

# **cobas**<sup>®</sup> MAI

---

## **Nukleinsyratest för användning på cobas<sup>®</sup> 5800/6800/8800 Systems**

För *in vitro*-diagnostisk användning

**cobas<sup>®</sup> MAI**

P/N: 09040595190

### **För användning på cobas<sup>®</sup> 5800 System**

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

P/N: 09040609190

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

P/N: 09051953190

### **För användning på cobas<sup>®</sup> 6800/8800 Systems**

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

P/N: 07544863190 eller  
P/N: 09040609190

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

P/N: 07002238190 eller  
P/N: 09051953190

# Innehållsförteckning

<b>Avsedd användning .....</b>	<b>4</b>
<b>Sammanfattning och förklaring av testet .....</b>	<b>4</b>
<b>Reagens och material .....</b>	<b>7</b>
cobas® MAI-reagens och -kontroller .....	7
cobas omni-reagens för provberedning .....	9
Förvaring och hantering av reagens .....	10
Reagenshantering för cobas® 5800 System .....	10
Reagenshantering för cobas® 6800/8800 Systems .....	11
Extramaterial som behövs för cobas® 5800 System .....	12
Extramaterial som behövs för cobas® 6800/8800 Systems .....	12
Instrument och programvara som behövs .....	13
<b>Försiktighetsåtgärder och information om hantering .....</b>	<b>14</b>
Varningar och säkerhetsåtgärder .....	14
Reagenshantering .....	15
God laboratoriesed .....	15
<b>Provtagning, transport och förvaring av prover .....</b>	<b>16</b>
Prover .....	16
Transport och förvaring av prover .....	16
Förvaring av inaktiverade prover .....	16
<b>Bruksanvisning .....</b>	<b>16</b>
Anmärkningar om testet .....	16
Bearbetning av prover med obehandlad sputum .....	19
Bearbetning av sputum- och BAL-sediment .....	19
Sonikering av prover .....	20
Köra cobas® MAI på cobas® 5800 System .....	21
Köra cobas® MAI på cobas® 6800/8800 Systems .....	23

<b>Resultat .....</b>	<b>24</b>
Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på <b>cobas</b> ® 5800 System .....	24
Kontrollresultat på <b>cobas</b> ® 5800 System .....	24
Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på <b>cobas</b> ® 6800/8800 Systems .....	24
Tolkning av resultat .....	25
Tolkning av resultat för <b>cobas</b> ® 5800 System .....	25
Tolkning av resultat för <b>cobas</b> ® 6800/8800 Systems .....	26
Testets begränsningar .....	27
<b>Utvärdering av prestanda .....</b>	<b>29</b>
Viktiga prestandaegenskaper på <b>cobas</b> ® 6800/8800 Systems .....	29
Provinaktivering .....	29
Detektionsgräns (LoD) .....	29
Inklusivitet .....	29
Precision .....	30
Analytisk specificitet/korsreaktivitet .....	31
Interferens .....	34
Felfrekvens inom hela systemet .....	35
Korskontamination .....	35
Prestanda med kliniska prover .....	35
Systemekvivalens/systemjämförelse .....	37
<b>Ytterligare information .....</b>	<b>38</b>
Viktiga analyssegenskaper .....	38
Symboler .....	39
Teknisk support .....	40
Tillverkare .....	40
Varumärken och patent .....	40
Copyright .....	40
Referenser .....	41
Revidering av dokumentet .....	42

## Avsedd användning

cobas® MAI för användning på cobas® 5800/6800/8800 Systems är ett automatiskt, kvalitativt in vitro-diagnostiskt test som använder PCR (*Polymerase Chain Reaction*) i realtid för direkt detektion och differentiering av *Mycobacterium avium*- och *Mycobacterium intracellulare*-DNA i luftvägsprover från patienter, inklusive prover med obehandlad sputum samt nedbrutna och dekontaminerade (N-acetyl-L-cystein/NaOH [NALC-NaOH]-behandlade) sputum- och bronkoalveolärt lavage-prover (BAL). Testet är avsett att användas i kombination med mykobakteriell odling som ett hjälpmedel vid diagnos av lunginfektioner med *M. avium* och *M. intracellulare*.

## Sammanfattning och förklaring av testet

### Bakgrund

*M. avium* och *M. intracellulare* är två närbesläktade men distinkta arter av långsamt växande icke-tuberkulösa mykobakterier (NTM) som tillhör *M. avium*-komplexet (MAC). NTM är andra mykobakteriella arter än *M. tuberculosis* och *M. leprae*. NTM är generellt sett frilevande organismer som är vanligt förekommande i omgivningen.<sup>1-4</sup> De förekommer i ytvatten, kranvatten, jord, hos tama och vilda djur samt i mjölk och livsmedelsprodukter. Även om NTM kan kolonisera kroppsytor och sekret utan att orsaka sjukdom så har de associerats med fyra distinkta kliniska syndrom; lunginfektioner (MAC, *M. kansasii* och *M. abscessus*), infektioner i lymfkörtlar, ofta observerat hos pediatrika populationer, (MAC, *M. scrofulaceum*, *M. malmoense*), utbredd sjukdom hos patienter med kraftigt nedsatt immunförsvar samt hud- och mjukdels- eller skelett- och ledinfektion, vanligtvis som en konsekvens av direkt inokulation.<sup>5</sup>

MAC består för närvarande av tolv arter långsamt växande mykobakterier associerade till omgivning och djur: *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. chimaera*, *M. colombiense*, *M. arosiense*, *M. bouchedurhonense*, *M. marseillense*, *M. timonense*, *M. indicus pranii*, *M. mantenii*, *M. vulneris*, *M. yongonense*.<sup>6,7</sup> Det finns 28 serovarer av *M. avium* och *M. intracellulare*<sup>8</sup>, och *M. avium* består av 4 underarter; *M. avium* subsp. *avium*, *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, *M. avium* subsp. *hominissuis* samt *M. avium* subsp. *silvaticum*.<sup>6</sup> *M. avium* och *M. intracellulare* (MAI) är de två arter av MAC som oftast associeras med sjukdom hos människor.<sup>5</sup>

MAI är primärt lungpatogener som ofta påverkar personer med nedsatt immunförsvar (t.ex. patienter med AIDS, hår-cellsleukemi eller som får immunhämmande kemoterapi). MAI överförs via inandning till luftvägarna och via förtäring till matsmältningssystemet. Det finns inga belägg för överföring från djur till människa eller från människa till människa och är således betraktat som icke smittsamt. Lunginfektioner orsakade av MAI associeras med kroniska lungsjukdomar såsom KOL, kronisk bronkit, bronkiectasi, cystisk fibros och lungcancer. MAI kan också orsaka osteomyelit, tenosynovit och synovit, och utbredd MAI-infektion kan involvera lymfkörtlar, centrala nervsystemet, lever, mjälte och benmärg. Hudinfektioner uppstår oftast genom direkt inokulation. MAI är den vanligaste orsaken till infektion av NTM hos patienter med AIDS. *M. avium* utgör mer än 95 % av infektionerna hos patienter med AIDS som utvecklar MAI-infektioner. *M. intracellulare* står för 40 % av infektionerna hos immunkompetenta patienter. MAI-lungsjukdom uppvisar oftast två typer av klinisk bild; som en apikal fibrokavitär lungsjukdom eller som Lady Windermere-syndromet som associeras med nodulära eller fibronodulära lunginfiltrat och hosta hos i övrigt friska, smala, äldre kvinnor.

Incidensen av NTM-sjukdom är svår att fastställa eftersom NTM betraktas som icke smittsamt och därför inte måste rapporteras till offentliga hälsomyndigheter i flera länder. Uppskattad incidens baseras på antalet NTM-isolat som rapporterats och verkar vara liknande för de flesta utvecklade länder med ett intervall från 1,0 till 1,8 fall per 100 000 invånare.<sup>5,9</sup> Vid en studie i Oregon 2009 uppskattades ett årligt värde till 5,6 fall av MAC-lunginfektion per

100 000 invånare, där de flesta fallen (60 %) berörde kvinnor.<sup>10</sup> Det högsta antalet utbredda fall av MAI som rapporterats i USA var 37 000 under 1994, då AIDS-epidemin nådde sin topp, och incidensen har minskat sedan högaktiv anti-retroviral behandling började användas. Vid en övervakningsstudie uppskattades incidensen av NTM-lunginfektioner hos patienter utan HIV-infektion till 0,72–0,74 per 100 000 invånare i Frankrike mellan 2001–2003.<sup>11</sup> Vid en liknande studie i Nya Zeeland 2004 uppskattades incidensen av NTM-sjukdom till 1,92 per 100 000 invånare.<sup>12</sup>

Diagnos av MAI-lunginfektion ska övervägas hos symptomatiska patienter som uppvisar nodulära eller kavitära opaciteter vid lungröntgen, eller som vid en högupplöst datortomografi uppvisar multifokal bronkiektasi med flera små noder, när infektion med MTB och andra tillämpliga diagnoser har uteslutits.<sup>5</sup> AFB-utstryk och mykobakteriell odling rekommenderas för diagnos. För diagnos krävs följande:

- (i) positiva mykobakteriella odlingar från minst två separata upphostade sputumprover, eller
- (ii) positiva mykobakteriella odlingsresultat från minst en bronkialsköljning eller bronkoalveolärt lavage, eller
- (iii) transbronkiell eller annan lungbiopsi med mykobakteriella histopatologiska egenskaper och positiv odling från biopsi samt ett eller flera sputumprover eller bronkialsköljningar som är odlingspositiva för MAC bekräftar infektion.<sup>5</sup>

NTM, inklusive MAC, ska identifieras till artnivå. Behandling involverar 2 eller 3 första linjens antimikrobiella medel i 12 månader. Första linjens behandling inkluderar makrolider (klaritromycin eller azitromycin), etambutol och rifamyciner (rifampin), och andra linjens behandling med antimikrobiella medel inkluderar aminoglykosider (streptomycin eller amikacin). Rutinmässiga känslighetstester av MAC-isolat rekommenderas endast för klaritromycin på grund av dålig korrelation mellan in vitro-resultat och kliniska utfall för andra läkemedel.<sup>5</sup>

Presumtiv diagnos av MAC-infektion kan fastställas baserat på både klinisk bild och radiografiska fynd, och kan bekräftas genom återställning av organismen i mykobakteriell odling så som beskrivs ovan<sup>5</sup>, men odlingen går långsamt och kan ta dagar till veckor. Alternativt kan nukleinsyraamplifieringstester detektera och differentiera *M. avium* och *M. intracellulare* direkt från kliniska prover på några timmar för att få en snabbare diagnos och kunna påbörja empirisk behandling. Fenotypisk testning av känslighet mot läkemedel (DST) krävs dock för att bekräfta effektiviteten av den empiriska behandlingen, och det kan ta flera dagar till veckor för att få resultat för detta efter isolering och identifiering av patogenerna, beroende på metod.

## Förklaring av testet

cobas® MAI för användning på cobas® 5800/6800/8800 är ett automatiskt, kvalitativt realtids-PCR-test som är utformat för att detektera och differentiera *Mycobacterium avium*- och *Mycobacterium intracellulare*-DNA i luftvägsprover från patienter, inklusive prover med obehandlad sputum samt nedbrutna och dekontaminerade NALC-NaOH-behandlade sputum- och BAL-sedimentprover. Internkontroll-DNA för övervakning av hela provberednings- och PCR-amplifieringsprocessen tillsätts i varje prov under provbearbetningen på cobas® 5800/6800/8800 Systems. Dessutom används en positiv kontroll med låg titer och en negativ kontroll i testet.

## Användningsprinciper

cobas® MAI är baserat på preanalytisk förvätskning och mykobakteriell inaktivering av prover följt av sonikering av prover och helt automatisk provberedning (extraktion och rening av nukleinsyra) samt PCR-amplifiering och detektion.

Förvätskning och mykobakteriell inaktivering av prover sker samtidigt under provinkuberingen med cobas® Microbial Inactivation Solution (MIS). Sonikering av det förvätskade och inaktiverade provet utförs innan det laddas i cobas® 5800/6800/8800 Systems. cobas® 5800 System är utformat som ett integrerat instrument. cobas® 6800/8800 Systems består av en provinmatningsmodul, överföringsmodul, processmodul och analysmodul. Automatisk datahantering utförs av cobas® 5800 eller cobas® 6800/8800 Systems-programmen som tilldelar testresultat för alla tester som positiva, negativa eller ogiltiga. Resultaten kan visas direkt i systemfönstret, exporteras eller skrivas ut som en rapport.

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

Selektiv amplifiering av target-nukleinsyra från provet uppnås genom användning av targetspecifika forward- och reverse-primers för *M. avium*-komplexet som väljs från en maximalt konserverad region inom respektive target-organism. MAC detekteras med en selektiv uppsättning primers, och *M. avium* och *M. intracellulare* differentieras med två separata prover inom amplifieringsregionen (16S rRNA-genen). Selektiv amplifiering av DNA IC uppnås genom användning av sekvensspecifika forward- och reverse-primers som väljs för att inte ha någon homologi med targetregionerna för *M. avium*-komplexet. Ett värmebeständigt DNA-polymerasenzym används för PCR-amplifiering. Target- och DNA-IC-sekvenserna amplifieras samtidigt med hjälp av en universell PCR-amplifieringsprofil med fördefinierade temperatursteg och antal cykler. I master-mixen ingår deoxiuridintrifosfat (dUTP) istället för deoxitymidintrifosfat (dTTP), som inkorporerats i det syntetiserade DNA:t (amplikon). Eventuellt kontaminerande amplikon från tidigare PCR-körningar elimineras med hjälp av AmpErase-enzymet (ingår i PCR-master-mixen) under det första termocyklingssteget.<sup>13</sup> Nybildade amplikon elimineras dock inte eftersom AmpErase-enzymet inaktiveras när det utsätts för temperaturer över 55 °C.

cobas® MAI-mastermixen innehåller en detektionsprob vardera för *M. avium* och *M. intracellulare* och en för DNA-IC. De target-specifika proberna är märkta med olika fluorescerande reporterfluorokromer som möjliggör samtidig detektion av *M. avium*-target, *M. intracellulare*-target och DNA-IC i tre olika target-kanaler.<sup>14,15</sup> Fluorescenssignalen för intakta prover hämmas av en quencherfluorokrom när den inte är bunden till target-sekvensen. Under PCR-amplifieringssteget hybridiserar proberna specifikt till respektive target på det enkelsträngade DNA:t, vilket resulterar i klyvning av proben genom 5'-till-3'-exonukleasaktiviteten i DNA-polymeraset, vilket i sin tur orsakar separation av reporter- och quencherfluorokromen och gör att en fluorescenssignal genereras. För varje PCR-cykel genereras ökande mängder klyvda prover, och som en följd av detta ökar den sammanlagda signalen för reporterfluorokromen. Realtidsdetektion och urskiljning av PCR-produkter uppnås genom att mäta fluorescensen i de frisläppta reporterfluorokromerna för targets för *M. avium*-komplexet respektive DNA-IC.

# Reagens och material

## cobas® MAI-reagens och -kontroller

Material som medföljer för cobas® MAI anges i Tabell 1. Alla öppnade reagens och kontroller måste förvaras enligt rekommendationerna i Tabell 1 till Tabell 4. Material som behövs men inte medföljer anges i Tabell 2 till Tabell 4 och Tabell 8 till Tabell 10.

**Tabell 1** cobas® MAI

### cobas® MAI

Förvaras i 2–8 °C

Kassett med 384 tester (P/N 09040595190)

Kitkomponenter	Reagensingredienser	Kvantitet per kit
<b>Proteinaslösning (PASE)</b>	Trisbuffert, < 0,05 % EDTA, kalciumklorid, kalciumacetat, 8 % proteinas, glycerol EUH210: Säkerhetsdatablad finns att rekvirera. EUH208: Innehåller subtilisin från <i>Bacillus subtilis</i> . Kan orsaka allergisk reaktion.	38 ml
<b>Internkontroll-DNA (DNA-IC)</b>	Trisbuffert, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % icke-MAI-relaterat DNA-konstrukt, 0,002 % Poly rA-RNA (syntetiskt), < 0,1 % natriumazid	38 ml
<b>Elueringsbuffert (EB)</b>	Trisbuffert, 0,2 % metyl-4 hydroxibensoat	38 ml
<b>Master Mix-reagens 1 (MMX-R1)</b>	Manganacetat, kaliumhydroxid, < 0,1 % natriumazid	14,5 ml
<b>MAI Master Mix-reagens 2 (MAI MMX-R2)</b>	Tricinbuffert, kaliumacetat, EDTA, glycerol, 18 % dimetylsulfoxid, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,1 % Tween 20, < 0,1 % natriumazid, < 0,1 % Z05 DNA-polymeras, < 0,1 % AmpErase-enzym (uracil-N-glykosylas) (mikrobiellt), < 0,01 % forward- och reverse-primers för internkontroll, < 0,01 % uppströms- och nedströms-MAI-primers, < 0,01 % fluorescensmärkta oligonukleotidprober specifika för MAI och internkontroll-DNA, < 0,01 % oligonukleotid-aptamer	17,5 ml

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

Förvaras i 2–8 °C

För användning på cobas® 5800 System (P/N 09040609190)

För användning på cobas® 6800/8800 Systems (P/N 07544863190 eller P/N 09040609190)

Kitkomponenter	Reagensingredienser	Kvantitet per kit
<b>MAI Positive Control (MAI (+) C)</b>	Trisbuffert, < 0,05 % natriumazid, < 0,05 % EDTA, 0,002 % Poly rA, < 0,01 % icke infektiöst plasmid-DNA (mikrobiellt) innehållande genomsekvenser från <i>M. avium</i> och <i>M. intracellulare</i>	16 ml (16 × 1 ml)

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

Förvaras i 2–8 °C


För användning på cobas® 5800 System (P/N 09051953190)

För användning på cobas® 6800/8800 Systems (P/N 07002238190 eller P/N 09051953190)

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

## cobas omni-reagens för provberedning

Tabell 4 cobas omni-reagens för provberedning\*

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

\* Dessa reagens ingår inte i cobas® MAI-kitet. Se lista med ytterligare material som behövs (Tabell 8 till Tabell 10).

\*\* Produktsäkerhetsmärkningen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

\*\*\* Farlig substans eller blandning.

## Förvaring och hantering av reagens

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

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

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

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

## Reagenshantering för cobas® 5800 System

Reagens som laddas i cobas® 5800 System förvaras i rätt temperatur och deras utgångsdatum övervakas av systemet. Systemet tillåter endast att reagens används om alla villkor som anges i Tabell 6 är uppfyllda. Systemet förhindrar automatiskt användning av reagens som har passerat utgångsdatum. Tabell 6 visar de villkor för hantering av reagens som upprätthålls av cobas® 5800 System.

**Tabell 6** Villkor för hållbarhet för reagens som upprätthålls av cobas® 5800 System

Reagens	Utgångsdatum för kitet	Hållbarhet i öppnat kit	Antal körningar som kitet kan användas	Hållbarhet i instrumentet
cobas® MAI	Datumet har inte passerats	90 dagar från första användning	Max 40 körningar	Max 36 dagar <sup>b</sup>
cobas® MAI Positive Control Kit	Datumet har inte passerats	Ej tillämpligt <sup>a</sup>	Ej tillämpligt	Max 36 dagar <sup>b</sup>
cobas® Buffer Negative Control Kit	Datumet har inte passerats	Ej tillämpligt <sup>a</sup>	Ej tillämpligt	Max 36 dagar <sup>b</sup>
cobas omni Lysis Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning <sup>b</sup>	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni MGP Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning <sup>b</sup>	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni Specimen Diluent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning <sup>b</sup>	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni Wash Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning <sup>b</sup>	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt

<sup>a</sup> Reagens för engångsbruk.

<sup>b</sup> Tiden mäts från första gången reagenset laddas i cobas® 5800 System.

## Reagenshantering för cobas® 6800/8800 Systems

Reagens som laddas i cobas® 6800/8800 Systems förvaras i rätt temperatur och deras utgångsdatum övervakas av systemet. cobas® 6800/8800 Systems tillåter endast att reagens används om alla villkor som anges i Tabell 7 är uppfyllda. Systemet förhindrar automatiskt användning av reagens som har passerat utgångsdatum. Tabell 7 visar de villkor för hantering av reagens som upprätthålls av cobas® 6800/8800 Systems.

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

Reagens	Utgångsdatum för kitet	Hållbarhet i öppnat kit	Antal körningar som kitet kan användas	Hållbarhet i instrumentet (sammanlagd tid i instrumentet utanför kylskåp)
cobas® MAI	Datomet har inte passerats	90 dagar från första användning	Max 40 körningar	Max 40 timmar
cobas® MAI Positive Control Kit	Datomet har inte passerats	Ej tillämpligt <sup>a</sup>	Ej tillämpligt	Max 10 timmar
cobas® Buffer Negative Control Kit	Datomet har inte passerats	Ej tillämpligt <sup>a</sup>	Ej tillämpligt	Max 10 timmar
cobas omni Lysis Reagent	Datomet har inte passerats	30 dagar från laddning <sup>b</sup>	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni MGP Reagent	Datomet har inte passerats	30 dagar från laddning <sup>b</sup>	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni Specimen Diluent	Datomet har inte passerats	30 dagar från laddning <sup>b</sup>	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni Wash Reagent	Datomet har inte passerats	30 dagar från laddning <sup>b</sup>	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt

<sup>a</sup> Reagens för engångsbruk.

<sup>b</sup> Tiden mäts från första gången reagenset laddas i cobas® 6800/8800 Systems.

## Extramaterial som behövs för cobas® 5800 System

**Tabell 8** Material och förbrukningsartiklar för användning på cobas® 5800 System

Material	P/N
<b>cobas omni</b> Processing Plate 24	08413975001
<b>cobas omni</b> Amplification Plate 24	08499853001
<b>cobas omni</b> Liquid Waste Plate 24	08413983001
Tip CORE TIPS med filter, 1 ml	04639642001
Tip CORE TIPS med filter, 300 µl	07345607001
<b>cobas omni</b> Liquid Waste Container	07094388001
<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
Påse för fast avfall eller Påse för fast avfall med insats	07435967001 eller 08030073001

## Extramaterial som behövs för cobas® 6800/8800 Systems

**Tabell 9** Material och förbrukningsartiklar för användning på cobas® 6800/8800 Systems

Material	P/N
<b>cobas omni</b> Processing Plate	05534917001
<b>cobas omni</b> Amplification Plate	05534941001
<b>cobas omni</b> Pipette Tips	05534925001
<b>cobas omni</b> Liquid Waste Container	07094388001
<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
Påse för fast avfall och behållare för fast avfall eller Påse för fast avfall med insats och kit-låda för påse för fast avfall	07435967001 och 07094361001 eller 08030073001 och 08387281001

**Tabell 10** Övrigt material och förbrukningsartiklar som krävs för det preanalytiska arbetsflödet

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

\* Användning av andra provrör än de som rekommenderas ovan måste verifieras av användaren innan arbetsflödet för cobas® MAI implementeras i laboratoriet.

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

\*\*\* Mer information om streckkodsspecifikationer finns i användarassistansen till cobas® 5800/6800/8800 Systems och/eller i användarhandboken. Användning av andra streckkodsetiketter än de som rekommenderas ovan måste verifieras av användaren innan arbetsflödet för cobas® MAI implementeras i laboratoriet. Kontakta Roche kundsupport om du vill ha mer information om kompatibla streckkodsetiketter och förslag på verifiering av kompatibilitet. Användning av icke-kompatibla streckkodsetiketter kan göra att provrören skadas under sonikeringen, vilket kan leda till kontaminering av instrumentet.

## Instrument och programvara som behövs

cobas® 5800-programmet och cobas® MAI-analyspaketet för cobas® 5800 System måste installeras på instrumentet cobas® 5800. Programmet Data Manager och en pc för cobas® 5800 System medföljer systemet.

cobas® 6800/8800 System-programmet och cobas® MAI-analyspaketet för användning på cobas® 6800/8800 System måste installeras på instrumentet/instrumenten cobas® 6800/8800. IG-servern (Instrument Gateway) medföljer systemet.

**Tabell 11** Instrument

Utrustning	P/N
cobas® 5800 System	08707464001
cobas® 6800 System (flyttbar plattform)	06379672001
cobas® 6800 System (fast plattform)	05524245001
cobas® 8800 System	05412722001
Provinmatningsmodul	06301037001

Mer information finns i användarassistansen och/eller användarhandboken till cobas® 5800 System eller cobas® 6800/8800 Systems.

# Försiktighetsåtgärder och information om hantering

## Varningar och säkerhetsåtgärder

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

- Endast för *in vitro*-diagnostisk användning.
- Alla patientprover ska betraktas som potentiellt smittbärande. Därför ska alla biologiska prover hanteras som smittbärande i enlighet med säkra laborierutiner och relevant riskbedömning som beskrivs i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, i CLSI-dokumentet M29-A4 och i Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual från WHO.<sup>16-18</sup> Endast personal som har erfarenhet av att hantera smittbärande material och att använda **cobas**® MAI och **cobas**® 5800/6800/8800 Systems får utföra denna procedur.
- Samtlig personal ska använda personlig skyddsutrustning inklusive laborierock, engångshandskar, skyddsglasögon och andningsskydd i enlighet med de säkerhetsprocedurer och rutiner för arbete med kemikalier och biologiska prover som gäller på arbetsplatsen.
- Förvätskning och mykobakteriell inaktivering av prover med MIS ska utföras i ett biologiskt säkerhetsskåp (BSC) med biosäkerhetsnivå B3<sup>18</sup> i enlighet med lokala riktlinjer och regler på arbetsplatsen<sup>16</sup> samt baserat på en relevant riskbedömning.
- För att den mykobakteriella inaktiveringen ska lyckas måste de procedurer som beskrivs i det här dokumentet följas samt blandning av provet med MIS slutföras korrekt. Preanalytisk behandling av patientprover med MIS minskar risken för mykobakteriell infektion men tar inte bort den fullständigt.
- Vid spill av prover i MIS (som innehåller guanidintiocyanat) ska du se till att det inte kommer i kontakt med desinficeringsmedel som innehåller natriumhypoklorit, till exempel blekmedel. Denna blandning kan bilda en mycket giftig gas.
- Om du spiller prover i MIS ska du FÖRST rengöra med lämplig laborieredetergent och vatten och därefter med 70-procentig etanol.
- MIS är ljuskänsligt och levereras i ljusskyddade flaskor. MIS måste förvaras upprätt.
- Använd endast de förbrukningsartiklar som medföljer eller efterfrågas för att säkerställa den fastställda testprestandan.
- Följ noga de rutiner och riktlinjer som medföljer för att säkerställa att testet utförs korrekt. Avvikelse från rutinerna och riktlinjerna kan göra att den fastställda testprestandan inte blir optimal.
- Falskt positiva resultat kan förekomma om kontrollen av kontaminering via carryover av prover är otillräcklig vid provhantering och -bearbetning.
- Säkerhetsdatablad (SDS) erhålls på begäran från Roche kundsupport.
- Informera berörd lokal myndighet om eventuella allvarliga incidenter som inträffar när du använder den här analysen.

## Reagenshantering

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

## God laboratoriesed

- Pipettera inte med munnen.
- Ät, drick eller rök inte i laboratoriet.
- Provinaktivering med MIS ska utföras i ett biologiskt säkerhetsskåp (BSC) med biosäkerhetsnivå B3<sup>18</sup> eller i en annan biosäkerhetskontrollerad miljö i enlighet med lokala riktlinjer och regler på arbetsplatsen<sup>16</sup> samt baserat på en relevant riskbedömning.
- Använd laboratoriehandskar, laboratorierock, ögonskydd och andningsskydd när du hanterar prover och reagens. Undvik att förorena handskarna när du hanterar prover och kontroller. Handskar måste bytas mellan hantering av prover och **cobas® MAI**, **cobas® MAI Positive Control Kit**, **cobas® Buffer Negative Control Kit**, **cobas omni**-reagens och förbrukningsartiklar för att förhindra kontamination.
- Desinficera och tvätta händerna noga efter hantering av prover och reagens, och efter att du har tagit av dig handskarna.
- Rengör och desinficera noga alla arbetsytor i laboratoriet med en nyberedd lösning bestående av 0,6 % natrium- eller kaliumhypoklorit i destillerat eller avjoniserat vatten. Torka därefter av ytan med 70-procentig etanol.
- Om spill förekommer på **cobas® 5800/6800/8800 Systems** ska anvisningarna i användarassistansen och/eller användarhandboken till **cobas® 5800** eller **cobas® 6800/8800 Systems** följas för att rengöra och dekontaminera ytorna på instrumenten på rätt sätt.

# Provtagning, transport och förvaring av prover

**Obs! Hantera alla prover och kontroller som potentiellt smittbärande.**

## Prover

Obehandlad sputum och NALC-NaOH-behandlat sputum- och BAL-sediment kan användas med **cobas® MAI**.

## Transport och förvaring av prover

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

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

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

## Förvaring av inaktiverade prover

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

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

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

# Bruksanvisning

## Anmärkningar om testet











- Använd inte **cobas® MAI**, **cobas® MAI Positive Control Kit**, **cobas® Buffer Negative Control Kit**, MIS eller **cobas omni**-reagens efter utgångsdatum.
- Återanvänd inte förbrukningsartiklar. De är endast avsedda för engångsbruk.
- Kontrollera att de värmebeständiga streckkodsetiketterna på provrören är riktade mot och syns genom öppningarna längs upp på sidan av MPA-provracken. I bild 1 och i användarassistansen och/eller användarhandboken till **cobas® 5800/6800/8800 Systems** finns specifikationer för streckkoderna samt ytterligare information om laddning av provrör.
- Kontrollera att locken är borttagna från provrören efter sonikeringen och innan de laddas i **cobas® 5800/6800/8800 Systems**.
- I användarassistansen och/eller användarhandboken till **cobas® 5800/6800/8800 Systems** finns instruktioner om hur underhåll av instrumenten ska utföras.

Innan körning av MAI på cobas® 5800/6800/8800 Systems måste proverna bearbetas enligt följande avsnitt: ”Bearbetning av prover med obehandlad sputum” eller ”Bearbetning av sputum- och BAL-sediment” och ”Sonikering av prover”. Förkortade representativa arbetsflöden sammanfattas i Tabell 12 för prover med obehandlad sputum och i Tabell 13 för sedimentprover. Mer information finns i de efterföljande avsnitten.










**Obs!** Provinaktivering med MIS ska utföras i ett biologiskt säkerhetsskåp (BSC) med biosäkerhetsnivå B3<sup>18</sup> eller enligt andra åtgärder för biosäkerhet i enlighet med lokala riktlinjer och regler på arbetsplatsen samt baserat på en relevant riskbedömning.

**Obs!** Sonikering av MIS-behandlade prover kan utföras i ett BSL-2-laboratorium eller en annan biosäkerhetskontrollerad miljö i enlighet med lokala riktlinjer och regler på arbetsplatsen.

**Tabell 12** Översikt över arbetsflöde – prover med obehandlad sputum

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

Tabell 13 Översikt över arbetsflöde – sedimentprover

BSL-3 (BSC)	1		0,2 ml för 1 test 0,4 ml för 2 tester 0,6 ml för 3 tester	Vortexa och överför 0,2 till 0,6 ml sedimentprov till ett sekundärrör med skruvlock
	2		<b>5:1</b> 	Tillsätt 5 delar MIS i 1 del sedimentprov <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 ml MIS för 1 test (0,2 ml sedimentprov)</li> <li>• 2 ml MIS för 2 tester (0,4 ml sedimentprov)</li> <li>• 3 ml MIS för 3 tester (0,6 ml sedimentprov)</li> </ul>
	3		30–60 sekunder	Skaka kraftigt eller vortexa i 30–60 sekunder
	4		≥ 60 minuter	Inkubera provet i minst 60 minuter i 15–30 °C (rumstemperatur)
	5		30–60 sekunder	Skaka kraftigt eller vortexa i 30–60 sekunder
BSL-2	6		5 minuter	Sonikera det MIS-behandlade provet
	7		Max 1 minut	Centrifugera provet i maximalt 1 minut vid en maximal RCF på 3 000 × g
	8			Ladda det öppna provet i <b>cobas</b> ® 5800 eller <b>cobas</b> ® 6800/8800 Systems och starta körningen med sedimentprovet

## Bearbetning av prover med obehandlad sputum

- Bekräfta att behållaren för obehandlad sputum är korrekt märkt och innehåller minst 0,4 ml sputum. Om provet har förvarats fruset ska det tinas och värmas till rumstemperatur.
- Vänd MIS-flaskorna två till fyra gånger innan användning.
- Öppna behållaren med sputumprovet och tillsätt ungefär två delar MIS i en del sputumprov (exempelvis 2 ml MIS i 1 ml sputumprov) genom att uppskatta volymen visuellt och använda en engångspipett. Förslut behållaren med sputumprovet ordentligt.
- Förslut MIS-flaskorna omedelbart efter användning.
- Skaka kraftigt eller vortexa i 30–60 sekunder.

**Obs!** Säkerställ att hela sputumprovet blandas med MIS.

- Inkubera provet i minst 60 minuter i 15–30 °C (rumstemperatur).

**Obs!** Villkor för maximal förvaringstid finns i avsnittet ”Förvaring av inaktiverade prover”.

- Skaka kraftigt eller vortexa i 30–60 sekunder eller tills provet är fullständigt homogeniserat.
- Överför minst 1,2 ml och maximalt 3,6 ml MIS-behandlat sputumprov till ett värmebeständigt streckkodsmärkt 5 ml-provrör av polypropen med skruvlock, med måtten 75 × 13 mm och rund botten (Sarstedt: provrör P/N 60.504.010, skruvlock P/N 65.163). Stäng provröret ordentligt.

**Obs!** Bekräfta innan provöverföring att streckkodsinformationen på behållaren med sputumprovet och 5 ml-sekundärröret överensstämmer.

**Obs!** Se Tabell 14.

- Sonikera inaktiverade prover enligt anvisningarna i avsnittet ”Sonikering av prover” innan körning av cobas® MAI.

## Bearbetning av sputum- och BAL-sediment

- Bekräfta att behållaren för NALC-NaOH-behandlat sputum- och BAL-sediment är korrekt märkt och innehåller minst 0,2 ml prov. Om provet har förvarats fruset ska det tinas och värmas till rumstemperatur.
- Vortexa sedimentprovet i minst 10 sekunder.
- Överför minst 0,2 ml och maximalt 0,6 ml sedimentprov till ett streckkodsmärkt 5 ml-rör av polypropen med skruvlock, med måtten 75 × 13 mm och rund botten (Sarstedt: provrör P/N 60.504.010, skruvlock P/N 65.163).

**Obs!** Bekräfta innan provöverföring att streckkodsinformationen på provbehållaren och 5 ml-sekundärröret överensstämmer.

- Vänd MIS-flaskorna två till fyra gånger innan användning.
- Tillsätt fem delar MIS i en del prov (t.ex. 1 ml MIS i 0,2 ml prov). Stäng röret ordentligt.

**Obs!** Se Tabell 14.

- Förslut MIS-flaskorna omedelbart efter användning.
- Skaka kraftigt 10 till 20 gånger eller vortexa i 30–60 sekunder.

**Obs!** Säkerställ att hela provet blandas med MIS.

- Inkubera provet i minst 60 minuter i 15–30 °C (rumstemperatur).

**Obs!** Villkor för maximal förvaringstid finns i avsnittet ”Förvaring av inaktiverade prover”.

- Skaka kraftigt eller vortexa i 30–60 sekunder.
- Sonikera inaktiverade prover enligt anvisningarna i avsnittet ”Sonikering av prover” innan körning av cobas® MAI.

**Tabell 14** Volymkrav för cobas® Microbial Inactivation Solution-behandlade prover vid körning av cobas® MAI

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

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

## Sonikering av prover

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

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

**Obs!** Kontrollera att varje provrör har en streckkodsetikett.

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

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



- Starta provrörssonikatoren.
- Välj den fördefinierade sonikeringsprofilen ”Respiratory Samples”.
- Öppna provrörssonikatoren och sätt in MPA-racket enligt tillverkarens instruktioner.
- Stäng provrörssonikatoren.
- Starta sonikeringskörningen.
- Bekräfta att sonikeringskörningen lyckades och ta ut MPA-racket.
  - Obs!** Provrören förväntas bli varma under sonikeringskörningen. Var försiktigt när du tar ut MPA-racket med provrör.
  - Obs!** Om sonikeringen misslyckas läser du tillverkarens instruktioner, åtgärdar felet och upprepar sonikeringskörningen efter att proverna har fått svalna i minst 15 minuter.
- MIS-behandlade och sonikerade prover kan nu köras med **cobas® MAI** eller förvaras enligt anvisningarna i avsnittet ”Förvaring av inaktiverade prover”.

## Köra cobas® MAI på cobas® 5800 System

Minimiprovolymen för körning av **cobas® MAI** är 1,2 ml, varav 850 µl bearbetas. En detaljerad beskrivning av test-proceduren finns i användarassistansen och/eller användarhandboken till **cobas® 5800 System**. Bild 2 sammanfattar proceduren nedan.

- Innan borttagning av lock från rör och laddning av prover i **cobas® 5800 System** rekommenderar vi att cell- och matrisrester pelleteras genom provcentrifugering i maximalt 1 minut vid en maximal RCF på  $3\,000 \times g$ .
- En och samma körning kan ha en kombination av prover (obehandlad sputum, sediment).

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

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

**Bild 2** cobas® MAI-testprocedur på cobas® 5800 System

<b>1</b>	Logga in i systemet
<b>2</b>	Ladda prover i systemet <ul style="list-style-type: none"><li>• Ta bort locket på röret</li><li>• Överför röret direkt till ett rack</li><li>• Ladda provrack i systemet</li><li>• Systemet förbereds automatiskt</li><li>• Beställ tester<ul style="list-style-type: none"><li>• Välj "Raw sputum" för beställning av MIS-behandlade prover från obehandlad sputum</li><li>• Välj "Sediment" för beställning av MIS-behandlade prover från sputum-/BAL-sediment</li></ul></li></ul>
<b>3</b>	Fyll på reagens och förbrukningsartiklar vid uppmaning från systemet <ul style="list-style-type: none"><li>• Ladda testspecifika reagenskassetter</li><li>• Ladda kontroll-minirack</li><li>• Ladda processpetsar</li><li>• Ladda elueringspetsar</li><li>• Ladda processplattor</li><li>• Ladda vätskeavfallsplattor</li><li>• Ladda amplifieringsplattor</li><li>• Ladda MGP-kassetter</li><li>• Fyll på spädningsbuffert</li><li>• Fyll på lyseringsreagens</li><li>• Fyll på tvättreagens</li></ul>
<b>4</b>	Starta körningen genom att trycka på knappen "Start processing" i användargränssnittet. Alla efterföljande körningar startar automatiskt om de inte skjuts upp manuellt.
<b>5</b>	Granska och exportera resultat
<b>6</b>	Förslut alla provrör som uppfyller kraven för minimivolym för framtida användning om det behövs Gör i ordning instrumentet <ul style="list-style-type: none"><li>• Mata ut tomma kontroll-minirack</li><li>• Mata ut tomma testspecifika reagenskassetter</li><li>• Töm lådan för amplifieringsplattan</li><li>• Töm vätskeavfallet</li><li>• Töm det fasta avfallet</li></ul>

## Köra cobas® MAI på cobas® 6800/8800 Systems

Minimiprovolymen för körning av cobas® MAI är 1,2 ml, varav 850 µl bearbetas. En detaljerad beskrivning av hur instrumentet används finns i användarassistansen och/eller användarhandboken till cobas® 6800/8800 Systems.

Bild 3 sammanfattar proceduren nedan.

- Innan borttagning av lock från rör och laddning av prover i cobas® 6800/8800 Systems rekommenderar vi att cell- och matrisrester pelleras genom provcentrifugering i maximalt 1 minut vid en maximal RCF på  $3\,000 \times g$ .
- En och samma körning kan ha en kombination av prover (obehandlad sputum, sediment).

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

**Obs!** Att utesluta centrifugeringssteget kan göra att mängden koagel ökar på cobas® 6800/8800 Systems.

**Bild 3** cobas® MAI-procedur på cobas® 6800/8800 Systems

<b>1</b>	<p>Logga in i systemet Tryck på Start för att förbereda systemet Beställ tester</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Välj "Raw sputum" för beställning av MIS-behandlade prover från obehandlad sputum</li> <li>• Välj "Sediment" för beställning av MIS-behandlade prover från sputum-/BAL-sediment</li> </ul>
<b>2</b>	<p>Fyll på reagens och förbrukningsartiklar vid uppmaning från systemet</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ladda testspecifik reagenskasset</li> <li>• Ladda kontrollkassetter</li> <li>• Ladda pipettspetsar</li> <li>• Ladda processplattor</li> <li>• Ladda MGP-reagens</li> <li>• Ladda amplifieringsplattor</li> <li>• Fyll på spådningsbuffert</li> <li>• Fyll på lyseringsreagens</li> <li>• Fyll på tvättreagens</li> </ul>
<b>3</b>	<p>Ladda prover i systemet</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• För varje prov <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ Ta bort locket på röret</li> <li>◦ Överför röret till ett rack</li> </ul> </li> <li>• Ladda provracket och racket för igensatta spetsar på provinmatningsmodulen</li> <li>• Bekräfta att proverna har tagits emot i överföringsmodulen</li> </ul>
<b>4</b>	Starta körningen
<b>5</b>	Granska och exportera resultat
<b>6</b>	<p>Förslut alla provrör som uppfyller kraven för minimivolymer för framtida användning om det behövs Gör i ordning instrumentet</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mata ut tomma kontrollkassetter</li> <li>• Töm lådan för amplifieringsplattan</li> <li>• Töm vätskeavfallet</li> <li>• Töm det fasta avfallet</li> </ul>

## Resultat

cobas® MAI detekterar och differentierar *M. avium*- och *M. intracellulare*-DNA för prover och kontroller, och visar testvaliditet samt enskilda target-resultat.

### Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på cobas® 5800 System

- En negativ kontroll [(-) Ctrl] och en positiv kontroll [MAI (+) C] bearbetas minst var 72:a timme och för varje ny kitlot. Positiva och/eller negativa kontroller kan schemaläggas mer frekvent baserat på laboratorierutinerna och/eller de gällande lokala bestämmelserna.
- Kontrollera om det finns flaggor till resultaten i cobas® 5800-programmet och/eller i rapporten för att säkerställa giltigheten för resultaten.

Ogiltigförklarande av resultat utförs automatiskt av cobas® 5800-programmet baserat på misslyckade negativa eller positiva kontroller.

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

### Kontrollresultat på cobas® 5800 System

Resultaten för kontrollerna visas i cobas® 5800-programmet i appen ”Controls”.

- Kontroller är markerade med ”Valid” (Giltig) i kolumnen ”Control result” (Kontrollresultat) om alla targets för kontrollen har rapporterats som giltiga. Kontroller är markerade med ”Invalid” (Ogiltig) i kolumnen ”Control result” om alla targets eller en target för kontrollen har rapporterats som ogiltig.
- Kontroller som är markerade med ”Invalid” har en flagga i kolumnen ”Flags” (Flaggor). Mer information om varför kontrollen har rapporterats som ogiltig (inklusive flagginformation) visas i vyn med detaljerad information.
- Om en av kontrollerna är ogiltig måste du upprepa testningen av alla kontroller och alla associerade prover.

### Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på cobas® 6800/8800 Systems

- En negativ kontroll [(-) Ctrl] och en positiv kontroll [MAI (+) C] bearbetas med varje provomgång för en begärd resultattyp.
- Kontrollera om det finns flaggor till resultaten i cobas® 6800/8800-programmet och/eller i rapporten för att säkerställa giltigheten för provomgången.
- Alla flaggor beskrivs i användarassistenten och/eller användarhandboken till cobas® 6800/8800 Systems.
- Omgången är giltig om ingen flagga visas för någon av kontrollerna. Om omgången är ogiltig måste du upprepa testningen av hela omgången.

Validering av resultat för en omgång utförs automatiskt av cobas® 6800/8800 Systems-programmen baserat på prestandan för de negativa och positiva kontrollerna, och validering av enskilda provresultat utförs av cobas® 6800/8800 Systems-programmen baserat på interna kontrollresultat.

## Tolkning av resultat

Resultaten och deras motsvarande tolkning för detektion av MAI visas i Tabell 15.

**Tabell 15** cobas® MAI-resultat och tolkning

Target 1	Target 2	Betydelse
<b>MIN Positive</b>	<b>MAV Positive</b>	Alla begärda resultat var giltiga. Targetsignal detekterades för <i>M. intracellulare</i> - och <i>M. avium</i> -DNA.
<b>MIN Positive</b>	<b>MAV Negative</b>	Alla begärda resultat var giltiga. Targetsignal detekterades för <i>M. intracellulare</i> -DNA. Ingen targetsignal detekterades för <i>M. avium</i> -DNA.
<b>MIN Positive</b>	<b>Invalid</b>	Alla begärda resultat var inte giltiga. Targetsignal detekterades för <i>M. intracellulare</i> -DNA. <i>M. intracellulare</i> -resultatet är giltigt. <i>M. avium</i> -resultatet är ogiltigt. Det ursprungliga provet ska testas om så att giltiga <i>M. avium</i> -resultat erhålls. Om resultatet fortfarande är ogiltigt ska ett nytt prov tas.
<b>MIN Negative</b>	<b>MAV Positive</b>	Alla begärda resultat var giltiga. Ingen targetsignal detekterades för <i>M. intracellulare</i> -DNA. Targetsignal detekterades för <i>M. avium</i> -DNA.
<b>MIN Negative</b>	<b>MAV Negative</b>	Alla begärda resultat var giltiga. Ingen targetsignal detekterades för <i>M. intracellulare</i> -DNA. Ingen targetsignal detekterades för <i>M. avium</i> -DNA.
<b>MIN Negative</b>	<b>Invalid</b>	Alla begärda resultat var inte giltiga. Ingen targetsignal detekterades för <i>M. intracellulare</i> -DNA. <i>M. intracellulare</i> -resultatet är giltigt. <i>M. avium</i> -resultatet är ogiltigt. Det ursprungliga provet ska testas om så att giltiga <i>M. avium</i> -resultat erhålls. Om resultatet fortfarande är ogiltigt ska ett nytt prov tas.
<b>Invalid</b>	<b>MAV Positive</b>	Alla begärda resultat var inte giltiga. <i>M. intracellulare</i> -resultatet är ogiltigt. Det ursprungliga provet ska testas om så att giltiga <i>M. intracellulare</i> -resultat erhålls. Om resultatet fortfarande är ogiltigt ska ett nytt prov tas. Targetsignal detekterades för <i>M. avium</i> -DNA. <i>M. avium</i> -resultatet är giltigt.
<b>Invalid</b>	<b>MAV Negative</b>	Alla begärda resultat var inte giltiga. <i>M. intracellulare</i> -resultatet är ogiltigt. Det ursprungliga provet ska testas om så att giltiga <i>M. intracellulare</i> -resultat erhålls. Om resultatet fortfarande är ogiltigt ska ett nytt prov tas. Ingen targetsignal detekterades för <i>M. avium</i> -DNA. <i>M. avium</i> -resultatet är giltigt.
<b>Invalid</b>	<b>Invalid</b>	Resultaten för både <i>M. intracellulare</i> och <i>M. avium</i> är ogiltiga. Det ursprungliga provet ska testas om så att giltiga <i>M. intracellulare</i> - och <i>M. avium</i> -resultat erhålls. Om resultaten fortfarande är ogiltiga ska ett nytt prov tas.

## Tolkning av resultat för cobas® 5800 System


Resultaten för proverna visas i cobas® 5800-programmet i appen ”Results”.

För en giltig kontrollomgång ska varje enskilt prov kontrolleras avseende flaggor i cobas® 5800-programmet och/eller i rapporten. Tolkningen av resultaten ska göras på följande sätt:

- Prover associerade med en giltig kontrollomgång visas som ”Valid” (Giltig) i kolumnen ”Control result” (Kontrollresultat) om alla kontroll-target-resultat har rapporterats som giltiga. Prover associerade med en misslyckad kontrollomgång visas som ”Invalid” (Ogiltig) i kolumnen ”Control result” om alla kontroll-target-resultat har rapporterats som ogiltiga.
- Om de associerade kontrollerna för ett provresultat är ogiltiga läggs en specifik flagga till enligt följande:
  - Q05D: Fel vid resultatvalidering på grund av en ogiltig positiv kontroll
  - Q06D: Fel vid resultatvalidering på grund av en ogiltig negativ kontroll

- Värdena i kolumnen ”Results” (Resultat) för enskilda prov-target-resultat ska tolkas enligt Tabell 15 ovan.
- Om ett eller flera prov-targets har markerats med ”Invalid” visar **cobas**® 5800-programmet en flagga i kolumnen ”Flags” (Flaggor). Mer information om varför prov-targets har rapporterats som ogiltiga (inklusive flagginformation) visas i vyn med detaljerad information.

**Bild 4** Exempel på **cobas**® MAI-resultat på **cobas**® 5800 System

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

## Tolkning av resultat för **cobas**® 6800/8800 Systems

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

- En giltig omgång kan innehålla båda giltiga och ogiltiga provresultat.
- Kolumnerna ”Valid” och ”Overall Result” är inte tillämpliga (NA) på provresultat för **cobas**® MAI och är markerade med ”NA”. Värdena som rapporteras i de här kolumnerna är inte tillämpliga och påverkar **inte** giltigheten för resultat som rapporteras i kolumner med resultat för enskilda targets.
- De rapporterade target-resultaten för enskilda prover är giltiga om de inte indikeras som ”Invalid” i kolumnen med resultat för enskilda targets.
- Resultaten från det här testet ska endast tolkas tillsammans med tillgänglig information från en klinisk utvärdering av patienten samt patientens historik.

**Bild 5** Exempel på **cobas**® MAI-resultat på **cobas**® 6800/8800 Systems

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

## Testets begränsningar

- **cobas**® MAI ska alltid utföras med mykobakteriell odling för att minimera risken för falskt negativa resultat, samt för att möjliggöra testning av MAC-isolatets känslighet mot läkemedel som hjälp vid patientbehandling.
- Prestandan för **cobas**® MAI har validerats för användning med prover från obehandlad sputum och sputum/BAL-sediment som har förvätskats, dekontaminerats och koncentrerats med hjälp av NALC-NaOH. Användning av andra provtyper kan leda till falskt positiva, falskt negativa och/eller ogiltiga resultat.
- Nedbrytning och dekontaminering ska utföras med de NALC-NaOH-procedurer som rekommenderas av CDC.<sup>19</sup> Användning av andra preanalytiska provberedningsprocedurer kan leda till falskt positiva, falskt negativa och/eller ogiltiga resultat.
- **cobas**® MAI har validerats för användning med prover från obehandlad sputum och NALC-NaOH-behandlat sputum- och BAL-sediment som har inaktiverats kemiskt med MIS. Andra inaktiveringsprocedurer har inte utvärderats och kan leda till falskt positiva, falskt negativa och/eller ogiltiga resultat.
- För att den mykobakteriella inaktiveringen ska lyckas måste de procedurer som beskrivs i det här dokumentet följas samt blandning av provet med MIS slutföras korrekt. Preanalytisk behandling av patientprover med MIS minskar risken för mykobakteriell infektion men tar inte bort den fullständigt.
- Om volymbegränsningarna överskrids och/eller om procedurstegen som beskrivs i ”Bearbetning av prover från obehandlad sputum”, ”Bearbetning av sputum- och BAL-sediment” och ”Sonikering av prover” inte följs finns risk för att falskt positiva, falskt negativa och/eller ogiltiga resultat erhålls.
- Livsduglighet för organismer kan inte fastställas i analyser med nukleinsyraamplifiering.
- Huruvida läkemedelsbehandling lyckas eller ej kan inte avgöras med detta test.
- Produkten får endast användas av personal med erfarenhet av PCR-teknik och användning av **cobas**® 5800/6800/8800 Systems.
- **cobas**® MAI har endast validerats för användning tillsammans med **cobas**® MAI Positive Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent, **cobas omni** Lysis Reagent, **cobas omni** Specimen Diluent och **cobas omni** Wash Reagent för användning på **cobas**® 5800/6800/8800 Systems, MIS och provrörssonikatoren TS 5 från Rinco Ultrasonics AG.
- Tillförlitliga resultat förutsätter rätt provtagning, förvaring och hantering av prover.
- **cobas**® MAI har inte utvärderats för patienter som är yngre än 18 år.
- **cobas**® MAI är inte avsett för användning med luftvägsprover för övervakning av svar på behandling eller som behandlingstest.
- **cobas**® MAI särskiljer mellan *M. intracellulare* och *M. avium*. Övriga arter i *M. avium*-komplexet detekteras av **cobas**® MAI men särskiljs inte. De detekteras antingen i *M. intracellulare*- eller *M. avium*-targeten. Mer information om detta finns i inklusivitetsstudien i avsnittet ”Utvärdering av prestanda”.
- Detektion av *M. avium*-komplexet beror på antalet organismer som förekommer i provet och kan påverkas av provtagningsmetoderna och patientfaktorer (dvs. ålder, sjukdomens allvarlighetsgrad, HIV-status).
- För patienter med både MAC- och HIV-infektion är sannolikheten högre att proverna är negativa vid utstryk som undersöks med mikroskop, och att de därför innehåller MAC-DNA på nivåer under analysens detektionsgräns.
- Sjukvårdspersonalen måste tolka resultaten med hänsyn till patientens historik, den kliniska bilden samt andra resultat från laboratorie- och radiografiter.
- Falskt negativa eller ogiltiga resultat kan uppstå på grund av polymerashämmare. Internkontrollen ingår i **cobas**® MAI för att bidra till att prover som innehåller ämnen som kan störa nukleinsyra-isoleringen och PCR-amplifieringen kan identifieras.

- Tillsats av AmpErase-enzym i **cobas**® MAI Master Mix-reagens möjliggör selektiv amplifiering av target-DNA. Kontamination av reagens kan dock endast undvikas om god laboratoriesed tillämpas och de förfaranden som beskrivs i den här bruksanvisningen följs noga.
- Mutationer inom de maximalt konserverade regionerna på det genomiska DNA:t för *M. avium*-komplexet som täcks av **cobas**® MAI:s primers och/eller prober är sällsynta, men kan göra att det inte går att detektera förekomst av bakterien.
- På grund av inneboende skillnader mellan metoder rekommenderas användaren, innan en metod byts ut mot en annan, att genomföra metodkorrelationsanalyser i laboratoriet för att bestämma skillnaderna mellan metoderna. Etthundra procent överensstämmelse mellan resultaten ska inte förväntas på grund av de tidigare nämnda skillnaderna mellan metoderna.
- Användning av andra provrör än de som rekommenderas i Tabell 10 måste verifieras av användaren innan arbetsflödet för **cobas**® MAI implementeras i laboratoriet. Användning av andra provrörstyper kan göra att provrören skadas och att ytorna på sonikatorn kontamineras. Falskt negativa resultat på grund av otillräcklig energiöverföring vid sonikeringen kan också inträffa.
- Användning av andra streckkoder än de som rekommenderas i Tabell 10 måste verifieras av användaren innan arbetsflödet för **cobas**® MAI implementeras i laboratoriet. Användning av andra streckkoder kan göra att streckkoden skadas.

# Utvärdering av prestanda

## Viktiga prestandaegenskaper på cobas® 6800/8800 Systems

### Provinaktivering

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

### Detektionsgräns (LoD)

Detektionsgränsen för cobas® MAI fastställdes genom analys av seriespädningar av en *M. intracellulare*-stam (ATCC® 13209™) och en *M. avium*-stam (ATCC® 19075™) vardera, i två poolade negativa kliniska matriser – obehandlad sputum och sputum-/BAL-sediment. Paneler med koncentrationsnivåer plus ett blankprov testades med totalt 72 replikat per koncentration med tre loter av cobas® MAI-testreagens under flera körningar och dagar och med olika användare och instrument.

LoD för *M. intracellulare* låg mellan 46,3 CFU/ml (sputum-/BAL-sediment) och 46,6 CFU/ml (obehandlad sputum).

LoD för *M. avium* låg mellan 43,5 CFU/ml (sputum-/BAL-sediment) och 44,9 CFU/ml (obehandlad sputum).

### Inklusivitet

Inklusiviteten för cobas® MAI för elva prover i *M. avium*-komplexet bekräftades genom att testa totalt 25 stammar.

Följande arter detekterades och genererade positiva resultat för *M. intracellulare*:

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

Följande arter detekterades och genererade positiva resultat för *M. avium*:

- *M. avium* (N-315 och N-337, odlingsisolat från japaneska patienter)
- *M. avium* subsp. *avium* (B95-X25 serotyp 3, B95-25522 serotyp 8, B95-18302 serotyp 15, ATCC® 35718™)
- *M. avium* subsp. *hominissuis* (ITM 960255)
- *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (B98-11.02.0221)
- *M. avium* subsp. *silvaticum* (DSM 44157)
- *M. bouchedurhonense* (CCUG 56331)

Alla stammar detekterades vid 256 CFU/ml och 241 CFU/ml för *M. intracellulare* respektive *M. avium* med sedimentprover.

## Precision

Den interna precisionen granskades med hjälp av panelprover som bestod av odlingar av *M. intracellulare* (ATCC® 13209™) och *M. avium* (ATCC® 19075™) spädda i två poolade negativa kliniska matriser – obehandlad sputum och sputum-/ BAL-sediment. Källor för variabilitet undersöktes med en panel bestående av tre koncentrationsnivåer med hjälp av tre loter av cobas® MAI-reagens och två instrument under en tidsperiod på 12 dagar och vid totalt 24 körningar. En beskrivning av precisionspanelerna och de observerade positivitetsvärdena visas i Tabell 16 och Tabell 17. Alla negativa panelprover var negativa i testerna under hela studien. Analys av standardavvikelser och variationskoefficienter i procent för Ct-värdena från tester som utförts på positiva panelprover (se Tabell 18 och Tabell 19) gav totalt sett CV-intervall (%) från 1,5 % till 2,7 % för *M. intracellulare* och från 1,5 % till 2,5 % för *M. avium*.

**Tabell 16** Sammanfattning av precision inom laboratoriet – *M. intracellulare*

Koncentration av target	Antal testade	Antal MIN-positiva	Positivitetsvärde för MIN	95-procentigt konfidensintervall	
				Nedre gräns	Övre gräns
<i>M. intracellulare</i> – obehandlad sputum					
Negativa	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
77,4 CFU/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
232 CFU/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
<i>M. intracellulare</i> – sediment					
Negativa	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
74,3 CFU/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
223 CFU/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %

**Tabell 17** Sammanfattning av precision inom laboratoriet – *M. avium*

Koncentration av target	Antal testade	Antal MAV-positiva	Positivitetsvärde för MAV	95-procentigt konfidensintervall	
				Nedre gräns	Övre gräns
<i>M. avium</i> – obehandlad sputum					
Negativa	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
88,0 CFU/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
264 CFU/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
<i>M. avium</i> – sediment					
Negativa	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
71,1 CFU/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
213 CFU/ml	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %

**Tabell 18** Totala genomsnittliga standardavvikelser och variationskoefficienter (%) för cykeltröskelvärde, *M. intracellulare*-positiva paneler

Koncentration av target	Positivitet svärde	Medel Ct	Inom körning		Mellan körningar		Mellan dagar		Mellan instrument		Mellan loter		Totalt	
			SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
<i>M. intracellulare</i> – obehandlad sputum														
77,4 CFU/ml	100,0 %	37,6	0,83	2,2	0,00	0,0	0,48	1,3	0,20	0,5	0,00	0,0	0,98	2,6
232 CFU/ml	100,0 %	36,5	0,74	2,0	0,47	1,3	0,33	0,9	0,00	0,0	0,29	0,8	0,98	2,7
<i>M. intracellulare</i> – sediment														
74,3 CFU/ml	100,0 %	38,1	0,56	1,5	0,34	0,9	0,00	0,0	0,17	0,4	0,13	1,8	0,69	1,8
223 CFU/ml	100,0 %	36,9	0,37	1,0	0,25	0,7	0,00	0,0	0,33	0,9	0,00	0,0	0,56	1,5

**Tabell 19** Totala genomsnittliga standardavvikelser och variationskoefficienter (%) för cykeltröskelvärde, *M. avium*-positiva paneler

Koncentration av target	Positivitet svärde	Medel Ct	Inom körning		Mellan körningar		Mellan dagar		Mellan instrument		Mellan loter		Totalt	
			SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
<i>M. avium</i> – obehandlad sputum														
88,0 CFU/ml	100,0 %	37,9	0,87	2,3	0,00	0,0	0,25	0,7	0,24	0,6	0,00	0,0	0,94	2,5
264 CFU/ml	100,0 %	36,4	0,48	1,3	0,40	1,1	0,35	1,0	0,16	0,4	0,00	0,0	0,73	2,0
<i>M. avium</i> – sediment														
71,1 CFU/ml	100,0 %	38,8	0,51	1,3	0,25	0,7	0,10	0,3	0,00	0,0	0,11	0,3	0,59	1,5
213 CFU/ml	100,0 %	37,5	0,50	1,3	0,34	0,9	0,40	1,0	0,00	0,0	0,12	0,3	0,74	2,0

## Analytisk specificitet/korsreaktivitet

En panel med 173 bakterier, svampar och virus, inklusive sådana som normalt finns i luftvägarna, testades med cobas® MAI för att bedöma den analytiska specificiteten. Organismerna i listan i Tabell 20 testades vid koncentrationer på ungefär  $1 \times 10^6$  enheter/ml för bakterier och ungefär  $1 \times 10^5$  enheter/ml för virus. Testerna utfördes med varje potentiellt interfererande organism vid frånvaro och förekomst av *M. intracellulare*/*M. avium*-target (vid 200 CFU/ml). Ingen av organismerna interfererade med testets prestanda genom att generera falskt positiva resultat. Detektion av

*M. intracellulare*/*M. avium*-target påverkades inte av de testade organismerna förutom *M. kansasii* och *M. szulgai* vid koncentrationnivåer > 1E+05 CFU/ml och *M. gastri* vid koncentrationnivåer > 1E+04 CFU/ml.

Potentiell korsreaktivitet för *Histoplasma capsulatum*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium pinnipedii* och *Mycobacterium suricattae* utvärderades *in silico*. Resultaten för *in silico*-analyserna anger en låg sannolikhet för amplifiering och detektion av de här organismerna vid användning av cobas® MAI.

**Tabell 20** Mikroorganismer som testats för analytisk specificitet/korsreaktivitet

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

Mikroorganism	Koncentration	Mikroorganism	Koncentration
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Enterococcus faecium</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Nocardia transvalensis</i>	1,0E+06 CFU/ml
Enterovirus typ 68/2007	1,0E+05 U/ml	<i>Pasteurella multocida</i> subsp. <i>tigris</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Escherichia coli</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Pediococcus acidilactici</i>	1,0E+06 geq/ml
<i>Escherichia coli</i> som producerar CTX-M-15 ESBL	1,0E+06 CFU/ml	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i> subsp. <i>nucleatum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Penicillium chermesinum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Gordona rubropertinctus</i>	1,0E+06 geq/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Prevotella melaninogenica</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Herpes simplex</i> -virus typ 1	1,0E+05 kp/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Herpes simplex</i> -virus typ 2	1,0E+05 kp/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1,0E+06 CFU/ml
Humant immunbristvirus	1,0E+05 kp/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1,0E+06 CFU/ml
Humant influensavirus A	1,0E+05 U/ml	<i>Providencia stuartii</i>	1,0E+06 CFU/ml
Humant influensavirus B	1,0E+05 U/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,0E+06 CFU/ml
Humant metapneumovirus	1,0E+05 U/ml	<i>Rhizopus</i> spp.	1,0E+06 CFU/ml
Humant parainfluensavirus typ 1	1,0E+05 U/ml	<i>Rhodococcus equi</i>	1,0E+06 CFU/ml
Humant parainfluensavirus typ 2	1,0E+05 U/ml	Rubellavirus	1,0E+05 U/ml
Humant parainfluensavirus typ 3	1,0E+05 U/ml	Rubeolavirus	1,0E+05 U/ml
Humant parainfluensavirus typ 4	1,0E+05 U/ml	Rubulavirus	1,0E+05 U/ml
Humant respiratoriskt syncytialvirus A	1,0E+05 U/ml	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Dublin	1,0E+06 CFU/ml
Humant respiratoriskt syncytialvirus B	1,0E+05 U/ml	<i>Scedosporium</i> spp.	1,0E+06 CFU/ml
Humant rhinovirus 16	1,0E+05 U/ml	<i>Serratia marcescens</i> subsp. <i>marcescens</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Kingella kingae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Shigella flexneri</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Kingella oralis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Shigella sonnei</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i> som producerar KPC-3 carbapenemase	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus capitis</i> subsp. <i>capitis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Lactobacillus casei</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Legionella micdadei</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Legionella pneumophila</i> subsp. <i>pneumophila</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus constellatus</i> subsp. <i>constellatus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>equi</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Morganella morganii</i> subsp. <i>morganii</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus mitis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium abscessus</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus mutans</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium asiaticum</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium bovis</i> BCG	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium bovis</i> subsp. <i>bovis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium bovis</i> subsp. <i>caprae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium canetti</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium caprae</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Streptococcus uberis</i>	1,0E+06 CFU/ml

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

\* Nivå vid vilken ingen interferens med detektion av *M. intracellulare* och *M. avium* observerades; testat även vid 1,0E+06 CFU/ml vilket visade interferens med både *M. intracellulare*- och *M. avium*-target.

## Interferens

Effekten av exogena substanser som potentiellt utsöndrats i luftvägsprover utvärderades (Tabell 21). Varje potentiellt interfererande substans testades vid eller över kliniskt relevanta nivåer i artificiella sputumprover vid frånvaro och förekomst av *M. intracellulare*- och *M. avium*-target (co-spikade vid 200 CFU/ml).

Ingen av substanserna interfererade med testets prestanda genom att generera falskt negativa eller falskt positiva resultat.

**Tabell 21** Lista över exogena substanser testade för interferens

Substans	Koncentration	Substans	Koncentration
Albuterolsulfat	0,5 µg/ml	Kanamycin-monosulfat	240 µg/ml
Amikacin	80,1 µg/ml	Levofloxacin	5 mg/ml
Amoxicillin	86,4 µg/ml	Lidokain HCl	1,2 % (vikt/volym)
Beklometason	3 459 pg/ml	Mentol	0,50 % (vikt/volym)
Bensokain	1,2 % (vikt/volym)	Metylsalicylat	0,06 % (volymprocent)
Budesonid	3 mg/ml	Mometason	100 µg/ml
Pestskräp	225 mg/ml	Moxifloxacin	15 µg/ml
Kapreomycin	80 µg/ml	Mupirocin	5 % (vikt/volym)
Cetylpyridiniumklorid	0,5 % (vikt/volym)	NaCl	5 % (vikt/volym)
Klorhexidinglukonat	1 % (volymprocent)	Nikotin	1 µg/ml
Cycloserin	105 µg/ml	Nystatin	1 % (volymprocent)
Klaritromycin	20 µg/ml	Oxymetazolin	12 ng/ml
Dexametason	601 ng/ml	Pentamidin	1 366 ng/ml
Efedrinhydroklorid	1 mg/ml	Fenylefrin	5 mg/ml
Adrenalin	100 pg/ml	Prednisolon	3 µg/ml
Etambutol	50 µg/ml	Pyrazinamid	240 µg/ml
Etionamid	15 µg/ml	Rifampicin	25 µg/ml
Eukalyptol	0,002 % (volymprocent)	Brännäseextrakt (500 mg)	5 mg
Flunisolid	400 µg/ml	Streptomycin	240 µg/ml
Flutikasonpropionat	5 µg/ml	Svavel	0,01 % (vikt/volym)
Formoterolfumaratdihydrat	66 µg/ml	Tea tree-olja	0,50 % (volymprocent)
Blodstillerot (kapslar 570 mg)	5,7 mg	Teofyllin	20 µg/ml
Guaifenesin	5 mg/ml	Tobramycin	24,1 µg/ml
Isoniazid	50 µg/ml	Zanamivir	10 mg/ml

Endogena substanser som kan förekomma i luftvägsprover testades för interferens (Tabell 22). Varje potentiellt interfererande substans testades vid eller över kliniskt relevanta nivåer i artificiella sputumprover vid frånvaro och förekomst av *M. intracellulare*- och *M. avium*-target (co-spikade vid 200 CFU/ml).

Ingen av substanserna interfererade med testets prestanda genom att generera falskt positiva resultat. Ingen av substanserna förutom mucin 5 % interfererade med testets prestanda genom att generera falskt negativa resultat. Ingen interferens observerades för mucin vid koncentrationsnivåer vid eller under 4 %.

**Tabell 22** Lista över endoogena substanser testade för interferens

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

\* Nivå vid vilken ingen interferens med detektion av *M. intracellulare* och *M. avium* observerades; testat även vid 5 % vilket visade delvis interferens med både *M. intracellulare*- och *M. avium*-target.

## Felfrekvens inom hela systemet

Proverna som testades i studien av felfrekvens inom hela systemet var artificiella sputum- och sputumsedimentprover co-spikade med *M. intracellulare*- och *M. avium*-target till en koncentration på ungefär  $3 \times \text{LoD}$  för respektive matris. Resultaten i den här studien fastställde att samtliga replikat var giltiga och positiva för *M. intracellulare* och *M. avium*, vilket gav en felfrekvens inom hela systemet på 0 % med ett övre ensidigt 95-procentigt konfidensintervall på 3,0 %.

## Korskontamination

Potentiell korskontamination på cobas® 6800/8800 Systems med cobas® MAI har studerats med det relaterade cobas® MTB-testet med identiska provtyper och arbetsflöden. Korskontamination kan orsaka falskt positiva resultat. I den här prestandastudien fastställdes procenttalet för korskontamination mellan prover till 0,0 % (0/240) när mycket högpositiva och negativa prover testades omväxlande under flera körningar. Testningen utfördes med artificiella sputumsedimentprover spikade med MTB-komplex-target vid  $2 \times 10^6$  CFU/ml, en provkoncentration som genererade Ct-värden tidigare än i 95 % av proverna från infekterade patienter i populationen för avsedd användning.

## Prestanda med kliniska prover

Prestandan hos cobas® MAI med kliniska prover utvärderades genom att testa arkiverade prover (obehandlad sputum, sputum-/BAL-sediment) prospektivt insamlade i Tyskland, Japan, Sydafrika, Schweiz och Texas från personer med presumtiv mykobakteriell luftvägsinfektion. Jämförelsetester sida vid sida med COBAS® TaqMan® MAI Test utfördes. Sensitivitet och specificitet fastställdes i jämförelse med mykobakteriell odling. Patientpopulationen för sensitivitet innefattade 51 negativa AFB-utstryk (49 %), 13 AFB-utstryk med bristande kvalitet (13 %), 19 AFB-utstryk 1+ (18 %), 15 AFB-utstryk 2+ (14 %), 4 AFB-utstryk 3+ (4 %) och 2 obestämda AFB-utstryk (2 %) för sputum-/BAL-sediment med totalt 81 sputumsediment och 23 BAL-sediment. För obehandlad sputum testades 26 negativa AFB-utstryk (47 %), 5 AFB-utstryk med bristande kvalitet (9 %), 8 AFB-utstryk 1+ (15 %), 12 AFB-utstryk 2+ (22 %) och 4 AFB-utstryk 3+ (7 %).

Resultaten visas i Tabell 23.

**Tabell 23** Sensitivitet och specificitet för **cobas® MAI** med kliniska prover

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

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

C = odling, MIN = *Mycobacterium intracellulare*, MAV = *Mycobacterium avium*, o/e = och/eller

## Systemekvivalens/systemjämförelse

Systemekvivalensen för **cobas® 5800**, **cobas® 6800** och **cobas® 8800 Systems** påvisades genom studier av prestandan. Resultaten som presenteras i bruksanvisningen ger stöd för motsvarande prestanda för alla system.

## Ytterligare information

### Viktiga analyssegenskaper

**Provtyper**

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





















































**Mängd prov som bearbetats**

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

## Symboler

Följande symboler används vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter.

**Tabell 24** Symboler som används vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter

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

## Teknisk support

Om du behöver teknisk support kontaktar du Roche kundsupport via:  
[https://www.roche.com/about/business/roche\\_worldwide.htm](https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm)

## Tillverkare

**Tabell 25** Tillverkare

Tillverkad i USA



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

Tillverkad i USA

## Varumärken och patent

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

## Copyright

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



## Referenser

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

## Revidering av dokumentet

Information om revidering av dokumentet	
Doc Rev. 1.0 10/2022	Första publicering.

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