculosis*. Prątki należące do kompleksu MTB najczęściej wywołują chorobę płuc. Może występować pozapłucna postać choroby, ale relatywnie częściej występuje ona u dzieci. *M. bovis* powoduje gruźlicę nawet u 2,8% pacjentów w różnych obszarach geograficznych.<sup>2</sup> Prątki inne niż *M. bovis* i *M. tuberculosis*, a należące do kompleksu MTB, rzadziej wywołują choroby u ludzi. Prątki *M. tuberculosis* wykrywano u słoni, zarówno żyjących na wolności, jak i w niewoli.<sup>3</sup> Prątek *M. africanum* jest wiązany z występowaniem gruźlicy w krajach Afryki Zachodniej, *M. canetti* — na Półwyspie Somalijskim, natomiast *M. orygis* powoduje gruźlicę u ludzi i zwierząt w regionie od Afryki do Azji Południowej. Prątek *M. caprae* jest uważany za podgatunek *M. bovis*. Prątek *M. microti* wywołuje choroby głównie u gryzoni, *M. pinnipedii* jest związany z chorobą u fok, natomiast prątek *M. suricattae* wywołuje gruźlicę u surykatek w Republice Południowej Afryki. Prątek *M. mungi* zidentyfikowano jako przyczynę gruźlicy u mangust pręgowanych.<sup>4</sup>

Gruźlica jest chorobą przenoszoną w populacji ludzkiej drogą kropelkową. Większość osób zakażonych prątkiem *M. tuberculosis* nie wykazuje objawów chorobowych i po pierwotnym zakażeniu nie dochodzi u nich do rozwoju choroby. Jest to zjawisko znane jako utajone zakażenie prątkiem gruźlicy. Utajone zakażenia mogą utrzymywać się przez dekady i w większości przypadków nigdy nie prowadzą do rozwoju klinicznej postaci choroby. U niektórych osób dochodzi do pokonania mechanizmów obronnych, co powoduje przejście utajonego zakażenia prątkiem w aktywną gruźlicę. Dochodzi do tego zwykle w ciągu pierwszych dwóch lat zakażenia lub po długim okresie utajenia. Ogólnie ryzyko przejścia zakażenia utajonego w aktywną gruźlicę wynosi 5–10% u pacjentów z zakażeniem utajonym. Niemniej ryzyko jest różne i zależy od

wielu czynników, a także może ulec znacznemu zwiększeniu w wyniku immunosupresji np. w trakcie leczenia substancjami o takim działaniu<sup>5</sup> (tj. inhibitorami TNF) oraz w przypadku zakażenia wirusem HIV.<sup>6,7</sup> Osoby z postacią płucną aktywnej gruźlicy mogą wydalac kropelki oddechowe podczas kaszlu, mówienia oraz w trakcie procedur medycznych. Osoby z postacią płucną aktywnej choroby są uważane za wysoce zakaźne i wymagają przeprowadzenia koniecznej diagnostyki.

Diagnostyka w kierunku aktywnej gruźlicy jest prowadzona na podstawie wyników badań klinicznych/podejrzenia oraz na podstawie badań laboratoryjnych i radiologicznych. Pacjentów można poprosić o dostarczenie próbek z dróg oddechowych w celu wykonania rozmazów w kierunku bakterii kwasoopornych, hodowli prątków, a także w celu przeprowadzenia bezpośrednich testów amplifikacji kwasu nukleinowego. Niezbędne jest łączne prowadzenie hodowli prątków oraz badań kwasu nukleinowego w celu zmniejszenia ryzyka uzyskania wyników fałszywie ujemnych, a także w celu przeprowadzenia badań w kierunku lekowrażliwości prątków u pacjentów z wynikiem dodatnim.

Leczenie gruźlicy wymaga długotrwałego podawania różnych leków i zwykle jest skuteczne. Niemniej w przypadku prątków MTB opornych na jeden lek lub więcej leków wyleczenie jest trudniejsze. Leczenie gruźlicy lekoopornej lub wielolekoopornej (ang. *multidrug-resistant tuberculosis*, MDR-TB) jest złożone i wymaga podawania wielu działających toksycznie leków przez dłuższy czas w porównaniu do pacjentów z gruźlicą lekowrażliwą oraz istnieje mniejsze prawdopodobieństwo odniesienia sukcesu terapeutycznego.<sup>8</sup> Leczenie cięższych postaci wielolekoopornej gruźlicy, takich jak gruźlica o rozszerzonej oporności na leki (ang. *extensively drug-resistant tuberculosis*, XDR-TB), związane jest z uzyskiwaniem słabszych rezultatów leczenia niż w przypadku gruźlicy, w której prątki wykazują lekooporność typu MDR.<sup>1</sup>

Gruźlicę można zdiagnozować na podstawie występujących objawów klinicznych, wyników badań laboratoryjnych oraz radiologicznych, w tym rozmazów w kierunku kwasoopornych bakterii, hodowli prątków oraz testów amplifikacji kwasu nukleinowego. Badania, które określają poziom przeciwciał oraz odpowiedź na antygen, także mogą być przydatne (np. śródskórna próba tuberkulinowa, testy z pomiarem wydzielania interferonu gamma [INF $\gamma$ ] (IGRA)).<sup>2</sup> Niemniej śródskórna próba tuberkulinowa oraz testy IGRA mogą dawać wyniki ujemne w przypadku aktywnej postaci choroby oraz nie nadają się do rozróżniania zakażenia utajonego od aktywnej choroby. Ostateczną diagnozę należy potwierdzić, uzyskując w hodowli wzrost drobnoustrojów wywołujących zakażenie lub wykrywając bezpośrednio w próbce klinicznej kwas nukleinowy prątków należących do kompleksu MTB. Badanie lekowrażliwości (ang. *Drug Susceptibility Testing*, DST) jest wymagane do potwierdzenia prawidłowości terapii empirycznej, ale jest czasochłonne, a wyniki można uzyskać dopiero po kilku tygodniach zależnie od zastosowanej metody. Opcjonalnie, aby szybciej uzyskać wyniki, można zastosować metody molekularne i określić lekooporność powiązaną z markerami genetycznymi bezpośrednio w materiale z próbek klinicznych lub izolatów uzyskanych z hodowli. Z uwagi na wysoką zakaźność prątków MTB oraz zjawisko narastającej lekooporności szybka i precyzyjna diagnoza jest istotnym elementem leczenia i kontroli MTB.<sup>2</sup>

## Objaśnienie testu

Test **cobas**® MTB do stosowania z systemami **cobas**® 5800/6800/8800 to zautomatyzowany, jakościowy test PCR w czasie rzeczywistym przeznaczony do wykrywania DNA prątków należących do kompleksu MTB w próbkach pobranych z układu oddechowego ludzi, w tym próbkach surowej płwociny oraz przetrawionych i odkażonych próbkach płwociny oraz popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL) poddanych działaniu NALC-NaOH. Podczas przetwarzania w systemach **cobas**® 5800/6800/8800 do każdej próbki wprowadzana jest kontrola wewnętrzna DNA używana do monitorowania całego procesu przygotowywania próbki i amplifikacji PCR. Dodatkowo test wykorzystuje kontrolę o niskim mianie dodatnią i kontrolę ujemną.

## Zasady procedury

Do testu **cobas**® MTB wymagane jest przedanalizyczne upłynnienie próbki i inaktywacja prątków, po których następują sonikacja i całkowicie zautomatyzowane przygotowanie próbek (ekstrakcja i oczyszczanie kwasów nukleinowych) oraz amplifikacja i detekcja podczas reakcji PCR. Upłynnienie próbki i inaktywacja prątków zachodzą jednocześnie podczas inkubacji próbki z odczynnikiem **cobas**® Microbial Inactivation Solution (MIS). Sonikacja upłynnionej i inaktywowanej próbki jest przeprowadzana przed załadowaniem do systemów **cobas**® 5800/6800/8800. System **cobas**® 5800 zaprojektowano jako urządzenie zintegrowane. **cobas**® 6800/8800 składa się z modułu próbkowego, modułu transferu, modułu przetwarzania oraz modułu roboczego. Automatyczne przetwarzanie danych jest prowadzone przez oprogramowanie systemu **cobas**® 5800 lub **cobas**® 6800/8800, które przypisuje do wszystkich analiz wynik testu dodatni, ujemny lub nieważny. Wyniki można analizować bezpośrednio na ekranie systemu, można je eksportować lub wydrukować w postaci raportu.

Kwasy nukleinowe pochodzące z próbek pacjentów, kontrole zewnętrzne i dodane DNA kontroli wewnętrznej (DNA-IC) są izolowane równocześnie. Podsumowując, kwas nukleinowy bakterii jest uwalniany na drodze chemicznego (**cobas**® Microbial Inactivation Solution [MIS], **cobas**® **omni** Lysis Reagent), enzymatycznego (proteinaza) i fizycznego (sonikacja) działania niszczącego bakterie. Uwolniony kwas nukleinowy wiąże się z silikonową powierzchnią dodanych szklanych cząstek o właściwościach magnetycznych. Niezwiązane substancje i zanieczyszczenia, takie jak zdenaturowane białko, debris komórkowy i potencjalne inhibitory reakcji PCR usuwane są podczas kolejnych etapów płukania, a oczyszczony kwas nukleinowy jest następnie wmywany w podwyższonej temperaturze ze szklanych cząstek magnetycznych z użyciem buforu do elucji.

Wybiórczą amplifikację docelowego kwasu nukleinowego z próbki uzyskuje się poprzez zastosowanie swoistych dla testowanych prątków kompleksu MTB starterów przednich i wstecznych, które wybrano z wysoce konserwatywnych regionów docelowego drobnoustroju. Prątek MTB jest wykrywany przez dwa selektywne zestawy starterów oraz dwie sondy dla odrębnych regionów (podwójny cel, gen 16S rRNA oraz geny *esx*: *esxJ*, *esxK*, *esxM*, *esxP* i *esxW*). Sелеktywna amplifikacja kontroli wewnętrznej DNA uzyskiwana jest przy użyciu swoistych dla sekwencji starterów, przedniego i wstecznego, które wybierane są tak, aby nie wykazywały homologii z regionem docelowym bakterii z kompleksu MTB. Do amplifikacji metodą PCR wykorzystywana jest termostabilna polimeraza DNA. Sekwencje docelowa oraz DNA-IC są amplifikowane jednocześnie przy użyciu uniwersalnego profilu amplifikacji PCR ze wstępnie zdefiniowanymi etapami temperatury i liczby cykli. Odczynnik Master Mix zamiast trifosforanu deoksytymidyny (dTTP) zawiera trifosforan deoksyurydyny (dUTP), który wbudowywany jest do nowo syntetyzowanego DNA (amplikonu). Jakikolwiek zanieczyszczające amplikony z poprzednich cykli pracy PCR są usuwane w pierwszym etapie cyklu termicznego dzięki aktywności enzymu AmpErase, który znajduje się w mieszaninie Master Mix do reakcji PCR.<sup>9</sup> Jednak nowo powstałe amplikony nie są eliminowane, gdyż enzym AmpErase jest inaktywowany w temperaturze przekraczającej 55°C.

Mastermiks **cobas**® MTB zawiera dwie sondy detekcyjne swoiste dla badanych sekwencji prątków MTB oraz jedną sondę dla kontroli wewnętrznej DNA-IC. Swoiste dla testu sondy znakowane są za pomocą różnych, fluorescencyjnych barwników reporterowych umożliwiających jednoczesne wykrywanie docelowych sekwencji prątków kompleksu MTB oraz kontroli wewnętrznej DNA-IC w dwóch różnych kanałach detekcji.<sup>10, 11</sup> W przypadku niezwiązania z sekwencją docelową sygnał fluorescencyjny nienaruszonych sond jest tłumiony przez barwnik wygaszenia. Podczas etapu amplifikacji PCR hybrydyzacja sond do swoistych sekwencji jednoniciowej matrycy DNA skutkuje cięciem nici przez polimerazę DNA w wyniku jej aktywności egzonukleazy w kierunku od końca 5' do 3', co powoduje rozdzielanie barwników markerowego i wygaszenia oraz wygenerowanie sygnału fluorescencyjnego. Z każdym cyklem PCR generowana jest zwiększająca się liczba rozszczepionych sond i jednocześnie wzrasta sumaryczny sygnał barwnika markerowego. Wykrywanie i rozróżnianie w czasie rzeczywistym produktów PCR następuje za pomocą pomiaru fluorescencji uwolnionych barwników reporterowych reprezentujących docelowe sekwencje odpowiednio prątków kompleksu MTB i kontroli wewnętrznej DNA-IC.

# Odczynniki i materiały

## Odczynniki i kontrole do testu cobas® MTB

Materiały dostarczone dla testu cobas® MTB zawiera Tab. 1. Materiały wymagane, ale niedostarczone zawierają Tab. 2, Tab. 3, Tab. 4, Tab. 10 do Tab. 12.

Wszystkie nieotwarte odczynniki i kontrole należy przechowywać zgodnie z zaleceniami, które zawierają tabele od Tab. 1 do Tab. 4.

**Tab. 1** cobas® MTB

### cobas® MTB

Przechowywać w temperaturze 2–8°C

Kaseta na 384 testów (P/N 09040579190)

Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw
<b>Roztwór proteinazy (PASE)</b>	Bufor Tris, < 0,05% EDTA, chlorek wapnia, octan wapnia, 8% proteinazy, glicerol EUH210: Karta charakterystyki produktu dostępna na żądanie. EUH208: Zawiera subtylizynę z <i>Bacillus subtilis</i> . Może powodować wystąpienie reakcji alergicznej.	38 ml
<b>DNA kontroli wewnętrznej (DNA-IC)</b>	Bufor Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% konstrukt DNA innego niż MTB, 0,002% poly(rA) RNA (syntetycznego), < 0,1% azydku sodu	38 ml
<b>Bufor do elucji (EB)</b>	Bufor Tris, 0,2% metylo-4-hydroksybenzoesan	38 ml
<b>Odczynnik Master Mix 1 (MMX-R1)</b>	Octan magnezu, wodorotlenek potasu, < 0,1% azydku sodu	14,5 ml
<b>Odczynnik MTB Master Mix 2 (MTB MMX-R2)</b>	Bufor trycynowy, octan potasu, EDTA, glicerol, 18% dimetylosulfotlenku, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,1% Tween 20, < 0,1% azydku sodu, < 0,1% polimerazy DNA Z05, < 0,1% enzymu AmpErase (uracylo-N glikozylaza) (bakteryjnego), < 0,01% starterów przednich i wstecznych kontroli wewnętrznej, < 0,01% starterów wiodących i odwrotnych dla prątków MTB, < 0,01% znakowanych fluorescencyjnie sond oligonukleotydowych swoistych dla prątków z kompleksu MTB oraz kontroli wewnętrznej DNA, < 0,01% aptameru oligonukleotydowego	17,5 ml

**Tab. 2** cobas® MTB Positive Control Kit**cobas® MTB Positive Control Kit**

Przechowywać w 2–8°C

Do użytku z systemem cobas® 5800 oraz z systemami cobas® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 2.0 lub nowszej (P/N 09040587190)

Do użytku z systemami cobas® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 1.4 (P/N 07544812190 lub P/N 09040587190)

Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw
<b>Kontrola dodatnia MTB (MTB (+) C)</b>	Bufor Tris, < 0,05% azydku sodu, < 0,05% EDTA, 0,002% poly(rA), < 0,01% niezakaźnego DNA plazmidowego (bakteryjnego) zawierającego sekwencje genomowe prątków <i>M. tuberculosis</i>	16 ml (16 × 1 ml)

**Tab. 3** cobas® Buffer Negative Control Kit**cobas® Buffer Negative Control Kit**

Przechowywać w 2–8°C


Do użytku z systemem cobas® 5800 oraz z systemami cobas® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 2.0 lub nowszej (P/N 09051953190)

Do użytku z systemami cobas® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 1.4 (P/N 07002238190 lub P/N 09051953190)

Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw
<b>cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)</b>	Bufor Tris, < 0,1% azydku sodu, EDTA, 0,002% poly(rA) RNA (syntetycznego)	16 ml (16 × 1 ml)

## Odczynniki cobas® omni do przygotowywania próbek

Tab. 4 Odczynniki cobas® omni do przygotowywania próbek

Odczynniki	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie*
<b>cobas® omni MGP Reagent (MGP)</b> Przechowywać w 2–8°C (P/N 06997546190)	Szklane cząstki o właściwościach magnetycznych, bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesanu, < 0,1% azydku sodu	480 testów	Nie dotyczy
<b>cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL)</b> Przechowywać w 2–8°C (P/N 06997511190)	Bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesanu, < 0,1% azydku sodu	4 × 875 ml	Nie dotyczy
<b>cobas® omni Lysis Reagent (LYS)</b> Przechowywać w 2–8°C (P/N 06997538190)	43% (udział wagowy) tiocyjanian guanidyny**, 5% (udział wagowo-obj.) polidokanol**, 2% (udział wagowo-obj.) ditiotreitol**, dwuwodny cytrynian sodu	4 × 875 ml	 <p><b>NIEBEZPIECZEŃSTWO</b></p> <p>H302: Działa szkodliwie po połknięciu.  H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.  H411: Działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.  EUH032: W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy.  EUH071: Działa żrąco na drogi oddechowe.  P273: Unikać uwolnienia do środowiska.  P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy/ochronę słuchu.  P303 + P361 + P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): natychmiast zdjąć całą skażoną odzież. Splukać skórę pod strumieniem wody.  P304 + P340 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem.  P305 + P351 + P338 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem.  P391: Zebrać wyciek.  593-84-0 Tiocyjanian guanidyny  9002-92-0 Polidokanol  3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutano-2,3-diol</p>
<b>cobas® omni Wash Reagent (WASH)</b> Przechowywać w 15–30°C (P/N 06997503190)	Dwuwodny cytrynian sodu, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesan	4,2 l	Nie dotyczy

\* Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

\*\* Substancja lub mieszanina niebezpieczna.

## Wymagania dotyczące przechowywania odczynników

Odczynniki muszą być przechowywane i użytkowane w odpowiednich warunkach (patrz Tab. 5, Tab. 6 i Tab. 7).

Jeśli odczynniki nie zostały umieszczone w systemie cobas® 5800 ani w systemach cobas® 6800/8800, należy przechowywać je w odpowiedniej temperaturze, zgodnie z informacjami, które zawiera Tab. 5.

**Tab. 5** Przechowywanie odczynników (umieszczonych poza systemem)

Odczynnik	Temperatura przechowywania
cobas® MTB	2–8°C
cobas® MTB 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

## Wymagania dotyczące użytkowania systemu cobas® 5800 i systemów cobas® 6800/8800

Odczynniki umieszczone w systemie cobas® 5800 lub w systemach cobas® 6800/8800 są przechowywane w odpowiedniej temperaturze, a warunki dotyczące ich daty ważności są monitorowane i wymuszane przez system. System umożliwia wykorzystanie odczynników tylko w przypadku spełnienia wszystkich warunków postępowania z nimi, które podano w Tab. 6, Tab. 7 i Tab. 8. System automatycznie uniemożliwia wykorzystanie przeterminowanych odczynników.

Informacje na temat pozostałej stabilności otwartego zestawu oraz liczby użyc zestawu, dotyczące odczynników swoistych dla testu, są dostępne za pośrednictwem interfejsu użytkownika systemu.

**Tab. 6** Warunki dotyczące daty ważności odczynników monitorowane i wymuszane przez system cobas® 5800

Odczynnik	Stabilność otwartego zestawu	Liczba użyc zestawu	Stabilność na pokładzie aparatu
cobas® MTB	90 dni od pierwszego użycia	40	36 dni od umieszczenia w systemie
cobas® MTB Positive Control Kit	Jednorazowe użycie fiolki	16	36 dni od umieszczenia w systemie
cobas® Buffer Negative Control Kit	Jednorazowe użycie fiolki	16	36 dni od umieszczenia w systemie

**Tab. 7** Warunki dotyczące daty ważności odczynników monitorowane i wymuszane przez systemy cobas® 6800/8800

Odczynnik	Stabilność otwartego zestawu	Liczba użyc zestawu	Stabilność na pokładzie aparatu (poza chłodziarką aparatu)
cobas® MTB	90 dni od pierwszego użycia	40	40 godzin
cobas® MTB Positive Control Kit	Jednorazowe użycie fiolki	16	10 godzin
cobas® Buffer Negative Control Kit	Jednorazowe użycie fiolki	16	10 godzin

Tab. 8 przedstawia stabilność otwartego zestawu odczynników **cobas® omni**. Przed każdym cyklem pracy system weryfikuje stabilność otwartego zestawu i zapewnia wystarczającą objętość napełnienia. Z tego względu do tych odczynników nie ma przypisanej liczby użyc zestawu ani stabilności na pokładzie aparatu.

**Tab. 8** Warunki dotyczące daty ważności odczynników **cobas® omni** wymuszane przez systemy **cobas® 5800/6800/8800**

Odczynnik	Stabilność otwartego zestawu
<b>cobas® omni</b> Lysis Reagent	30 dni od umieszczenia w systemie
<b>cobas® omni</b> MGP Reagent	30 dni od pierwszego użycia
<b>cobas® omni</b> Specimen Diluent	30 dni od umieszczenia w systemie
<b>cobas® omni</b> Wash Reagent	30 dni od umieszczenia w systemie

## Materiały dodatkowe wymagane dla systemów **cobas® 5800/6800/8800**

**Tab. 9** Materiały do użytku z systemami **cobas® 5800/6800/8800**

Materiał	P/N
<b>cobas® omni</b> Lysis Reagent	06997538190
<b>cobas® omni</b> MGP Reagent	06997546190
<b>cobas® omni</b> Specimen Diluent	06997511190
<b>cobas® omni</b> Wash Reagent	06997503190

**Tab. 10** Materiały zużywalne do użytku z systemem **cobas® 5800\***

<b>Materiał</b>
<b>cobas® omni</b> Processing Plate 24
<b>cobas® omni</b> Amplification Plate 24
<b>cobas® omni</b> Liquid Waste Plate 24
<b>cobas® omni</b> Liquid Waste Container
Końcówki CORE TIPS z filtrem, 1 ml
Końcówki CORE TIPS z filtrem, 300 µl
Torba na odpady stałe* lub torba na odpady stałe z wkładką
Kompletny 16-pozycyjny nośnik S probówek
Nośnik statywów 5-pozycyjnych

\* Numery części podano w Asystencie użytkownika systemu **cobas® 5800**.

**Tab. 11** Materiały zużywalne do użytku z systemami **cobas®** 6800/8800\*

<b>Material</b>
<b>cobas® omni</b> Processing Plate
<b>cobas® omni</b> Amplification Plate
<b>cobas® omni</b> Pipette Tips
<b>cobas® omni</b> Liquid Waste Container
Torba na odpady stałe i pojemnik na odpady stałe lub torba na odpady stałe z wkładką i szuflada na zestawy
STD-Rack. re-run R001-R025 RÓŻOWY

\* Numery części podano w Asystencie użytkownika systemów **cobas®** 6800/8800.

**Tab. 12** Inne materiały i materiały eksploatacyjne wymagane do przedanalizycznego przebiegu pracy

<b>Materiały</b>
<b>cobas®</b> Microbial Inactivation Solution (P/N 08185476001)
Sonikator do próbek TS 5 (Rinco Ultrasonics AG — P/N 46690)
Polipropylenowe, zakręcane próbki 5 ml, 75 × 13 mm, z okrągłym dnem (Sarstedt — próbka P/N 60.504.010, nakrętka P/N 65.163)*
Jasnozielony statyw MPA RACK 13 MM LIGHT GREEN 7001-7050 (Roche — P/N 03118878001 lub odpowiednik)**
Wirówka (z opcją ograniczenia względnej siły odśrodkowej, RCF, do maks. 3000 × g, zgodna z zakręcanymi próbkami 75 × 13 mm)
Mieszadło wiracyjne (vortex)
Odporne na działanie temperatury etykiety z kodem kreskowym (OPAL Associates AG, P/N 20300824 TTR PE-Folie Pharma lub odpowiednik)***

\* Użycie próbek innych od zalecanych powyżej musi zostać zweryfikowane przez użytkownika przed wprowadzeniem do procedury testu **cobas®** MTB w laboratorium.

\*\* Do użycia sonikatora do próbek TS 5 wymagane są statywy MPA 13 mm. Aby uzyskać szczegółową listę do zamawiania odpowiedników ramek na próbki w innych kolorach lub o innych zakresach numerów, należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem Roche. Należy zauważyć, że statywy RD5 nie są zgodne z sonikatorem do próbek TS 5.

\*\*\* W celu uzyskania dalszych informacji na temat specyfikacji kodu kreskowego należy zapoznać się z Asystentem użytkownika systemów **cobas®** 5800/6800/8800. Użycie etykiet z kodem kreskowym innych od zalecanych powyżej musi zostać zweryfikowane przez użytkownika przed wprowadzeniem do procedury testu **cobas®** MTB w laboratorium. W celu uzyskania dalszych informacji na temat zgodnych etykiet z kodem kreskowym i sugestii dotyczących weryfikacji zgodności należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem Roche. Stosowanie niezgodnych etykiet z kodem kreskowym może prowadzić do uszkodzenia próbki podczas sonikacji i wynikającego z niego skażenia urządzenia.

## Wymagane urządzenia i oprogramowanie

Konieczne jest zainstalowanie oprogramowania **cobas® 5800** lub oprogramowania systemów **cobas® 6800/8800** oraz pakietu analitycznego **cobas® MTB** do systemów **cobas® 5800/6800/8800**.

W przypadku oprogramowania systemu **cobas® 5800** i systemów **cobas® 6800/8800** w wersji 2.0 lub nowszej z systemem dostarczane są oprogramowanie x800 Data Manager oraz komputer (serwer).

W przypadku systemów **cobas® 6800/8800** z oprogramowaniem w wersji 1.4 z systemami dostarczany jest serwer Instrument Gateway (IG).

**Tab. 13** Urządzenia

Wyposażenie	P/N
System <b>cobas® 5800</b>	08707464001
System <b>cobas® 6800</b>	05524245001 i 09575154001
System <b>cobas® 8800</b>	05412722001 i 09575154001
Moduł próbkowy dla systemów <b>cobas® 6800/8800</b>	06301037001 i 09936882001

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z asystentem użytkownika systemu **cobas® 5800** lub systemów **cobas® 6800/8800**.

## Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania

### Ostrzeżenia i środki ostrożności

Podobnie jak w przypadku każdej procedury testowej, dla prawidłowego przeprowadzenia badania kluczowe znaczenie ma zachowanie zasad dobrej praktyki laboratoryjnej. Z uwagi na wysoką czułość niniejszego testu podczas użytkowania odczynników oraz mieszanin do amplifikacji należy zachować szczególną ostrożność, aby zapobiec skażeniu.

- Do stosowania wyłącznie w diagnostyce *in vitro*.
- Wszystkie próbki pacjentów należy traktować jako materiał potencjalnie zakaźny. Dlatego ze wszystkimi próbkami biologicznymi należy obchodzić się tak jak z materiałem zakaźnym, stosując procedury dobrej praktyki laboratoryjnej i odpowiednią ocenę ryzyka, takie jak określono w dokumentach Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CLSI Document M29-A4 oraz Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual wydanym przez WHO.<sup>12-14</sup> Procedurę tę powinny wykonywać wyłącznie personel przeszkolony w pracy z materiałami zakaźnymi oraz w stosowaniu testu **cobas® MTB** i systemów **cobas® 5800/6800/8800**.
- Cały personel winien nosić osobisty sprzęt ochronny, w tym fartuchy laboratoryjne, rękawice jednorazowe oraz ochronę oczu i dróg oddechowych zgodnie z praktykami i procedurami bezpieczeństwa obowiązującymi w danej instytucji, a ponadto przestrzegać procedur bezpieczeństwa obowiązujących w tej instytucji podczas pracy z chemikaliami i próbkami biologicznymi.
- Każde laboratorium musi, na podstawie stosownej oceny ryzyka, określić niezbędne etapy postępowania z próbkami przed inaktywacją za pomocą odczynnika MIS i po niej, jak również przestrzegać, na podstawie stosownej oceny ryzyka, zalecanych przepisów dotyczących bezpieczeństwa biologicznego oraz wytycznych lub przepisów miejscowych i obowiązujących w danej placówce.<sup>14</sup>

- Skuteczna inaktywacja prątków gruźlicy zależy od przestrzegania procedur opisanych w niniejszym dokumencie oraz od całkowitego wymieszania próbki z odczynnikiem MIS. Upłynnianie próbek oraz inaktywację prątków przez MIS należy przeprowadzać zgodnie z wytycznymi lub przepisami miejscowymi i obowiązującymi w danej instytucji oraz w oparciu o stosowną ocenę ryzyka.
- Wszystkie materiały pochodzenia ludzkiego należy uważać za potencjalnie zakaźne i postępować z nimi z zastosowaniem ogólnych środków ostrożności. W przypadku rozlania materiału należy natychmiast odkazić świeżo przygotowanym 0,5% roztworem podchlorynu sodu lub potasu w destylowanej lub dejonizowanej wodzie lub postępować zgodnie z procedurami przyjętymi w danym ośrodku.
- **W przypadku rozlania próbek w odczynniku MIS (który zawiera tiocyjanian guanidyny) nie wolno dopuścić do ich zetknięcia się z podchlorynem sodu lub potasu. Połączenie to może skutkować wytworzeniem silnie trującego gazu.** Jeśli dojdzie do rozlania próbek w odczynniku MIS, NAJPIERW należy wyczyścić powierzchnię odpowiednim detergentem laboratoryjnym i wodą, a następnie przetrzeć ją 70% etanolem.
- Odczynnik MIS jest wrażliwy na światło i wysyłany w butelkach chroniących przed światłem. MIS przechowywać w pozycji pionowej.
- W celu zagwarantowania określonego działania testu należy stosować wyłącznie dostarczone lub wymienione potrzebne materiały eksploatacyjne.
- Ścisłe przestrzegać podanych procedur i wytycznych w celu zapewnienia prawidłowego wykonania testu. Wszelkie odchylenia od procedur i wytycznych mogą mieć wpływ na ustaloną skuteczność testu.
- Jeśli w trakcie pracy z próbkami i podczas ich przetwarzania nie stosuje się odpowiedniej kontroli skażenia wskutek przeniesienia pomiędzy próbkami, może dojść do uzyskania wyników fałszywie dodatnich.
- Karty charakterystyki produktu są dostępne na żądanie u lokalnego przedstawiciela Roche.
- Należy poinformować lokalny właściwy organ oraz producenta o wszelkich poważnych zdarzeniach, które mogą wystąpić podczas stosowania tego testu.

## Użytkowanie odczynników

- Aby uniknąć przeniesienia pomiędzy próbkami, odczynnikami lub kontrolami, z wszystkimi odczynnikami, kontrolami i próbkami należy postępować zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej.
- Przed użyciem należy ocenić wzrokowo każdą kasetę odczynnikową, rozcieńczalnik, odczynnik lizujący i odczynnik do mycia, aby upewnić się, że nie ma jakiegokolwiek wycieku. W razie wystąpienia wycieku nie wolno używać tego materiału do badania.
- Odczynniki **cobas® omni** Lysis Reagent i MIS zawierają tiocyjanian guanidyny, który jest potencjalnie niebezpieczną substancją chemiczną. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia.
- Nie wolno dopuszczać do kontaktu odczynnika **cobas® omni** Lysis Reagent lub MIS, zawierającego tiocyjanian guanidyny, z roztworem podchlorynu sodu lub potasu. Połączenie to może skutkować wytworzeniem silnie trującego gazu.
- Zużyte zestawy kontroli zawierają przekłute fiolki z pozostałościami odczynnika, należy zachować szczególną ostrożność podczas utylizacji, aby uniknąć rozlania i kontaktu.

- Zestawy testu **cobas®** MTB, kontroli dodatniej **cobas®** MTB Positive Control Kit, kontroli ujemnej **cobas®** Buffer Negative Control Kit, odczynnik **cobas®** **omni** MGP Reagent oraz rozcieńczalnika **cobas®** **omni** Specimen Diluent zawierają azydek sodu jako substancję konserwującą. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia. Jeżeli dojdzie do rozlania wymienionych odczynników, przed wytarciem należy rozcieńczyć je wodą.
- Wszystkie materiały, które przypadkowo weszły w kontakt z próbkami i odczynnikami, należy utylizować zgodnie z przepisami krajowymi i lokalnymi.

## Dobra praktyka laboratoryjna

- Nie należy pipetować za pomocą ust.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić tytoniu w obszarach roboczych.
- Wszystkie próbki biologiczne, w tym próbki poddane działaniu odczynnika MIS, należy traktować jako mogące przenosić czynniki zakaźne zgodnie z wytycznymi lub przepisami lokalnymi lub obowiązującymi w danej placówce i/lub w oparciu o stosowną ocenę ryzyka.<sup>14</sup> Podczas pracy z próbkami i odczynnikami należy nosić rękawiczki laboratoryjne, fartuch laboratoryjny oraz indywidualne środki ochrony oczu i dróg oddechowych zgodnie z wytycznymi obowiązującymi w placówce. Podczas pracy z próbkami i kontrolami należy unikać zanieczyszczenia rękawiczek. W celu uniknięcia zanieczyszczenia należy zmieniać rękawiczki pomiędzy obchodzeniem się z próbkami i użytkowaniem testów **cobas®** MTB, zestawu kontroli dodatniej **cobas®** MTB Positive Control Kit, buforu kontroli ujemnej **cobas®** Buffer Negative Control Kit oraz odczynników **cobas®** **omni**.
- Po zakończeniu pracy z próbkami i odczynnikami, a także po zdjęciu rękawic, należy dokładnie zdezynfekować i umyć ręce.
- Dokładnie oczyścić i odkazić wszystkie laboratoryjne powierzchnie robocze świeżo przygotowanym roztworem 0,5% podchlorynu sodu lub potasu w wodzie destylowanej lub dejonizowanej. Następnie przetrzeć powierzchnię 70% etanolem.
- Jeśli dojdzie do rozlania płynu na powierzchnie aparatów **cobas®** 5800/6800/8800, należy postępować zgodnie z instrukcjami zamieszczonymi w asystencie użytkownika systemów **cobas®** 5800 lub **cobas®** 6800/8800 w celu prawidłowego wyczyszczenia i odkażenia powierzchni tych urządzeń.

# Pobieranie, transport i przechowywanie próbek

**Uwaga:** ze wszystkimi próbkami należy obchodzić się jak z materiałem potencjalnie zakaźnym.

## Próbki

Z testem cobas® MTB można używać próbek surowej płwociny oraz poddanych działaniu NALC-NaOH próbek płwociny i popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL).

## Transport i przechowywanie próbek

Próbki surowej płwociny można przechowywać i/lub transportować przez maks. 3 dni w temperaturze od 2°C do 35°C, a następnie przez maks. 7 dni w temperaturze od 2°C do 8°C przed upłynięciem i inaktywacją próbki w MIS.

W celu długoterminowego przechowywania próbek surowej płwociny niepoddanej działaniu MIS zaleca się stosować temperatury  $\leq -20^{\circ}\text{C}$ .

Próbki w postaci osadu z płwociny i osadu z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL) poddane działaniu NALC-NaOH można przechowywać przez maks. 7 dni w temperaturze od 2°C do 8°C przed inaktywacją próbki w odczynniku MIS. Niepoddane działaniu odczynnika MIS próbki w postaci osadu z płwociny i osadu z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL) można przechowywać długoterminowo w stanie zamrożonym w temperaturze  $\leq -20^{\circ}\text{C}$  przez maks. 9 miesięcy, wliczając dwa cykle zamrażania/rozmarzania.

Jeśli próbki mają być przesyłane, należy je opakować i oznaczyć zgodnie z odpowiednimi krajowymi i/lub międzynarodowymi przepisami dotyczącymi transportu próbek i czynników zakaźnych.

## Przechowywanie próbek inaktywowanych

Próbki surowej płwociny oraz osadu z płwociny i osadu z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL) poddanych działaniu NALC-NaOH poddane działaniu odczynnika MIS (inaktywowane) można przechowywać przez maks. 12 godzin w temperaturze od 15°C do 35°C, przez maks. 7 dni w temperaturze od 2°C do 8°C i przez 30 dni w temperaturze  $\leq -20^{\circ}\text{C}$ , wliczając dwa cykle zamrażania/rozmarzania przed przetworzeniem w systemach cobas® 5800/6800/8800.

**Uwaga:** próbki poddane działaniu MIS mogą się nie zamrażać ze względu na wysoką zawartość izopropanolu.

**Uwaga:** sonikację próbek można przeprowadzić w dowolnym czasie po początkowej inkubacji z odczynnikiem MIS przez co najmniej 60 minut. Więcej informacji na ten temat zawiera część „Sonikacja próbek”.

# Instrukcja obsługi

## Uwagi dotyczące wykonania testu











- Nie należy używać odczynników testu **cobas® MTB**, **cobas® MTB Positive Control Kit**, **cobas® Buffer Negative Control Kit**, **MIS** i odczynników **cobas® omni** po upływie ich daty ważności.
- Nie wykorzystywać ponownie materiałów zużywalnych. Są one przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku.
- Test **cobas® MTB** można przeprowadzić przy użyciu minimalnej objętości próbki 1,2 ml, z której 850 µl jest przetwarzanych.
- Upewnić się, że odporne na działanie temperatury etykiety z kodem kreskowym na próbkach na próbki są skierowane do otwartych od góry szczelin z boku ramek na próbki MPA i widoczne przez te szczeliny. Patrz Rys. 1 oraz Asystent użytkownika systemów **cobas® 5800/6800/8800**, aby zapoznać się z odpowiednimi specyfikacjami kodów kreskowych oraz dodatkowymi informacjami dotyczącymi ładowania próbek na próbki.
- Po sonikacji, a przed załadowaniem do systemu **cobas® 5800/6800/8800**, należy się upewnić, że próbki na próbki są otwarte.
- Informacje na temat właściwej konserwacji aparatów, patrz asystent użytkownika systemów **cobas® 5800/6800/8800**.

Przed przebiegiem testu **cobas® MTB** w systemach **cobas® 5800/6800/8800** próbki należy przetworzyć zgodnie z informacjami podanymi w częściach: „Przetwarzanie próbek surowej płwociny” lub „Przetwarzanie przetrawionych i odkażonych próbek płwociny i popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL)” oraz „Sonikacja próbek”. Podsumowanie skróconych, reprezentatywnych przebiegów pracy zawierają Tab. 14 w przypadku próbek surowej płwociny oraz Tab. 15 w przypadku próbek w postaci osadu. Dalsze informacje podano w kolejnych częściach.











**Uwaga:** postępowanie z próbkami przed inaktywacją za pomocą odczynnika **cobas® MIS** i po niej powinno być zgodne z wytycznymi lub przepisami miejscowymi i obowiązującymi w danej placówce i/lub oparte na stosownej ocenie ryzyka.<sup>14</sup>

**Uwaga:** sonikację próbek poddanych działaniu odczynnika **MIS** należy przeprowadzać zgodnie z wytycznymi lub przepisami miejscowymi i obowiązującymi w danej placówce oraz w oparciu o stosowną ocenę ryzyka.<sup>14</sup>

Tab. 14 Przegląd procedury — próbka surowej płwociny

1				Dodać 2 części odczynnika MIS na 1 część surowej płwociny
2		30–60 sekund		Energicznie wytrząsać lub mieszać na mieszadło wibracyjnym przez 30–60 sekund
3		≥ 60 minut		Inkubować próbkę przez co najmniej 60 minut w temperaturze 15–30°C (temperaturze pokojowej)
4		30–60 sekund		Energicznie wytrząsać lub mieszać na mieszadło wibracyjnym przez 30–60 sekund
5		1,2 ml na 1 test 2,4 ml na 2 testy 3,6 ml na 3 testy		Przenieść od 1,2 do 3,6 ml próbki poddanej działaniu MIS do zakręcanej probówki wtórnej
6		5 minut		Przeprowadzić sonikację próbki poddanej działaniu odczynnika MIS
7		Maks. 1 minuta		Wirować próbkę nie dłużej niż przez 1 minutę z maksymalną siłą odśrodkową (RCF) 3000 × g
8				Załadować otwartą probówkę z próbką do systemu <b>cobas</b> ® 5800 lub <b>cobas</b> ® 6800/8800 i uruchomić cykl pracy z użyciem próbki surowej płwociny

Tab. 15 Przegląd procedury — próbka w postaci osadu

1		0,2 ml na 1 test 0,4 ml na 2 testy 0,6 ml na 3 testy	Wymieszać mieszadłem wibracyjnym i przenieść od 0,2 do 0,6 ml próbki w postaci osadu do zakręcannej probówki wtórnej
2	  		<p>Dodać 5 części odczynnika MIS na 1 część próbki w postaci osadu</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 ml odczynnika MIS na 1 test (0,2 ml próbki w postaci osadu)</li> <li>• 2 ml odczynnika MIS na 2 testy (0,4 ml próbki w postaci osadu)</li> <li>• 3 ml odczynnika MIS na 3 testy (0,6 ml próbki w postaci osadu)</li> </ul>
3		30–60 sekund	Energicznie wytrząsać lub mieszać na mieszadle wibracyjnym przez 30–60 sekund
4		≥ 60 minut	Inkubować próbkę przez co najmniej 60 minut w temperaturze 15–30°C (temperaturze pokojowej)
5		30–60 sekund	Energicznie wytrząsać lub mieszać na mieszadle wibracyjnym przez 30–60 sekund
6		5 minut	Przeprowadzić sonikację próbki poddanej działaniu odczynnika MIS
7		Maks. 1 minuta	Wirować próbkę nie dłużej niż przez 1 minutę z maksymalną siłą odśrodkową (RCF) 3000 × g
8			Załadować otwartą probówkę z próbką do systemu cobas® 5800 lub cobas® 6800/8800 i uruchomić cykl pracy z użyciem próbki w postaci osadu

## Przetwarzanie próbek surowej płwociny

- Upewnić się, że pojemnik z surową płwociną jest prawidłowo oznakowany i zawiera co najmniej 0,4 ml płwociny. Jeśli próbka była przechowywana w stanie zamrożonym, rozmrozić ją i odczekać, aż osiągnie temperaturę otoczenia.
- Przed użyciem odwrócić butelki z MIS od dwóch do czterech razy.
- Otworzyć pojemnik z płwociną i dodać około dwie części odczynnika MIS do jednej części próbki płwociny (np. 2 ml odczynnika MIS do 1 ml próbki płwociny), szacując wzrokowo objętość i używając jednorazowej pipety. Zamknąć szczelnie pojemnik z płwociną.
- Zamykać butelki z MIS natychmiast po użyciu.
- Energicznie wytrząsać lub mieszać na mieszadle wibracyjnym przez 30–60 sekund.

**Uwaga:** należy się upewnić, że cała próbka płwociny została wymieszana z odczynnikiem MIS.

- Inkubować próbkę przez co najmniej 60 minut w temperaturze 15–30°C (temperaturze pokojowej).

**Uwaga:** dopuszczalne warunki przechowywania opisano w części „Przechowywanie inaktywowanej próbki”.

- Energicznie wytrząsać lub mieszać na mieszadle wibracyjnym przez 30–60 sekund lub do czasu, gdy próbka będzie całkowicie jednorodna.
- Przenieść co najmniej 1,2 ml, ale nie więcej niż 3,6 ml próbki płwociny poddanej działaniu odczynnika MIS do oznakowanej odporną na działanie temperatury etykietą z kodem kreskowym polipropylenowej, zakręcanej probówki 5 ml, 75 × 13 mm, z okrągłym dnem (Sarstedt — probówka P/N 60.504.010, nakrętka P/N 65.163). Dokładnie zamknąć probówkę.

**Uwaga:** przed przeniesieniem próbki należy się upewnić, że informacje na etykiecie z kodem kreskowym na pojemniku z płwociną i na probówce wtórnej 5 ml są zgodne.

**Uwaga:** Patrz Tab. 16.

- Przeprowadzić sonikację inaktywowanej próbki zgodnie z informacjami w części „Sonikacja próbki” przed przebiegiem testu cobas® MTB.

## Przetwarzanie próbek w postaci osadu z płwociny i osadu z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL)

- Upewnić się, że pojemnik z poddaną działaniu NALC-NaOH próbką w postaci osadu z płwociny lub osadu z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL) jest prawidłowo oznakowany i zawiera co najmniej 0,2 ml próbki. Jeśli próbka była przechowywana w stanie zamrożonym, rozmrozić ją i odczekać, aż osiągnie temperaturę otoczenia.
- Mieszać próbkę w postaci osadu na mieszadle wibracyjnym przez co najmniej 10 sekund.
- Przenieść co najmniej 0,2 ml, ale nie więcej niż 0,6 ml próbki w postaci osadu do oznakowanej etykietą z kodem kreskowym polipropylenowej, zakręcanej probówki 5 ml, 75 × 13 mm, z okrągłym dnem (Sarstedt — probówka P/N 60.504.010, nakrętka P/N 65.163).

**Uwaga:** przed przeniesieniem próbki należy się upewnić, że informacje na etykiecie z kodem kreskowym na pojemniku z próbką i na probówce wtórnej 5 ml są zgodne.

- Przed użyciem odwrócić butelki z MIS od dwóch do czterech razy.
- Dodać pięć części odczynnika MIS do jednej części próbki (np. 1 ml odczynnika MIS do 0,2 ml próbki). Zamknij szczelnie probówkę.

**Uwaga:** Patrz Tab. 16.

- Zamykać butelki z MIS natychmiast po użyciu.
- Energicznie wytrząsać lub mieszać na mieszadle wibracyjnym przez 30–60 sekund.

**Uwaga:** należy się upewnić, że cała próbka została wymieszana z odczynnikiem MIS.

- Inkubować próbkę przez co najmniej 60 minut w temperaturze 15–30°C (temperaturze pokojowej).

**Uwaga:** dopuszczalne warunki przechowywania opisano w części „Przechowywanie inaktywowanej próbki”.

- Energicznie wytrząsać lub mieszać na mieszadle wibracyjnym przez 30–60 sekund.
- Przeprowadzić sonikację inaktywowanej próbki zgodnie z informacjami w części „Sonikacja próbki” przed przebiegiem testu cobas® MTB.

**Tab. 16** Wymagania dotyczące objętości próbki poddanej działaniu odczynnika cobas® Microbial Inactivation Solution na potrzeby przebiegu testu cobas® MTB

Liczba testów do wykonania z próbki wtórnej	Minimalna wymagana objętość próbki poddanej działaniu odczynnika MIS	Maksymalna dopuszczalna objętość próbki poddanej działaniu odczynnika MIS
Zlecenie 1 testu	1,2 ml	3,6 ml
Zlecenie 2 testów*	2,4 ml	3,6 ml
Zlecenie 3 testów*	3,6 ml	3,6 ml

\* Można używać do przetwarzania w serii mieszanej z innymi testami cobas® 5800/6800/8800 z zastosowaniem tego samego typu próbki lub do powtórzeń testów.

## Sonikacja próbek

- Sonikację próbek na potrzeby przebiegu testu cobas® MTB należy przeprowadzać przy użyciu sonikatora do probówek TS 5 firmy Rinco Ultrasonics AG (P/N 46690). Stosowanie innych urządzeń do sonikacji może prowadzić do uzyskania wyników fałszywie dodatnich, fałszywie ujemnych i/lub nieważnych. Obsługę urządzenia opisano szczegółowo w przewodniku użytkownika wydanym przez producenta.
- Umieścić w statywie MPA pięć oznakowanych etykietami z kodem kreskowym, zamkniętych nakrętką probówek zawierających od 1,2 ml do 3,6 ml próbki poddanej działaniu odczynnika MIS.

**Uwaga:** upewnić się, że odporne na działanie temperatury etykiety z kodem kreskowym na probówkach na próbki są skierowane do otwartych od góry szczelin z boku ramek na próbki MPA i widoczne przez te szczeliny (patrz Rys. 1).

**Uwaga:** upewnić się, że na każdej probówce znajduje się jedna etykieta z kodem kreskowym.

**Uwaga:** upewnić się, że zajętych jest wszystkich pięć miejsc na próbki w statywie MPA. Jeśli dostępnych jest mniej niż pięć probówek zawierających próbkę poddaną działaniu odczynnika MIS, w pozostałych pozycjach należy umieścić zastępcze, wypełnione wodą lub odczynnikiem MIS probówki tego samego typu z etykietą z kodem kreskowym.

**Rys. 1** Prawidłowe umieszczenie probówek na próbki w statywie MPA przed sonikacją



- Uruchomić sonikator do probówek.
- Wybrać zdefiniowany wstępnie profil sonikacji Respiratory Samples (Próbki z dróg oddechowych).
- Otworzyć sonikator do probówek i włożyć statyw MPA zgodnie z instrukcjami producenta.
- Zamknąć sonikator do probówek.
- Uruchomić cykl pracy sonikacji.
- Upewnić się, że cykl pracy sonikacji zakończył się powodzeniem, a następnie wyjąć statyw MPA.
  - Uwaga:** przewiduje się, że w trakcie cyklu pracy sonikacji probówki na próbki się nagrzeją. Wyjmując statyw MPA z probówkami na próbki, należy zachować ostrożność.
  - Uwaga:** w razie niepowodzenia sonikacji należy zapoznać się z instrukcjami producenta, skorygować przyczynę i powtórzyć przebieg sonikacji, odczekawszy uprzednio co najmniej 15 minut, aż próbki ostygną.
- Próbki poddane działaniu odczynnika MIS i sonikacji można następnie przeanalizować w teście cobas® MTB lub przechowywać zgodnie z informacjami w części „Przechowywanie inaktywowanych próbek”.

## Wykonanie testu cobas® MTB w systemach cobas® 5800/6800/8800

- Obsługę aparatów opisano szczegółowo w Asystencie użytkownika systemu cobas® 5800 lub systemów cobas® 6800/8800.
- Instrukcje dotyczące prawidłowej konserwacji aparatów zawiera Asystencie użytkownika systemu cobas® 5800 lub systemów cobas® 6800/8800.
- Przed otwarciem probówek i załadowaniem próbek do systemu cobas® 5800 zaleca się oddzielić pozostałości komórek i macierzy, odwirowując próbkę przez maksymalnie 1 minutę z maksymalną siłą odśrodkową (RCF) 3000 × g.
- Jeden cykl pracy może obejmować różne materiały próbki (surowa płwocina, próbki w postaci osadu).
- Upewnić się, że etykiety z kodami kreskowymi na probówkach są widoczne przez otwory z boku statywu próbkowego RD5 lub MPA. Specyfikacje kodów kreskowych oraz dodatkowe informacje dotyczące ładowania probówek próbkowych zawiera Asystencie użytkownika systemu cobas® 5800 lub systemów cobas® 6800/8800.

**Uwaga:** jeśli próbki były przechowywane przez ponad 1 godzinę po sonikacji a przed wirowaniem, należy je mieszać na mieszadle wirowym przez co najmniej 10 sekund.

**Uwaga:** pominięcie etapu wirowania może spowodować zwiększenie występowania skrzepów próbki w systemie cobas® 5800.

**Rys. 2** Procedura testu cobas® MTB w systemie cobas® 5800

<b>1</b>	Zaloguj się do systemu
<b>2</b>	<p>Załaduj próbki do systemu</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Otwórz probówki</li> <li>• Przenieś probówkę bezpośrednio na statyw</li> <li>• Załaduj ramki na próbki do systemu</li> <li>• System przeprowadzi automatyczne przygotowanie</li> <li>• Zleć testy <ul style="list-style-type: none"> <li>• Wybierz opcję „Raw sputum” (Surowa płwocina), aby zlecić test próbek surowej płwociny poddanych działaniu odczynnika MIS</li> <li>• Wybierz opcję „Sediment” (Próbka w postaci osadu), aby zlecić test próbek w postaci osadu z płwociny / osadu z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL) poddanych działaniu odczynnika MIS</li> </ul> </li> </ul>
<b>3</b>	<p>Po poproszeniu przez system uzupełnij odczynniki i materiały zużywalne przez system:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Załaduj swoistą dla testu kasetę (kasety) odczynnikową (odczynnikiowe)</li> <li>• Załaduj mini statywy z kontrolami</li> <li>• Załaduj końcówki do przetwarzania</li> <li>• Załaduj końcówki do elucji</li> <li>• Załaduj płytki do przetwarzania</li> <li>• Załaduj płytki na odpady płynne</li> <li>• Załaduj płytki amplifikacyjne</li> <li>• Załaduj kasetę MGP</li> <li>• Uzupełnij rozcieńczalnik próbki</li> <li>• Uzupełnij odczynnik lizujący</li> <li>• Uzupełnij odczynnik do mycia</li> </ul>
<b>4</b>	Rozpocznij cykl pracy przez wybranie przycisku „Start processing” (Start przetwarzania) w interfejsie użytkownika; wszystkie kolejne cykle pracy rozpoczną się automatycznie, o ile nie zostaną ręcznie odłożone
<b>5</b>	Sprawdź i wyeksportuj wyniki
<b>6</b>	<p>W razie potrzeby wyjmij i zamknij probówki z próbkami spełniające wymogi dotyczące minimalnej objętości do użycia w przyszłości</p> <p>Oczyść urządzenie</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Wyjmij puste mini statywy z kontrolami</li> <li>• Wyładuj pustą swoistą dla testu kasetę (kasety) odczynnikową (odczynnikiowe)</li> <li>• Opróżnij szufladę na płytki do amplifikacji</li> <li>• Usuń odpady płynne</li> <li>• Usuń odpady stałe</li> </ul>

**Rys. 3** Procedura testu cobas® MTB w systemach cobas® 6800/8800

<b>1</b>	<p>Zaloguj się do systemu Naciśnij przycisk Start, aby przygotować system. Złóż testy</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Wybierz opcję „Raw sputum” (Surowa płwocina), aby złożyć test próbek surowej płwociny poddanych działaniu odczynnika MIS</li> <li>• Wybierz opcję „Sediment” (Próbka w postaci osadu), aby złożyć test próbek w postaci osadu z płwociny / osadu z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL) poddanych działaniu odczynnika MIS</li> </ul>
<b>2</b>	<p>Po poproszeniu przez system uzupełnij odczynniki i materiały zużywalne przez system:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Załaduj swoistą dla testu kasetę odczynnikową</li> <li>• Załaduj kasety z kontrolami</li> <li>• Załaduj końcówki pipetujące</li> <li>• Załaduj płytki do przetwarzania</li> <li>• Załaduj odczynnik MGP Reagent</li> <li>• Załaduj płytki amplifikacyjne</li> <li>• Uzupełnij rozcieńczalnik próbki</li> <li>• Uzupełnij odczynnik lizujący</li> <li>• Uzupełnij odczynnik do mycia</li> </ul>
<b>3</b>	<p>Załaduj próbki do systemu</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dotyczy każdej próbki <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Otwórz probówkę</li> <li>○ Przenieś probówkę na statyw</li> </ul> </li> <li>• Załaduj ramkę na próbki i statyw na niedrożne końcówki do modułu podajnika próbek</li> <li>• Potwierdź, że próbki zostały przyjęte do modułu transferowego</li> </ul>
<b>4</b>	Rozpocznij cykl pracy
<b>5</b>	Sprawdź i wyeksportuj wyniki
<b>6</b>	<p>W razie potrzeby wyjmij i zamknij probówki z próbkami spełniające wymogi dotyczące minimalnej objętości do użycia w przyszłości</p> <p>Oczyść urządzenie</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Wyjmij puste kasety z kontrolami</li> <li>• Opróżnij szufladę na płytki do amplifikacji</li> <li>• Usuń odpady płynne</li> <li>• Usuń odpady stałe</li> </ul>

## Wyniki

Test cobas® MTB automatycznie wykrywa DNA prątków kompleksu MTB w próbkach i kontrolach, przy czym wyświetlana jest informacja o ważności testu, jak również poszczególne wyniki docelowe.

### Kontrola jakości i ważność wyników w systemie cobas® 5800 oraz w systemach cobas® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 2.0 lub nowszej

- Z każdą nową serią zestawu i co 72 godziny przetwarzane są jedna kontrola ujemna cobas® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] i jedna kontrola dodatnia cobas® MTB Positive Control [MTB (+) C]. Wykonywanie kontroli dodatnich i/lub ujemnych można zaplanować częściej, w zależności od procedury laboratorium i/lub miejscowych przepisów.
- Sprawdzić w oprogramowaniu i/lub raporcie obecność flag i powiązane z nimi wyniki, aby się upewnić co do ważności wyników (patrz „Lista kodów flag” w Asystencie użytkownika oprogramowania x800 Data Manager).
- Kontrole są oznaczone jako „Valid” (Ważne) w kolumnie „Control result” (Wynik kontroli), jeśli odpowiednia sekwencja docelowa kwasu nukleinowego kontroli została zgłoszona jako ważna. Kontrole są oznaczone jako „Invalid” (Nieważne) w kolumnie „Control result” (Wynik kontroli), jeśli odpowiednia sekwencja docelowa kwasu nukleinowego kontroli została zgłoszona jako nieważna.
- Kontrole oznaczone jako „Invalid” w kolumnie „Flags” (Flagi) oznaczone są flagą. Więcej informacji na temat powodu zgłoszenia kontroli jako nieważnej, włącznie z informacją o fladze, dostępnych jest w widoku szczegółowym.
- Jeśli jedna z kontroli jest nieważna, należy powtórzyć oznaczenie wszystkich kontroli i powiązanych z nimi próbek.

Wyniki są weryfikowane automatycznie przez oprogramowanie aparatu na podstawie wyników kontroli.

**UWAGA:** system cobas® 5800 oraz systemy cobas® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 2.0 lub nowszej są dostarczane ze standardowymi ustawieniami oznaczania zestawu kontroli (dodatnich i ujemnych) z każdym cyklem pracy, ale można je skonfigurować do rzadszego wykonywania kontroli, aż do maksymalnego odstępu co 72 godziny, w zależności od procedur laboratorium i/lub miejscowych przepisów. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy skontaktować się z inżynierem serwisu firmy Roche i/lub pomocą techniczną firmy Roche.

## Kontrola jakości i ważność wyników w systemach cobas® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 1.4

- Jedna kontrola ujemna [(-) Ctrl] i jedna kontrola dodatnia cobas® MTB Positive Control [MTB (+) C] są przetwarzane z każdą partią badaną pod kątem zleconego typu wyniku.
- W celu zagwarantowania ważności partii należy sprawdzić w oprogramowaniu systemów cobas® 6800/8800 i/lub w raporcie obecność flag oraz powiązane z nimi wyniki.
- Wszystkie flagi opisano w asystencji użytkownika systemów cobas® 6800/8800.
- Seria jest ważna, jeśli nie ma oflagowań dla którejkolwiek kontroli. Jeśli partia jest nieważna, należy powtórzyć badanie całej partii.

Walidacja wyników partii jest przeprowadzana automatycznie przez oprogramowanie aparatu na podstawie wyników kontroli.

## Interpretacja wyników w systemach cobas® 5800/6800/8800

Wyniki i ich odpowiednią interpretację w celu wykrywania bakterii w teście MTB przedstawia Tab. 17.

**Tab. 17** Wyniki testu cobas® MTB i ich interpretacja

Cel 1	Interpretacja
<b>MTB Positive</b>	Pozyskany wynik był ważny. Wykryto sygnał docelowy dla DNA prątków kompleksu <i>M. tuberculosis</i> .
<b>MTB Negative</b>	Pozyskany wynik był ważny. Nie wykryto sygnału docelowego dla DNA prątków kompleksu <i>M. tuberculosis</i> .
<b>Invalid</b>	Wynik dla MTB jest nieważny. W celu otrzymania ważnych wyników MTB ponownie przeprowadź test oryginalnej próbki. Jeżeli wynik nadal jest nieważny i można wykluczyć błąd urządzenia, należy pobrać nową próbkę.

## Interpretacja wyników w przypadku systemu cobas® 5800 oraz systemów cobas® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 2.0 lub nowszej


Wyniki próbek są przedstawione w aplikacji „Results” oprogramowania. Przykłady ekranu wyników przedstawia Tab. 17.

W przypadku ważnej serii kontroli należy sprawdzić w oprogramowaniu i/lub raportach poszczególne próbki pod kątem obecności flag. Wyniki należy interpretować w następujący sposób:

- Próbki powiązane z ważną partią kontroli wyświetlane są jako „Valid” (Ważne) w kolumnie „Control result” (Wynik kontroli), jeśli odpowiednie wyniki kontroli dotyczące sekwencji docelowych kwasu nukleinowego zgłaszane są jako ważne. Próbki powiązane z błędną serią kontroli wyświetlane są jako „Invalid” (Nieważne) w kolumnie „Control result”, jeśli wszystkie wyniki docelowe kontroli zgłaszane są jako nieważne.
- Jeśli powiązane kontrole wyniku próbki są nieważne, do wyniku próbki zostanie dodana określona flaga:
  - Q05D: niepowodzenie walidacji wyniku z powodu nieważnej kontroli dodatniej
  - Q06D: niepowodzenie walidacji wyniku z powodu nieważnej kontroli ujemnej

- Wartości w kolumnie „Results” (Wyniki) dla poszczególnych wyników docelowych próbek powinny być interpretowane zgodnie z tym, co przedstawia Tab. 17 powyżej.
- Jeśli przynajmniej jedna wartość docelowa próbki jest oznaczona jako „Invalid” (Nieważny), oprogramowanie wyświetla flagę w kolumnie „Flags” (Flagi). Więcej informacji na temat powodu zgłoszenia wartości docelowej próbki jako nieważnej, włącznie z informacją o fladze, dostępnych jest w widoku szczegółowym.

**Rys. 4** Przykładowe wyniki testu **cobas®** MTB w systemie **cobas®** 5800 oraz w systemach **cobas®** 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 2.0

ID próbki	Test	Wynik kontroli	Oflagowanie	Stan	Wynik	Data utworzenia/godzina
MTB_S_pos_02	MTB	Valid		Released	<b>MTB Positive (Ct 37.99)</b>	5/12/2022 3:44:55 PM
MTB_S_pos_01	MTB	Valid		Released	<b>MTB Positive (Ct 38.76)</b>	5/12/2022 3:44:55 PM
MTB_S_neg_02	MTB	Valid		Released	MTB Negative	5/12/2022 3:44:56 PM
MTB_S_neg_01	MTB	Valid		Released	MTB Negative	5/12/2022 3:44:56 PM
MTB_S_inv_01	MTB	Valid		Released	<b>MTB Invalid</b>	5/12/2022 1:41:06 PM
MTB_RS_pos_02	MTB	Valid		Released	<b>MTB Positive (Ct 39.32)</b>	5/12/2022 3:44:54 PM
MTB_RS_pos_01	MTB	Valid		Released	<b>MTB Positive (Ct 39.53)</b>	5/12/2022 3:44:54 PM

## Interpretacja wyników w systemach **cobas®** 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 1.4

W przypadku ważnej partii należy sprawdzić w oprogramowaniu systemów **cobas®** 6800/8800 i/lub raportach poszczególne próbki pod kątem obecności flag. Wyniki należy interpretować w następujący sposób:

- Ważna seria może obejmować zarówno ważne, jak i nieważne wyniki próbek.
- Kolumny „Valid” (Ważny) i „Overall Result” (Wynik ogólny) nie dotyczą (NA) wyników próbek testu **cobas®** MTB i są oznaczone tekstem „NA”. Wartości podane w tych kolumnach nie dotyczą testu i **nie** wpływają na ważność wyników podanych w poszczególnych kolumnach wyników „Target”.
- Podane wyniki docelowe dla poszczególnych próbek są ważne, o ile nie zostały oznakowane jako „Invalid” (Nieważny) w poszczególnych kolumnach wyniku materiału docelowego.
- Wyniki tego testu powinny być interpretowane wyłącznie w połączeniu z informacjami pochodzącymi z oceny klinicznej pacjenta i jego historii choroby.

**Rys. 5** Przykładowe wyniki testu **cobas®** MTB w systemach **cobas®** 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 1.4

Test	ID próbki	Ważny	Flagi	Typ próbki	Wynik ogólny	Cel 1
MTB	TB_R_0001	NA		Raw sputum	<b>NA</b>	MTB Negative
MTB	TB_R_0002	NA		Raw sputum	<b>NA</b>	MTB Positive
MTB	TB_R_0003	NA	P02T	Raw sputum	<b>NA</b>	Invalid
MTB	TB_S_0001	NA		Sediment	<b>NA</b>	MTB Negative
MTB	TB_S_0002	NA		Sediment	<b>NA</b>	MTB Positive
MTB	TB_S_0003	NA	C02H1	Sediment	<b>NA</b>	Invalid
MTB	C161420284090428828404	Yes		(-) Ctrl	<b>Valid</b>	Valid
MTB	C161420284093009580264	Yes		MTB (+) C	<b>Valid</b>	Valid

## Ograniczenia metody

- Test **cobas**® MTB należy zawsze przeprowadzać równoległe z hodowlą prątków, aby zminimalizować ryzyko uzyskania wyników fałszywie ujemnych, a także w celu zbadania wrażliwości na lek izolatu bakterii MTBC i ułatwienia w ten sposób leczenia pacjenta.
- Działanie testu **cobas**® MTB zostało zweryfikowane dla próbek surowej płwociny oraz próbek w postaci osadu z płwociny i osadu z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL), które zostały upłynnione, odkażone i zatężone przy użyciu NALC-NaOH. Stosowanie innych typów próbek może prowadzić do uzyskania wyników fałszywie dodatnich, fałszywie ujemnych i/lub nieważnych.
- Trawienie i dekontaminację należy przeprowadzać z zastosowaniem procedur wykorzystujących NALC-NaOH zalecanych przez agencję CDC.<sup>15</sup> Stosowanie alternatywnych procedur przedanalizycznego przygotowania próbek może prowadzić do uzyskania wyników fałszywie dodatnich, fałszywie ujemnych i/lub nieważnych.
- Test **cobas**® MTB został zatwierdzony do stosowania z próbkami surowej płwociny oraz poddanymi działaniu NALC-NaOH próbkami w postaci osadu z płwociny i osadu z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL), inaktywowanymi chemicznie za pomocą odczynnika MIS. Inne procedury inaktywacji nie zostały ocenione, dlatego mogą prowadzić do uzyskania wyników fałszywie dodatnich, fałszywie ujemnych i/lub nieważnych.
- Skuteczna inaktywacja prątków gruźlicy zależy od przestrzegania procedur opisanych w niniejszym dokumencie oraz od całkowitego wymieszania próbki z odczynnikiem MIS. Upłynnianie próbek oraz inaktywację prątków przez MIS należy przeprowadzać zgodnie z wytycznymi lub przepisami miejscowymi i obowiązującymi w danej instytucji oraz w oparciu o stosowną ocenę ryzyka.
- Przekroczenie ograniczeń dotyczących objętości i/lub odstępstwa od etapów procedury określonych w częściach „Przetwarzanie próbek surowej płwociny”, „Przetwarzanie próbek w postaci osadu z płwociny i osadu z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL)” oraz „Sonikacja próbek” mogą prowadzić do uzyskania wyników fałszywie dodatnich, fałszywie ujemnych i/lub nieważnych.
- Testy z wykorzystaniem amplifikacji kwasu nukleinowego nie umożliwiają określenia żywotności drobnoustroju.
- Niniejszego testu nie wolno używać do oceny skuteczności leczenia lub jej braku.
- Tego produktu mogą używać wyłącznie osoby przeszkolone w zakresie technik PCR i używania systemów **cobas**® 5800/6800/8800.
- Test **cobas**® MTB został oceniony jedynie pod kątem stosowania z zestawami **cobas**® MTB Positive Control Kit i **cobas**® Buffer Negative Control Kit oraz odczynnikiem **cobas**® **omni** MGP Reagent, **cobas**® **omni** Lysis Reagent, **cobas**® **omni** Specimen Diluent i **cobas**® **omni** Wash Reagent do użytku z systemami **cobas**® 5800/6800/8800, odczynnikiem MIS i sonikatorem do próbek TS 5 firmy Rinco Ultrasonics AG.
- Uzyskanie wiarygodnych wyników zależy od prawidłowych procedur pobierania, przechowywania i dalszego postępowania z próbkami.
- Test **cobas**® MTB nie jest przeznaczony do stosowania z próbkami z dróg oddechowych w monitorowaniu odpowiedzi na leczenia ani jako test potwierdzający wyleczenie.
- Test **cobas**® MTB nie rozróżnia poszczególnych gatunków prątków należących do kompleksu MTB oraz nie odróżnia organizmów żywych od nieżywych.
- Wykrycie prątków *M. tuberculosis* zależy od liczby drobnoustrojów obecnych w próbce i mogą na nią mieć wpływ metody pobierania próbki i czynniki zależne od pacjenta (np. wiek, nasilenie choroby, status zakażenia wirusem HIV).

- U pacjentów zakażonych zarówno prątkami MTB, jak i wirusem HIV, występuje większe prawdopodobieństwo ujemnego wyniku badania mikroskopowego rozmazu próbki, co wiąże się z występowaniem DNA prątków kompleksu MTB na poziomach poniżej granicy wykrywalności testu.
- Pracownicy opieki zdrowotnej powinni interpretować wyniki z uwzględnieniem wywiadu pacjenta, objawów klinicznych, a także wyników innych badań laboratoryjnych i radiograficznych.
- Wyniki fałszywie ujemne lub nieważne mogą się pojawiać na skutek hamowania polimerazy. Do testu **cobas**® MTB dołączona jest kontrola wewnętrzna, aby pomóc w identyfikacji próbek zawierających substancje mogące zakłócać izolację kwasu nukleinowego i amplifikację w trakcie reakcji PCR.
- Dodanie do Master Mixu testu **cobas**® MTB enzymu AmpErase umożliwia selektywną amplifikację docelowego DNA; jednak dla uniknięcia zanieczyszczenia odczynników konieczne jest stosowanie dobrej praktyki laboratoryjnej i dokładne przestrzeganie procedur wyszczególnionych w niniejszej instrukcji użytkownika.
- Mutacje w obrębie wysoce konserwatywnych regionów DNA genomowego bakterii kompleksu *M. tuberculosis*, z którymi wiążą się startery i/lub sondy używane w teście **cobas**® MTB, chociaż rzadkie, mogą spowodować niewykrycie obecności bakterii.
- Z uwagi na różnice pomiędzy technologiami zaleca się, aby przed zmianą stosowanych metod użytkownik przeprowadził w laboratorium badanie korelacji stosowanych metod w celu określenia technologicznych różnic występujących pomiędzy nimi. Ze względu na wspomniane wyżej różnice w metodach nie należy oczekiwać stuprocentowej zgodności między wynikami.
- Użycie probówek innych od zalecanych (patrz Tab. 10) musi zostać zweryfikowane przez użytkownika przed wprowadzeniem do procedury **cobas**® MTB w laboratorium. Użycie innych typów probówek może spowodować ich uszkodzenie i zanieczyszczenie powierzchni sonikatora. Możliwe jest też uzyskanie wyników fałszywie ujemnych wskutek niewystarczającego przenoszenia energii sonikacji.
- Użycie etykiet z kodem kreskowym innych od zalecanych (patrz Tab. 10) musi zostać zweryfikowane przez użytkownika przed wprowadzeniem do procedury **cobas**® MTB w laboratorium. Użycie innych rodzajów kodów kreskowych może skutkować ich uszkodzeniem.

# Ocena wiarygodności

## Równoważność systemu

Równoważność systemów **cobas**® 5800, **cobas**® 6800 i **cobas**® 8800 wykazano przez badanie skuteczności. Dane przedstawione w instrukcji obsługi potwierdzają równoważne działanie wszystkich systemów.

## Kluczowe parametry wiarygodności testu

### Inaktywacja próbek

Zmniejszenie ryzyka zakażenia prątkami MTB w drodze poddania próbek działaniu MIS oceniano przy użyciu wysoko dodatnich hodowli dwóch szczepów kompleksu MTB (MTB CDC268 i MTB H37) w trzech różnych ośrodkach i przy zastosowaniu trzech różnych partii odczynnika MIS. Dla każdego warunku pięć alikwotów hodowli o stężeniu do  $5 \times 10^7$  CFU/mL poddano działaniu odczynnika MIS w stosunku 1:2 przez 60 minut w temperaturze pokojowej. Następnie próbki poddano odwirowaniu przez 15 minut przy  $3000 \times g$ , dwukrotnie przemyto jałowym PBS, a na końcu zawieszono ponownie w 0,5 ml jałowego PBS. W dwóch ośrodkach całą inaktywowaną próbkę inokulowano i zbadano pod kątem wzrostu z zastosowaniem BACTEC™ MGIT™ 320 Mycobacterial Detection System (Becton Dickinson). W trzecim ośrodku zbadano żywotność MTB na stałym podłożu Löwensteina-Jensena (LJ). W żadnej z inaktywowanych próbek nie stwierdzono wzrostu bakterii kompleksu *M. tuberculosis* pod koniec 56-dniowego okresu inkubacji.

### Granica wykrywalności (LoD)

Granice wykrywalności dla testu **cobas**® MTB oznaczono za pomocą analizy seryjnych rozcieńczeń dwóch szczepów należących do kompleksu MTB (*M. tuberculosis* CDC268 i *M. bovis* BCG — pierwszego referencyjnego odczynnika WHO dla szczepionki BCG zawierającego podszczep duński Danish 1331), każdego w dwóch zbiorczych ujemnych macierzach klinicznych — surowej płwocinie oraz płwocinie/osadach uzyskanych podczas procedury BAL. Panele zawierające od siedmiu do dziewięciu poziomów stężeń oraz próbkę ślepą były testowane łącznie w 72 powtórzeniach dla każdego stężenia przy użyciu trzech serii odczynników testu **cobas**® MTB w wielu przebiegach, przez wiele dni oraz z użyciem wielu aparatów obsługiwanych przez różnych operatorów.

Granica wykrywalności (LoD) dla bakterii *M. tuberculosis* wynosiła od 7,6 CFU/ml (przetrawiona i odkażona próbka płwociny / popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL)) do 8,8 CFU/ml (surowa płwocina).

Granica wykrywalności (LoD) dla bakterii *M. bovis* BCG wynosiła od 0,9 CFU/ml (przetrawiona i odkażona próbka płwociny / popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL)) do 1,0 CFU/ml (surowa płwocina).

## Inkluzywność

Inkluzywność testu cobas® MTB dla dziesięciu przedstawicieli kompleksu MTB potwierdzono, badając poniższe 22 szczepy:

- *M. tuberculosis* (H37 ATCC®-25177™, TB-TDR-0032, TB-TDR-0039, TB-TDR-0105, TB-TDR-0114, TB-TDR-0115, TB-TDR-0116, TB-TDR-0131, TB-TDR-0144, TB-TDR-0185, TB-TDR-0198, 80552)
- *M. bovis* BCG (podszczep japoński Tokyo 172 NIBSC 07/270 WHO, podszczep rosyjski 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™)
- *M. suricattae* (492, uniwersytet w Stellenbosch, Tygerberg, Republika Południowej Afryki)

Wszystkie szczepy wykryto przy wartości 28,2 CFU/ml w osadzie z pobranych próbek. Dla prątków *M. suricattae* przetestowano DNA genomowe równoważne 28,2 CFU/ml.

## Precyzja

Testowana przez producenta precyzja została zbadana za pomocą panelu składającego się z hodowli prątka *M. tuberculosis* (CDC268) oraz *M. bovis* BCG (pierwszego referencyjnego odczynnika WHO dla szczepionki BCG zawierającego podszczep duński Danish 1331) rozcieńczonych w dwóch zbiorczych ujemnych macierzach klinicznych — surowej płwocinie oraz płwocinie/osadach uzyskanych podczas procedury BAL. Źródła zmienności zbadano przy użyciu panelu obejmującego trzy poziomy stężenia przy użyciu trzech serii odczynników testu cobas® MTB oraz dwóch aparatów, w ciągu 12 dni, w ramach łącznie 24 przebiegów. Opis paneli do oceny precyzji oraz zaobserwowane odsetki wyników dodatnich przedstawia Tab. 18. Wszystkie elementy paneli ujemnych w testach pozostały ujemne. Analiza odchylenia standardowego i procentowego współczynnika zmienności wartości Ct z testów przeprowadzonych na elementach panelu dodatniego (Tab. 19) doprowadziła do uzyskania ogólnych zakresów wartości CV (%) wynoszących od 1,2% do 2,6% dla prątków *M. tuberculosis* i *M. bovis* BCG.

**Tab. 18** Podsumowanie precyzji wewnątrzlaboratoryjnej

Docelowe stężenie	Liczba testowanych	Liczba wyników dodatnich	Odsetek wyników dodatnich	95% przedział ufności	
				Dolna granica	Górny limit
<i>M. tuberculosis</i> — surowa plwocina					
Ujemny	48	0	0,0%	0,0%	7,4%
8,8 CFU/ml	48	46	95,8%	85,7%	99,5%
26,4 CFU/ml	48	48	100,0%	92,6%	100,0%
<i>M. tuberculosis</i> — przetrawione i odkażone próbki					
Ujemny	48	0	0,0%	0,0%	7,4%
7,6 CFU/ml	48	48	100,0%	92,6%	100,0%
22,8 CFU/ml	48	48	100,0%	92,6%	100,0%
<i>M. bovis</i> BCG — surowa plwocina					
Ujemny	48	0	0,0%	0,0%	7,4%
1,0 CFU/ml	48	48	100,0%	92,6%	100,0%
3,0 CFU/ml	48	48	100,0%	92,6%	100,0%
<i>M. bovis</i> BCG — przetrawione i odkażone próbki					
Ujemny	48	0	0,0%	0,0%	7,4%
0,9 CFU/ml	48	45	93,8%	82,8%	98,7%
2,7 CFU/ml	48	48	100,0%	92,6%	100,0%

**Tab. 19** Łączne wartości średnie, odchylenia standardowe i współczynniki zmienności (%) dla wartości progowej cyklu — dodatnie panele MTBC

Docelowe stężenie	Odsetek wyników dodatnich	Średnia wartość Ct	W obrębie cyklu pracy		Między cyklami pracy		Między dniami		Między urządzeniami		Między seriami		Ogółem	
			OS	CV%	OS	CV%	OS	CV%	OS	CV%	OS	CV%	OS	CV%
<i>M. tuberculosis</i> — surowa plwocina														
8,8 CFU/ml	95,8%	33,8	0,63	1,9	0,28	0,8	0,43	1,3	0,00	0,0	0,29	0,9	0,86	2,6
26,4 CFU/ml	100,0%	32,4	0,54	1,7	0,07	0,2	0,00	0,0	0,30	0,9	0,00	0,0	0,62	1,9
<i>M. tuberculosis</i> — przetrawione i odkażone próbki														
7,6 CFU/ml	100,0%	34,9	0,35	1,0	0,09	0,3	0,14	0,4	0,19	0,5	0,00	0,0	0,43	1,2
22,8 CFU/ml	100,0%	33,9	0,36	1,1	0,22	0,6	0,00	0,0	0,17	0,5	0,06	0,2	0,46	1,4
<i>M. bovis</i> BCG — surowa plwocina														
1,0 CFU/ml	100,0%	33,5	0,67	2,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,22	0,7	0,71	2,1
3,0 CFU/ml	100,0%	32,4	0,40	1,2	0,30	0,9	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,50	1,5
<i>M. bovis</i> BCG — przetrawione i odkażone próbki														
0,9 CFU/ml	93,8%	35,1	0,45	1,3	0,00	0,0	0,17	0,5	0,00	0,0	0,17	0,5	0,51	1,5
2,7 CFU/ml	100,0%	34,1	0,39	1,1	0,00	0,0	0,18	0,5	0,00	0,0	0,09	0,3	0,44	1,3

## Swoistość analityczna / reaktywność krzyżowa

Na potrzeby oceny swoistości analitycznej za pomocą testu cobas® MTB zbadano panel zawierający 178 bakterie, grzyby i wirusy, w tym występujące powszechnie w układzie oddechowym. Drobnoustroje, których wykaz zawiera Tab. 20, przebadano w stężeniach wynoszących około  $1 \times 10^6$  jednostek/ml w przypadku bakterii oraz około  $1 \times 10^5$  jednostek/ml w przypadku wirusów. Testy wykonywano z użyciem każdego potencjalnie zakłócającego działanie drobnoustroju przy braku i w obecności docelowych prątków z kompleksu MTB (w stężeniu 200 CFU/ml). Żaden z drobnoustrojów nie wpływał na skuteczność testu przez generowanie wyników fałszywie dodatnich. Testowane drobnoustroje nie miały wpływu na proces wykrywania docelowych prątków należących do kompleksu MTB. Potencjalną reaktywność krzyżową z drobnoustrojami *Histoplasma capsulatum*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium mantenii* i *Mycobacterium timonense* oceniono *in silico*. Zgodnie z przewidywaniami na podstawie wyników analiz *in silico* prawdopodobieństwo amplifikacji i detekcji tych drobnoustrojów podczas stosowania testu cobas® MTB jest niskie.

**Tab. 20** Drobnoustroje badane pod kątem swoistości analitycznej/reaktywności krzyżowej

Drobnoustrój	Stężenie	Drobnoustrój	Stężenie
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium gastri</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium gordonae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium haemophilum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium holsaticum</i>	1,0E+06 CFU/ml
Adenowirus	1,0E+05 U/ml	<i>Mycobacterium indicus pranii</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium intermedium</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Bacillus cereus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium kansasii</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium kumamontonense</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Bactericides fragilis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium lentiflavum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	1,0E+06 geq/ml	<i>Mycobacterium malmøense</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Bordetella parapertussis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium marinum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Bordetella pertussis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium marseillense</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Burkholderia cepacia</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium mucogenicum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium neoaurum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium nonchromogenicum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Candida glabrata</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium peregrinum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Candida krusei</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Candida parapsilosis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium simiae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Candida tropicalis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1,0E+06 IFU/ml	<i>Mycobacterium szulgai</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	1,0E+06 IFU/ml	<i>Mycobacterium terrae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Chromobacterium violaceum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Citrobacter freundii</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium triviale</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium vaccae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium vulneris</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium xenopi</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Mycobacterium yongonense</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Corynebacterium ulcerans</i>	1,0E+06 geq/ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,0E+06 CCU/ml
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,0E+06 CFU/ml

Drobnoustrój	Stężenie	Drobnoustrój	Stężenie
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Neisseria lactamica</i>	1,0E+06 CFU/ml
Wirus cytomegalii	1,0E+05 IFU/ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Eikenella corrodens</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Neisseria mucosa</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Neisseria sicca</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Enterobacter cloacae</i> subsp. <i>cloacae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Nocardia asteroides</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Enterococcus avium</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Nocardia brasiliensis</i>	1,0E+06 geq/ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Nocardia cyriacigeorgica</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Enterococcus faecium</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Nocardia farcinica</i>	1,0E+06 CFU/ml
Enterowirus typu 68 / 2007	1,0E+05 U/ml	<i>Nocardia nova</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Escherichia coli</i> wytwarz. ESBL CTX-M-15	1,0E+06 CFU/ml	<i>Nocardia transvalensis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i> subsp. <i>nucleatum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Pasteurella multocida</i> subsp. <i>tigris</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Gordona rubropertinctus</i>	1,0E+06 geq/ml	<i>Pediococcus acidilactici</i>	1,0E+06 geq/ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Penicillium chermesinum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1,0E+06 CFU/ml
Wirus opryszczki zwykłej typu 1	1,0E+05 kopii/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1,0E+06 CFU/ml
Wirus opryszczki zwykłej typu 2	1,0E+05 kopii/ml	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	1,0E+06 CFU/ml
Ludzki wirus upośledzenia odporności	1,0E+05 kopii/ml	<i>Prevotella melaninogenica</i>	1,0E+06 CFU/ml
Ludzki wirus grypy typu A	1,0E+05 U/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1,0E+06 CFU/ml
Ludzki wirus grypy typu B	1,0E+05 U/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1,0E+06 CFU/ml
Ludzki metapneumowirus	1,0E+05 U/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1,0E+06 CFU/ml
Ludzki wirus paragrypy typu 1	1,0E+05 U/ml	<i>Providencia stuartii</i>	1,0E+06 CFU/ml
Ludzki wirus paragrypy typu 2	1,0E+05 U/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,0E+06 CFU/ml
Ludzki wirus paragrypy typu 3	1,0E+05 U/ml	<i>Rhizopus</i> spp.	1,0E+06 CFU/ml
Ludzki wirus paragrypy typu 4	1,0E+05 U/ml	<i>Rhodococcus equi</i>	1,0E+06 CFU/ml
Ludzki wirus syncytium nabłonka oddechowego typu A	1,0E+05 U/ml	Wirus różyczki	1,0E+05 U/ml
Ludzki wirus syncytium nabłonka oddechowego typu B	1,0E+05 U/ml	Wirus odry (rubeola)	1,0E+05 U/ml
Ludzki rhinowirus 16	1,0E+05 U/ml	Rubulawirus	1,0E+05 U/ml
<i>Kingella kingae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serotyp Dublin	1,0E+06 CFU/ml
<i>Kingella oralis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Scedosporium</i> spp.	1,0E+06 CFU/ml
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Serratia marcescens</i> subsp. <i>marcescens</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i> wytwarz. karbapenemazę KPC-3	1,0E+06 CFU/ml	<i>Shigella flexneri</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Shigella sonnei</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Lactobacillus casei</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus capitis</i> subsp. <i>capitis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Legionella micdadei</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Legionella pneumophila</i> subsp. <i>pneumophila</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1,0E+06 CFU/ml

<b>Drobnoustrój</b>	<b>Stężenie</b>	<b>Drobnoustrój</b>	<b>Stężenie</b>
<i>Morganella morganii</i> subsp. <i>morganii</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium abscessus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus constellatus</i> subsp. <i>constellatus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium arosiense</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>equi</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium asiaticum</i>	1,0E+06 geq/ml	<i>Streptococcus mitis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>avium</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus mutans</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>hominissuis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>silvaticum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium bouchedurhonense</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium celatum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium chelonae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus uberis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium chimaera</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptomyces anulatus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium chubuense</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptomyces griseus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium colombiense</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Tsukamurella</i> spp.	1,0E+06 geq/ml
<i>Mycobacterium confluentis</i>	1,0E+06 CFU/ml	Wirus ospy wietrznej	1,0E+05 kopii/ml
<i>Mycobacterium flavescens</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Veillonella atypica</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Veillonella parvula</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium fuerth</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Weissella paramesenteroides</i>	1,0E+06 CFU/ml

## Substancje wpływające na wynik testu

Oceniono działanie substancji egzogennych potencjalnie wydzielanych do próbek z układu oddechowego (Tab. 21). Każdą potencjalnie zakłócającą substancję zbadano w stężeniu klinicznie istotnym lub większym w spreparowanych próbkach płwociny przy braku i w obecności docelowych prątków należących do kompleksu MTB (dodanych w stężeniu 200 CFU/ml).

Żadna z substancji nie wpływała na skuteczność testu przez generowanie wyników fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych.

**Tab. 21** Lista egzogennych substancji testowanych pod kątem interferencji

Substancja	Stężenie	Substancja	Stężenie
Siarczan albuterolu	0,5 µg/ml	Jednosiarczan kanamycyny	240 µg/ml
Amikacyna	80,1 µg/ml	Lewofloksacyna	5 mg/ml
Amoksycylina	86,4 µg/ml	Lidokaina HCl	1,2% (wag./obj.)
Beklometazon	3459 pg/ml	Mentol	0,50% (wag./obj.)
Benzokaina	1,2% (wag./obj.)	Salicylan metylu	0,06% (udział objętościowy)
Budezonid	3 mg/ml	Mometazon	100 µg/ml
Ekstrakt z łepieźnika	225 mg/ml	Moksyfloksacyna	15 µg/ml
Kapreomycyna	80 µg/ml	Mupirocyna	5% (wag./obj.)
Chlorek cetylopirydyniowy	0,5% (wag./obj.)	NaCl	5% (wag./obj.)
Glukonian chlorheksydyny	1% (udział objętościowy)	Nikotyna	1 µg/ml
Cykloseryna	105 µg/ml	Nystatyna	1% (udział objętościowy)
Klarytromycyna	20 µg/ml	Oksymetazolina	12 ng/ml
deksametazon	601 ng/ml	Pentamidyna	1366 ng/ml
Chlorowodorek efedryny	1 mg/ml	Fenylefryna	5 mg/ml
Epinefryna	100 pg/ml	Prednizolon	3 µg/ml
Etambutol	50 µg/ml	Pirazynamid	240 µg/ml
Etionamid	15 µg/ml	Rifampicyna	25 µg/ml
Eukaliptol	0,002% (udział objętościowy)	Ekstrakt z pokrzywy zwyczajnej (500 mg)	5 mg/ml
Flunizolid	400 µg/ml	Streptomycyna	240 µg/ml
Propionian flutykazonu	5 µg/ml	Siarka	0,01% (wag./obj.)
Dwuwodny fumaran formoterolu	66 µg/ml	Olejek z drzewa herbacianego	0,50% (udział objętościowy)
Korzeń gorzknika kanadyjskiego (kapsułki 570 mg)	5,7 mg/ml	Teofilina	20 µg/ml
Gwajafenezyna	5 mg/ml	Tobramycyna	24,1 µg/ml
Izoniazyd	50 µg/ml	Zanamiwir	10 mg/ml

Zbadano pod kątem zakłóceń substancje endogenne, które mogą występować w próbkach z układu oddechowego (Tab. 22). Każdą potencjalnie zakłócającą substancję zbadano w stężeniu klinicznie istotnym lub większym w spreparowanych próbkach płwociny przy braku i w obecności docelowych prątków należących do kompleksu MTB (dodanych w stężeniu 200 CFU/ml).

Żadna z substancji nie wpływała na skuteczność testu przez generowanie wyników fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych.

**Tab. 22** Lista endogennych substancji testowanych pod kątem interferencji

Substancja	Stężenie	Substancja	Stężenie
Sok żołądkowy	10% (udział objętościowy)	Śluz	5%
Hemoglobina	2 g/l	Ropa	5%
Ludzka krew pełna	5% (udział objętościowy)	Ślina	10% (udział objętościowy)
hDNA	4 mg/l	-	-

## Błąd całego systemu

W badaniu dotyczącym błędu całego systemu przetestowano spreparowane próbki płwociny oraz próbki osadu z płwociny w odpowiedniej macierzy, do których dodano docelowe prątki kompleksu MTB w takiej ilości, aby uzyskać stężenie wynoszące około  $3 \times \text{LoD}$  testu **cobas®** MTB. Wyniki badania wykazały, że wszystkie powtórzenia były ważne i dodatnie dla prątków należących do kompleksu MTB, co dało częstość występowania błędu całego systemu na poziomie 0% przy górnym, jednostronnym 95% przedziale ufności wynoszącym 3,0%.

## Skażenie krzyżowe

Przeprowadzono badania w celu oceny potencjalnego zanieczyszczenia pomiędzy próbkami w systemach **cobas®** 6800/8800 z użyciem testu **cobas®** MTB. Skażenie krzyżowe próbek może spowodować uzyskanie wyników fałszywie dodatnich. W tym badaniu skuteczności stwierdzono, że częstość zanieczyszczeń krzyżowych pomiędzy próbkami w teście **cobas®** MTB wynosiła 0,0% (0/240) dla prątków kompleksu MTB w przypadku naprzemiennego testowania wysoko dodatnich i ujemnych próbek w kilku przebiegach. Testy przeprowadzono, używając spreparowanych próbek w postaci osadu z płwociny, do których dodano docelowy kompleks MTB w stężeniu  $2 \times 10^6$  CFU/ml. Było to stężenie próbki, dla którego uzyskiwano wartości Ct niższe niż w przypadku 95% próbek od zakażonych pacjentów w populacji docelowej.

## Ocena skuteczności przy użyciu próbek klinicznych

Działanie testu **cobas®** MTB w przypadku stosowania próbek klinicznych oceniono, badając prospektywne i zarchiwizowane próbki (surowa płwocina, płwocina/osady z procedury BAL) pobrane w Niemczech, Republice Południowej Afryki, Szwajcarii, Ugandzie i Ukrainie od osób w wieku co najmniej 18 lat podejrzanych o zakażenie gruźlicą. Przeprowadzono równoległe test porównawczy z testem RealTime MTB firmy Abbott. Czułość i swoistość ustalono, dokonując porównania z hodowlą prątków oraz statusem rozmazu w kierunku obecności bakterii kwasoopornych.

Wyniki przedstawia Tab. 23. Potwierdzono, że wszystkie dodatnie wyniki testu **cobas®** MTB dla próbek o ujemnych wynikach hodowli były swoistymi zdarzeniami związanymi z amplifikacją/detekcją zachodzącą w fazie po zakończeniu reakcji PCR na etapie analizy amplikonu.

**Tab. 23** Czułość i swoistość testu **cobas® MTB** określone przy użyciu próbek klinicznych

-			Roche <b>cobas® MTB</b>	Abbott <b>RealTime MTB</b>
<b>Czułość</b>	<b>Surowa płwocina</b>	<b>H+/R-</b>	116/134 <b>86,6%</b> [79,6–91,8%]	111/134 <b>82,8%</b> [75,4–88,8%]
		<b>H+/R+</b>	275/278 <b>98,9%</b> [96,9–99,7%]	274/278 <b>98,5%</b> [96,3–99,6%]
		<b>H+/R±</b>	391/412 <b>94,9%</b> [92,3–96,8%]	385/412 <b>93,4%</b> [90,6–95,6%]
<b>Czułość</b>	<b>Osad</b>	<b>H+/R-</b>	116/148 <b>78,4%</b> [70,9–84,7%]	121/148 <b>81,8%</b> [74,6–87,6%]
		<b>H+/R+</b>	287/289 <b>99,3%</b> [97,5–99,9%]	284/289 <b>98,2%</b> [96,0–99,4%]
		<b>H+/R±</b>	403/437 <b>92,2%</b> [89,3–94,5%]	405/437 <b>92,6%</b> [89,8–94,9%]
<b>Swoistość</b>	<b>Surowa płwocina</b>	<b>H-/R-</b>	326/332 <b>98,2%</b> [96,1–99,3%]	ND
<b>Swoistość</b>	<b>Osad</b>	<b>H-/R-</b>	381/393 <b>96,9%</b> [94,7–98,4%]	ND
<b>Przewidywana wartość dodatnia</b>	<b>Surowa płwocina</b>	<b>P+</b>	391/397 <b>98,5%</b> [96,7–99,4%]	ND
<b>Przewidywana wartość dodatnia</b>	<b>Osad</b>	<b>P+</b>	403/415 <b>97,1%</b> [95,0–98,5%]	ND
<b>Przewidywana wartość ujemna</b>	<b>Surowa płwocina</b>	<b>P-</b>	326/347 <b>93,9%</b> [90,9–96,2%]	ND
<b>Przewidywana wartość ujemna</b>	<b>Osad</b>	<b>P-</b>	381/415 <b>91,8%</b> [88,7–94,3%]	ND

H = hodowla, R = rozmaz w kierunku AFB, P = test PCR

Podczas testu podzestawu próbek, przeprowadzonego w Clinical Laboratory Services (CLS) w Republice Południowej Afryki dokonano oceny zewnętrznej. Próbkę surowej płwociny pobierano od osób badanych podczas dwóch wizyt. Jedną próbkę surowej płwociny badano za pomocą testu **cobas® MTB**, testu **RealTime MTB** firmy Abbott oraz testu **GeneXpert® MTB/RIF**. Jedną próbkę surowej płwociny została poddana działaniu NALC-NaOH w celu uzyskania osadu i została zbadana za pomocą testów: **cobas® MTB**, **RealTime MTB** firmy Abbott, **GeneXpert® MTB/RIF** i **COBAS® TaqMan® MTB**. Czułość i swoistość ustalono, dokonując porównania z hodowlą oraz statusem rozmazu w kierunku obecności bakterii kwasoopornych.

Wyniki przedstawia Tab. 24.

Tab. 24 Czułość i swoistość testu cobas® MTB określone przy użyciu próbek klinicznych pobranych w Republice Południowej Afryki

-			Roche cobas® MTB	Abbott RealTime MTB	Cepheid Xpert MTB/RIF	Roche COBAS® TaqMan® MTB
Czułość	Surowa plwocina	H+/R-	18/22 <b>81,8%</b> [59,7–94,8%]	16/22 <b>72,7%</b> [49,8–89,3%]	16/22 <b>72,7%</b> [49,8–89,3%]	ND
		H+/R+	72/73 <b>98,6%</b> [92,6–100%]	72/73 <b>98,6%</b> [92,6–100%]	71/73 <b>97,3%</b> [90,5–99,7%]	ND
		H+/R±	90/95 <b>94,7%</b> [88,1–98,3%]	88/95 <b>92,6%</b> [85,4–97,0%]	87/95 <b>91,6%</b> [84,1–96,3%]	ND
Czułość	Osad	H+/R-	17/22 <b>77,3%</b> [54,6–92,2%]	17/22 <b>77,3%</b> [54,6–92,2%]	17/22 <b>77,3%</b> [54,6–92,2%]	13/22 <b>59,1%</b> [36,4–79,3%]
		H+/R+	73/73 <b>100%</b> [95,1–100%]	71/73 <b>97,3%</b> [90,5–99,7%]	73/73 <b>100%</b> [95,1–100%]	73/73 <b>100%</b> [95,1–100%]
		H+/R±	90/95 <b>94,7%</b> [88,1–98,3%]	88/95 <b>92,6%</b> [85,4–97,0%]	90/95 <b>94,7%</b> [88,1–98,3%]	86/95 <b>90,5%</b> [82,8–95,6%]
Swoistość	Surowa plwocina	H-/R-	193/199 <b>97,0%</b> [93,6–98,9%]	192/199 <b>96,5%</b> [92,9–98,6%]	194/199 <b>97,5%</b> [94,2–99,2%]	ND
Swoistość	Osad	H-/R-	190/199 <b>95,5%</b> [91,6–97,9%]	189/199 <b>95,0%</b> [91,0–97,6%]	196/199 <b>98,5%</b> [95,7–99,7%]	193/196 <b>98,5%</b> [95,6–99,7%]
Przewidywana wartość dodatnia	Surowa plwocina	H+/R±	90/96 <b>93,8%</b> [86,9–97,7%]	88/95 <b>92,6%</b> [85,4–97,0%]	87/92 <b>94,6%</b> [87,8–98,2%]	ND
Przewidywana wartość dodatnia	Osad	H+/R±	90/99 <b>90,9%</b> [83,4–95,8%]	88/98 <b>89,8%</b> [85,4–97,0%]	90/93 <b>96,8%</b> [90,9–99,3%]	86/89 <b>96,6%</b> [90,5–99,3%]
Przewidywana wartość ujemna	Surowa plwocina	H-/R±	193/198 <b>97,5%</b> [94,2–99,2%]	192/199 <b>96,5%</b> [92,9–98,6%]	194/202 <b>96,0%</b> [92,3–98,3%]	ND
Przewidywana wartość ujemna	Osad	H-/R±	190/195 <b>97,4%</b> [94,1–99,2%]	189/196 <b>96,4%</b> [92,8–98,6%]	196/201 <b>97,5%</b> [94,3–99,2%]	193/202 <b>95,5%</b> [91,7–97,9%]

## Dodatkowe informacje

### Najważniejsze cechy oznaczenia

**Typy próbek**

- Surowa płwocina
- Poddane działaniu NALC-NaOH próbki w postaci osadu z płwociny i osadu z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL)





















































**Przetwarzana ilość próbki**

- $\geq 0,4$  ml próbki pacjenta poddanej działaniu odczynnika MIS w stosunku 1:2 (objętość całkowita  $\geq 1,2$  ml) wymagane w probówce na próbkę w przypadku surowej płwociny; urządzenie przetwarza 0,85 ml
- $\geq 0,2$  ml próbki pacjenta poddanej działaniu odczynnika MIS w stosunku 1:5 (objętość całkowita  $\geq 1,2$  ml) wymagane w probówce na próbkę w przypadku osadu z płwociny / osadu z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL); urządzenie przetwarza 0,85 ml

## Oznaczenia

Na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR stosuje się następujące oznaczenia.

**Tab. 25** Oznaczenia stosowane na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR

 <b>Age/DOB</b> Wiek lub data urodzenia	 Wyrób nieprzeznaczony do testów przy pacjencie	 <b>QS IU/PCR</b> IU QS na reakcję PCR, użyć jednostek międzynarodowych (IU) QS na reakcję PCR w obliczeniach wyników.
 Oprogramowanie pomocnicze	 Wyrób nieprzeznaczony do samokontroli	 <b>SN</b> Numer seryjny
 <b>Assigned Range [copies/ml]</b> Przypisany zakres (kopii/ml)	 Dystrybutor <i>(Uwaga: pod symbolem może być wskazany właściwy kraj/region.)</i>	 <b>Site</b> Ośrodek
 <b>Assigned Range [IU/ml]</b> Przypisany zakres (IU/ml)	 Nie używać powtórnie	 <b>Procedure Standard</b> Procedura standardowa
 <b>EC REP</b> Autoryzowany Przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej	 Kobieta	 <b>STERILE EO</b> Produkt sterylizowany tlenkiem etylenu
 <b>BARCODE</b> Arkusz kodów kreskowych	 Wyłącznie do oceny działania w badaniach IVD	 Przechowywać z dala od światła
 <b>LOT</b> Kod partii	 <b>GTIN</b> Globalny numer jednostki handlowej	 Przestrzegać zakresu temperatury
 Zagrożenie biologiczne	 Importer	 <b>TDF</b> Plik definicji testów
 <b>REF</b> Numer katalogowy	 <b>IVD</b> Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>	 Tą stroną do góry
 Oznaczenie zgodności CE – wyrób ten jest zgodny z obowiązującymi wymogami dotyczącymi oznaczenia CE dla wyrobu medycznego do diagnostyki <i>in vitro</i>	 <b>LLR</b> Dolna granica przypisanego zakresu	 <b>Procedure UltraSensitive</b> Procedura ultraczuła
 <b>Collect Date</b> Data pobrania	 Męczyzna	 <b>UDI</b> Niepowtarzalny kod identyfikacyjny wyrobu
 Sprawdź w instrukcji użytkowania	 Wytwórca	 <b>ULR</b> Górny limit przypisanego zakresu
 Zawartość wystarczająca na <n> testów	 <b>CONTROL -</b> Kontrola ujemna	 <b>Urine Fill Line</b> Linia napełniania moczem
 <b>CONTENT</b> Zawartość zestawu	 Wyrób niejadalny	 <b>Rx Only</b> W przypadku Stanów Zjednoczonych: Przestroga: prawo federalne zezwala na sprzedaż tego wyrobu wyłącznie lekarzowi lub na zamówienie takiego lekarza.
 <b>CONTROL</b> Kontrola	 Nazwisko pacjenta	 Termin przydatności
 Data produkcji	 Numer pacjenta	
 Wyrób do testów przy pacjencie	 Rozerwać tutaj	
 Wyrób do samokontroli	 <b>CONTROL +</b> Kontrola dodatnia	
	 <b>QS copies / PCR</b> Kopie QS na reakcję PCR, użyć kopii QS na reakcję PCR w obliczeniach wyników.	

## Pomoc techniczna

W celu uzyskania wsparcia (pomocy) technicznego należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem:  
[https://www.roche.com/about/business/roche\\_worldwide.htm](https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm)

## Wytwórca

Tab. 26 Wytwórca



Wyprodukowano w Stanach Zjednoczonych

Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany  
[www.roche.com](http://www.roche.com)

Wyprodukowano w Stanach  
Zjednoczonych

## Znaki towarowe i patenty

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

## Prawo autorskie

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



## Piśmiennictwo

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. Rajbhandari, R.M., de la Fuente, J., Karmacharya, D. et al. Understanding *Mycobacterium tuberculosis* complex in elephants through a One Health approach: a systematic review. *BMC Vet Res* 18, 262 (2022). <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03356-8>.
4. Alexander KA, Laver PN, Michel AL, et al. Novel *Mycobacterium tuberculosis* complex pathogen, *M. mungi*. *Emerg Infect Dis*. 2010;16:1296-9.
5. 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.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *MMWR Recomm Rep*. 2000;49:1-51.
7. Centers for Disease Control 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.
8. 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.
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.

## Wersja dokumentu

Informacje dotyczące wersji dokumentu	
Doc Rev. 2.0 05/2024	<p>Zaktualizowano wskazówki dotyczące bezpieczeństwa biologicznego o adaptację do przepisów miejscowych, dokonano poprawek gramatycznych oraz zamieszczono dane WHO/odniesienie do WHO.</p> <p>Przeniesiono „w wieku co najmniej 18 lat” z sekcji <b>Ograniczenia metody</b> do sekcji <b>Ocena skuteczności przy użyciu próbek klinicznych</b>.</p> <p>Zaktualizowano zapis marki <b>cobas®</b>.</p> <p>Zaktualizowano oświadczenie o właściwym organie.</p> <p>Usunięto symbol „Rx Only” z pierwszej strony.</p> <p>Zaktualizowano stronę z ujednoliconymi symbolami.</p> <p>W razie jakichkolwiek pytań prosimy o kontakt z lokalnym przedstawicielem Roche.</p>
Doc Rev. 3.0 12/2024	<p>Dodano informacje o wersji 2.0 oprogramowania systemów <b>cobas®</b> 6800/8800.</p> <p>Zaktualizowano przykład wyświetlania wyników w systemach <b>cobas®</b> 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 1.4.</p> <p>Usunięto numery P/N materiałów eksploatacyjnych; szczegółowe informacje dotyczące materiałów eksploatacyjnych znajdują się w Asystencji użytkownika systemu <b>cobas®</b> 5800 i systemów <b>cobas®</b> 6800/8800.</p> <p>W razie jakichkolwiek pytań prosimy o kontakt z lokalnym przedstawicielem Roche.</p>

Podsumowanie sprawozdania na temat bezpieczeństwa i parametrów działania można znaleźć pod następującym linkiem:  
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>