



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-000399-23-1

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-000399-23-1 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:
CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones Productos Roche S.A.Q. e I solicita se autorice la inscripción en el Registro Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de esta Administración Nacional, de un nuevo/s Producto/s Médico/s para diagnóstico in vitro, Nombre descriptivo: 1) cobas® MTB-RIF/INH y 2) cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico in vitro que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización .

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establecen la Ley N° 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99 y normas complementarias.

Que el Instituto Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y sus modificatorias.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL

DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro, Nombre descriptivo: 1) cobas® MTB-RIF/INH y 2) cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit, de acuerdo con lo solicitado por Productos Roche S.A.Q. e I con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento GEDO N° IF-2023-74221089-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 740-678 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

ARTICULO 4º.- Extiéndase el Certificado de Autorización e Inscripción en el RPPTM con los datos característicos mencionados en esta disposición.

ARTÍCULO 5º.- La vigencia del Certificado de Autorización será de cinco (5) años, a partir de la fecha de la presente disposición.

ARTÍCULO 6º.- Regístrese. Inscríbese en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: 1) cobas® MTB-RIF/INH y 2) cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit

Marca comercial: cobas®

Modelos:

1) cobas® MTB-RIF/INH (N° de catálogo: 09040617190)

2) cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit (N° de catálogo: 09040625190)

Indicación/es de uso:

La prueba cobas® MTB-RIF/INH para uso en los cobas® 5800/6800/8800 Systems es una prueba de diagnóstico in vitro cualitativa y automatizada que utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección directa de la resistencia a la rifampicina asociada con mutaciones del gen rpoB y de la resistencia a la isoniazida asociada con las mutaciones de los genes katG e inhA de Mycobacterium tuberculosis en muestras respiratorias humanas. La prueba se ha diseñado para su uso con muestras de esputo sin procesar, muestras de esputo y lavado broncoalveolar (LBA) digeridas y descontaminadas (tratadas con N-acetil-L-cisteína/NaOH) que han dado positivo para el complejo Mycobacterium tuberculosis (MTBC) con cobas® MTB. La prueba se ha diseñado para ser utilizada junto con otras pruebas de cultivo y farmacosenibilidad así como prueba confirmatoria de cobas® MTB para facilitar el diagnóstico de infecciones por M. tuberculosis (MDR-TB) multirresistente a fármacos.

Forma de presentación: 1) Envases por 192 determinaciones, conteniendo: Solución de proteinasa (PASE) x 22,3 ml, Diluyente de muestras genérico (GSD) x 21,2 ml, Buffer de elución (EB) x 21,2 ml, Reactivo 1 de Master Mix (MMX-R1) x 7,5 ml, Reactivo 2 de Master Mix para MTB-RIF/INH (MTB-RIF/INH MMX-R2) x 9,7 ml. 2) 16 viales x 1 ml, conteniendo: MTB-RIF/INH control positivo (MTB-RIF/INH (+) C).

Período de vida útil y condición de conservación: 1) y 2) 24 (VEINTICUATRO) meses desde la fecha de elaboración conservado entre 2-8 °C.

Nombre del fabricante:

Roche Molecular System. Inc para Roche Diagnostics GmbH

Lugar de elaboración:

1080 US Highway 202 South Branchburg, New Jersey, 08876 (Estados Unidos) para Sandhofer Strasse 116, 68305 Mannheim (ALEMANIA).

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

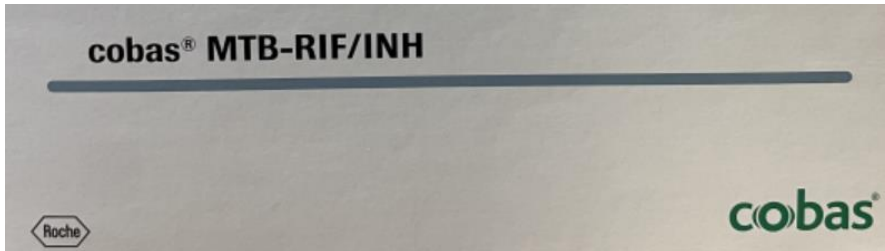
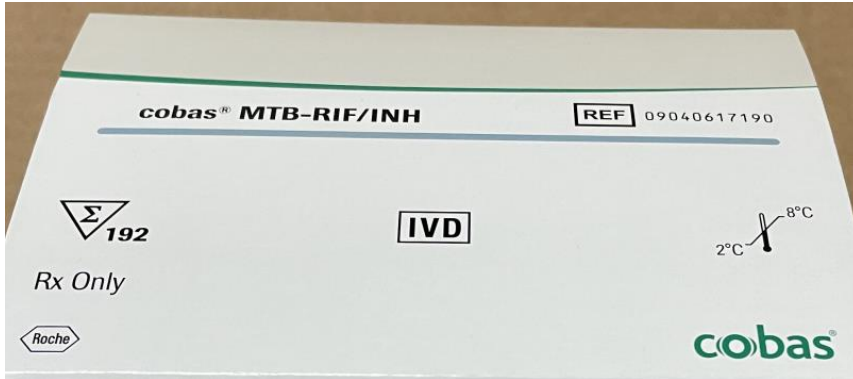
Expediente N° 1-0047-3110-000399-23-1

N° Identificador Trámite: 45668

AM

PROYECTO DE ROTULO

1 - cobas® MTB-RIF/INH (N° de catálogo: 09040617190)



Farm. ROBERTA MIGLE MAZZA
PRODUCIOS ROCHE S.A. de I.
Division Diagnostica
DT & APODERADA LEGAL

MTB-RIF/INH

Manufactured in the United States



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Distributed by
Roche Diagnostics
9115 Hague Road
Indianapolis, IN 46250-0457, USA
(For Technical Assistance call the
Roche Response Center
toll-free: 1-800-526-1247)

¹ For USA only.

COBAS is a trademark of Roche. ©2022 Roche Molecular Systems, Inc.

Made in USA

CONTENT

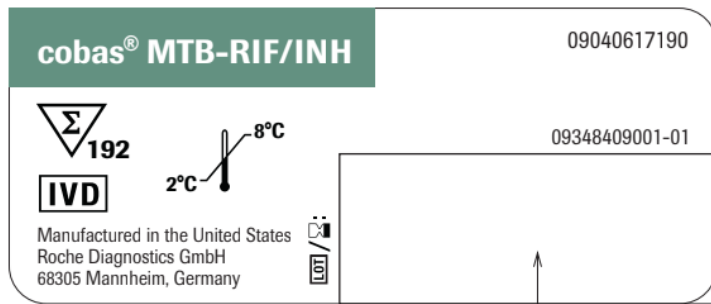
MTB-RIF/INH Cassette	x 1
MMX-R1	7.5 mL
MTB-RIF/INH MMX-R2	9.7 mL
EB	21.2 mL
GSD	21.2 mL
PASE	22.3 mL

EUH210
EUH208

CONTENT

MiniRack	x 4
MTB-RIF/INH (+) C	16 mL (16 x 1 mL)

Farm. ROBERTA MILE MAZZA
PRODUCIOS ROCHE S.A. de I.
Division Diagnostica
DT & APODERADA LEGAL

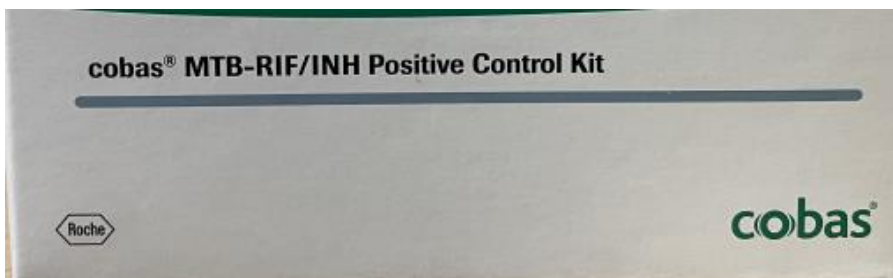


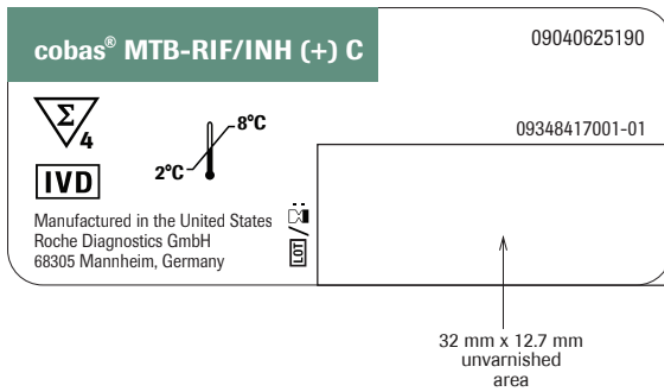
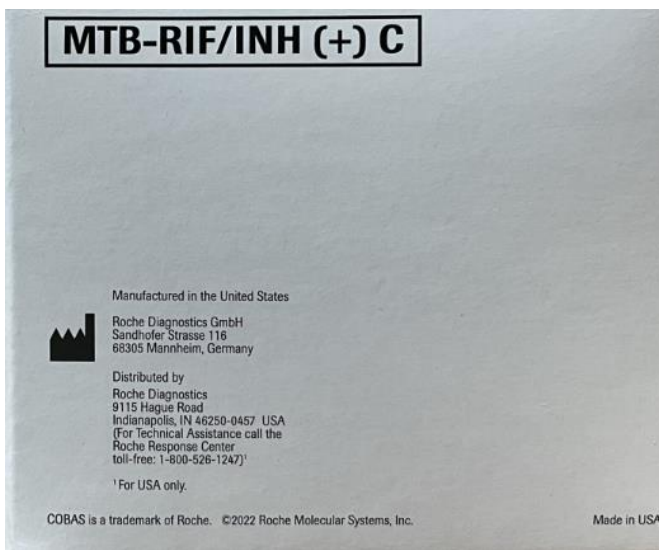
32 mm x 12.7 mm
unvarnished
area

2 - cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit (N° de catálogo: 09040625190)



Farm. ROBERTA MILE MAZZA
PRODUCIOS ROCHE S.A. Q. e. l.
Division Diagnostica
DT & APODERADA LEGAL





Sobre-rótulo local

DT.: Farm. R. Mele Mazza.
Productos Roche S.A.Q. e I.
(División Diagnóstica).
Otto Krause 4211 (CP1667)
Bs As, Arg. Producto autorizado
por ANMAT PM-740-678
Uso profesional exclusivo

Farm. ROBERTA MELE MAZZA
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I.
División Diagnóstica
DT & APODERADA LEGAL

cobas[®] MTB-RIF/INH

Prueba de ácidos nucleicos para uso en los cobas[®] 5800/6800/8800 Systems

Para diagnóstico *in vitro*

cobas[®] MTB-RIF/INH

P/N: 09040617190

Para uso en el sistema cobas[®] 5800

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

P/N: 09040625190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

Para uso en sistemas cobas[®] 6800/8800

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

P/N: 07833342190 o

P/N: 09040625190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 07002238190 o

P/N: 09051953190

Farm. ROBERTA NELLE VIZZE
PRODUCI LOS ROCHI S.p.A. G.e.L.
Division Diagnostica
DT & APODEADA LEGAL

Tabla de contenido

Uso previsto	4
Resumen y explicación de la prueba.....	4
Reactivos y materiales.....	8
Reactivos y controles de cobas® MTB-RIF/INH	8
Reactivos cobas® omni para la preparación de muestras	10
Requisitos de almacenamiento y manipulación.....	11
Requisitos para la manipulación de reactivos en el cobas® 5800 System.....	11
Requisitos para la manipulación de reactivos en los cobas® 6800/8800 Systems.....	12
Material adicional necesario para el cobas® 5800 System	13
Material adicional necesario para los cobas® 6800/8800 Systems.....	13
Instrumentos y software necesarios.....	14
Precauciones y requisitos de manipulación.....	15
Advertencias y precauciones.....	15
Manipulación de reactivos	16
Buenas prácticas de laboratorio.....	16
Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras.....	17
Muestra.....	17
Transporte y almacenamiento de las muestras	17
Almacenamiento de muestras inactivadas.....	17
Instrucciones de uso.....	18
Notas sobre el procedimiento.....	18
Procesamiento de muestras de esputo sin procesar.....	21
Procesamiento de sedimentos de esputo y de LBA.....	21
Sonicación de las muestras.....	22
Ejecución de la prueba cobas® MTB-RIF/INH en el cobas® 5800 System	23
Ejecución de la prueba cobas® MTB-RIF/INH en los cobas® 6800/8800 Systems.....	25
Resultados	27
Control de calidad y validez de los resultados en el cobas® 5800 System	27
Resultados del control en el cobas® 5800 System	27

Farm. ROBERTA WITTE MOZZA
 PRODUCOS ROCHE S.A. S. r.l.
 Division Diagnostics
 DT & APODERADA LEGAL

Control de calidad y validez de los resultados en los cobas® 6800/8800 Systems	27
Interpretación de los resultados	28
Interpretación de los resultados en el cobas® 5800 System	31
Interpretación de los resultados en los cobas® 6800/8800 Systems.....	32
Limitaciones del procedimiento.....	33
Evaluación del rendimiento	35
Características clave de rendimiento de los cobas® 6800/8800 Systems	35
Inactivación de la muestra.....	35
Límite de detección (LoD).....	35
Heterorresistencia.....	35
Inclusividad para mutaciones asociadas con resistencias	36
Especificidad para el complejo MTB no mutado	36
Precisión.....	37
Especificidad analítica/reactividad cruzada	38
Interferencia	40
Fallo de todo el sistema	41
Contaminación por arrastre.....	42
Rendimiento con muestras clínicas.....	42
Equivalencia entre sistemas/Comparación de sistemas	44
Información adicional	45
Características principales del ensayo	45
Símbolos	46
Asistencia técnica	47
Fabricante.....	47
Marcas registradas y patentes	47
Copyright.....	47
Bibliografía	48
Revisión del documento	49

Farm. ROBERTA MILE MAZZA
 PRODUTOS ROCHÉ S.A. Q. de L.
 División Diagnóstico
 DT & APODERADA LEGAL

Uso previsto

La prueba cobas® MTB-RIF/INH para uso en los cobas® 5800/6800/8800 Systems es una prueba de diagnóstico *in vitro* cualitativa y automatizada que utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección directa de la resistencia a la rifampicina asociada con mutaciones del gen *rpoB* y de la resistencia a la isoniazida asociada con las mutaciones de los genes *katG* e *inhA* de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras respiratorias humanas. La prueba se ha diseñado para su uso con muestras de esputo sin procesar, muestras de esputo y lavado broncoalveolar (LBA) digeridas y descontaminadas (tratadas con N-acetil-L-cisteína/NaOH) que han dado positivo para el complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) con cobas® MTB. La prueba se ha diseñado para ser utilizada junto con otras pruebas de cultivo y farmacosenibilidad así como prueba confirmatoria de cobas® MTB para facilitar el diagnóstico de infecciones por *M. tuberculosis* (MDR-TB) multirresistente a fármacos.

Resumen y explicación de la prueba

Información de referencia

La tuberculosis es una infección bacteriana causada por el complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC). La tuberculosis es uno de los principales problemas de salud global y la principal causa de muerte por enfermedades infecciosas en todo el mundo.¹ La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que se produjeron 9,9 millones de infecciones nuevas por TB activa y 1,5 millones de muertes en 2020.¹

El complejo *M. tuberculosis* comprende un grupo de especies estrechamente relacionadas con el género de *Mycobacterium* que causa enfermedad en humanos y animales y que incluye *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG (bacilo de Calmette-Guérin), *M. africanum*, *M. canetti*, *M. microti*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. mungi*, *M. suricattae*, *M. orygis*, *Dassie bacillus* y *Chimpanzee bacillus*. Mientras que la infección con cualquier miembro del complejo MTB puede derivar en tuberculosis, la especie *M. tuberculosis* es la causa más frecuente. La enfermedad pulmonar es la patología más común causada por el complejo MTB. Puede presentarse una enfermedad extrapulmonar, si bien esta es relativamente más prevalente en niños. *M. bovis* es el causante de la tuberculosis en hasta el 2,8 % de los pacientes en distintos entornos geográficos.² Los miembros del complejo MTB distintos de *M. bovis* y *M. tuberculosis* son causas menos frecuentes de enfermedad en humanos. La especie *M. africanum* se ha relacionado con tuberculosis en países de África Occidental, la especie *M. canetti* con el Cuerno de África y la especie *M. orygis* causa tuberculosis en humanos y animales desde África hasta Asia del Sur. La especie *M. caprae* se considera una subespecie de *M. bovis*. La especie *M. microti* es causa de la enfermedad principalmente en roedores, la especie *M. pinnipedii* se relaciona con la enfermedad en focas y la especie *M. suricattae* provoca tuberculosis en suricatas de África del Sur. La especie *M. mungi* se ha identificado como causa de la tuberculosis en mangostas rayadas.³

La tuberculosis se contagia entre las personas a través de pequeñas gotas procedentes de las vías respiratorias. La mayoría de los afectados por la *M. tuberculosis* son asintomáticos y pueden contener la enfermedad después de la infección primaria. A esto se le denomina una infección de tuberculosis latente. Las infecciones latentes pueden durar décadas y, en la mayoría de los casos, no convertirse nunca en una enfermedad clínica. En algunas personas, el organismo vence las defensas inmunitarias, lo que provoca la progresión de una infección de tuberculosis latente a una tuberculosis activa. Esto suele ocurrir, o bien en los dos primeros años de infección, o bien después de periodos prolongados de latencia. En general, existe un riesgo del 5-10 % de que los pacientes con infección latente desarrollen una enfermedad de TB activa; sin embargo, el riesgo varía como resultado de numerosos factores, pudiendo aumentar significativamente por la inmunosupresión derivada del tratamiento con “agentes biológicos”⁴ (p. ej., inhibidores del FNT) y la infección por VIH.^{5,6}

09348484001-01ES

Doc Rev. 1.0



Las personas que padecen una enfermedad de TB pulmonar activa pueden expulsar pequeñas gotitas al toser o al hablar o durante los procedimientos médicos. Las personas con una enfermedad pulmonar activa se consideran altamente infecciosas, por lo que resulta imprescindible su diagnóstico.

El diagnóstico de una TB activa se basa en los hallazgos o sospechas clínicas, así como en estudios de laboratorio y radiográficos. Se puede solicitar a los pacientes que suministren muestras respiratorias para frotis y cultivos micobacterianos de bacterias ácido-alcohol resistentes (BAAR), así como para pruebas de amplificación directa de ácidos nucleicos. Resulta imprescindible realizar el cultivo micobacteriano junto con las pruebas de ácidos nucleicos para ayudar a mitigar el riesgo de resultados negativos falsos y para permitir las pruebas de sensibilidad a fármacos en pacientes con resultados positivos.

Se considera que una cepa de TB es resistente a los fármacos cuando se utiliza como mínimo un fármaco para tratar la tuberculosis. La TB multirresistente a los fármacos (MDR-TB) presenta resistencia como mínimo a la isoniazida y la rifampicina, los dos fármacos más efectivos para el tratamiento de la TB, mientras que una cepa de TB altamente resistente a los fármacos (XDR-TB) presenta una resistencia adicional a la rifampicina y cualquier fluoroquinolona y, a al menos, uno de los fármacos bedaquilina y linezolida. Globalmente en 2020, el 71 % (2,1/3,0 millones) de las personas diagnosticadas de TB pulmonar confirmada bacteriológicamente fueron sometidas a pruebas de resistencia a la rifampicina. Del total, se detectaron 132.222 casos de TB resistente a MDR/rifampicina y 25.681 casos de TB pre-XDR o TB XDR.¹

La frecuencia de MDR-TB varía según la región. La incidencia de MDR-TB es mayor entre los pacientes tratados anteriormente. El tratamiento de la tuberculosis implica una administración prolongada de varios fármacos y suele ser efectivo. Sin embargo, el tratamiento de cepas de MTB resistentes a uno o varios fármacos dificulta la curación. El tratamiento de la MDR-TB y la XDR-TB requiere la administración de múltiples medicamentos tóxicos para una mayor duración que los pacientes de TB farmacosenible, con una menor probabilidad de éxito del tratamiento.⁷

El diagnóstico de la TB puede establecerse gracias a la presentación clínica, los hallazgos de laboratorio y radiográficos, incluidos frotis de bacterias ácido-alcohol resistentes/cultivos micobacterianos, y las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos. Adicionalmente, también pueden utilizarse ensayos que miden la respuesta de anticuerpos o antígenos (p. ej., la prueba cutánea de la tuberculina o el ensayo de liberación de interferón gamma (INF γ) (IGRA)).⁸ Sin embargo, la prueba cutánea de la tuberculina y los ensayos IGRA pueden resultar negativos en enfermedades activas al no ser capaces de diferenciar una infección latente de una activa. El diagnóstico definitivo de la enfermedad se confirma mediante la recuperación del organismo en cultivo o por la detección directa del ácido nucleico del complejo MTB en una muestra clínica. Se requieren pruebas de farmacosenibilidad (DST) para confirmar el tratamiento empírico pero estas requieren mucho tiempo porque se necesitan varias semanas para obtener los resultados según el método. De forma alternativa, los marcadores genéticos asociados a la farmacosenibilidad pueden detectarse directamente a partir de muestras clínicas o de aislados en cultivo mediante métodos moleculares para obtener resultados más rápidamente. Dada la naturaleza infecciosa de la MTB y la presencia de una resistencia emergente, un diagnóstico rápido y preciso es de vital importancia para el tratamiento y el control de la MTB.⁸

Explicación de la prueba

La prueba cobas® MTB-RIF/INH para uso en los cobas® 5800/6800/8800 Systems es una prueba cualitativa de PCR en tiempo real automatizada diseñada como prueba confirmatoria de cobas® MTB para la detección de las mutaciones asociadas con la resistencia a la rifampicina del gen *rpoB* y las mutaciones asociadas con la resistencia a la isoniazida de los genes *katG* e *inhA* del complejo *Mycobacterium tuberculosis*. La prueba se ha diseñado para su uso con muestras de esputo sin procesar, muestras de esputo y lavado broncoalveolar (LBA) digeridas y descontaminadas (tratadas con N-acetil-L-cisteína/NaOH) que han dado positivo para el complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) con cobas® MTB. La detección del ADN no mutado del complejo MTB actúa como control interno para monitorizar todo el proceso de preparación de las muestras y amplificación mediante PCR. Además, la prueba utiliza un control positivo de título bajo y un control negativo.

Principios del procedimiento

La prueba cobas® MTB-RIF/INH se basa en la licuefacción de la muestra y la inactivación de micobacterias en la preanalítica seguidas de una sonicación de la muestra y la preparación de la muestra totalmente automatizada (extracción y purificación de los ácidos nucleicos) y la amplificación y detección mediante PCR. Los procesos de licuefacción de la muestra e inactivación de micobacterias tienen lugar de forma simultánea durante la incubación de la muestra con el reactivo cobas® Microbial Inactivation Solution (MIS). La sonicación de la muestra licuada e inactivada se realiza antes de cargarla en los cobas® 5800/6800/8800 Systems. El cobas® 5800 System se ha diseñado como un único instrumento integrado. Los cobas® 6800/8800 Systems constan del módulo de suministro de muestras, el módulo de transferencia, el módulo de procesamiento y el módulo analítico. La gestión automática de los datos se realiza mediante el software del cobas® 5800 o los cobas® 6800/8800 Systems, que asigna los resultados a las pruebas como positivos, negativos o no válidos. Los resultados pueden revisarse directamente en la pantalla del sistema, exportarse o imprimirse como informe.

La extracción de ácidos nucleicos de las muestras de pacientes y los controles externos se realiza simultáneamente. En resumen, los ácidos nucleicos bacterianos se liberan mediante la ruptura química (MIS, cobas® **omni** Lysis Reagent), enzimática (proteínasa) y física (sonicación) de las bacterias. Los ácidos nucleicos liberados se unen a la superficie de sílice de las partículas de vidrio magnéticas añadidas. Las sustancias sin unir y las impurezas, como las proteínas desnaturalizadas, los restos celulares y los posibles inhibidores de la PCR se eliminan en los siguientes pasos de lavado, mientras que los ácidos nucleicos purificados se eluyen de las partículas de vidrio magnéticas mediante el buffer de elución a temperatura elevada.

La amplificación y detección selectiva de los ácidos nucleicos de la diana de la muestra se lleva a cabo mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos del gen diana. Un conjunto de cebadores y sondas específicas para varias mutaciones son capaces de detectar dieciocho mutaciones asociadas con la resistencia a la rifampicina (gen *rpoB*). Dos conjuntos de cebadores y sondas específicas para varias mutaciones son capaces de detectar siete mutaciones asociadas con la resistencia a la isoniazida (región promotora de los genes *katG* e *inhA*). La MTB se detecta mediante un conjunto de cebadores y una sonda específica para una secuencia genómica de una sola copia muy conservada del complejo MTB. Para el proceso de amplificación mediante PCR se utiliza una enzima ADN polimerasa termoestable. La amplificación de las secuencias diana se realiza simultáneamente con un perfil universal de amplificación mediante PCR que incluye unos pasos de temperatura y número de ciclos predefinidos. El reactivo de Master Mix incluye trifosfato de deoxiuridina (dUTP), en lugar de trifosfato desoxitimidina (dTTP), que se incorpora al ADN recién sintetizado (amplicón). La enzima AmpErase, que se incluye en la Master Mix para PCR, elimina los amplicones contaminados de las

series de PCR anteriores durante la primera ciclación térmica.⁹ Sin embargo, los amplicones nuevos no se eliminan porque la enzima AmpErase se inactiva cuando se expone a temperaturas superiores a los 55 °C.

El reactivo de Master Mix de la prueba cobas® MTB-RIF/INH contiene múltiples sondas específicas para las mutaciones asociadas con la resistencia a la rifampicina y las asociadas con la resistencia a la isoniazida y una sonda específica para el complejo MTB. Las sondas están marcadas con marcadores emisores fluorescentes específicos para la diana para permitir la detección simultánea de mutaciones asociadas con la resistencia a la rifampicina, mutaciones asociadas con la resistencia a la isoniazida y la diana del complejo MTB en cinco canales diana distintos (las mutaciones asociadas con la resistencia a la rifampicina se detectan en tres de los cinco canales de detección).^{10, 11} Cuando no se une a la secuencia de la diana, la señal fluorescente de las sondas intactas se elimina mediante el marcador silenciador. Durante el paso de amplificación mediante PCR, la hibridación de las sondas con la plantilla específica de ADN monocatenario provoca la escisión de la sonda por la actividad de la exonucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa, lo que causa la separación de los marcadores emisor y silenciador y la emisión de una señal fluorescente. Con cada ciclo de PCR, se generan cantidades crecientes de sondas escindidas y la señal acumulada del marcador emisor aumenta concomitantemente. La detección y discriminación en tiempo real de los productos de la PCR se consigue mediante la cuantificación de la fluorescencia generada por los marcadores emisores liberados para las mutaciones asociadas con la resistencia a la rifampicina, mutaciones asociadas con la resistencia a la isoniazida y la diana del complejo MTB, respectivamente.

Farm. ROBERTA NITILE MOZZA
PRODUCES ROGHE S.p.A. G.e.L.
Division Diagnostic
DT & APODERADA LEGAL

Reactivos y materiales

Reactivos y controles de cobas® MTB-RIF/INH

Los materiales suministrados para el ensayo cobas® MTB-RIF/INH se detallan en la Tabla 1. Todos los reactivos y controles sin abrir deben almacenarse como se recomienda desde la Tabla 1 hasta la Tabla 4. Los materiales necesarios no proporcionados se indican en la Tabla 2 a la Tabla 4 y la Tabla 8 a la Tabla 9.

Tabla 1 cobas® MTB-RIF/INH

cobas® MTB-RIF/INH

Almacenar a 2-8 °C

Casete para 192 pruebas (P/N 09040617190)

Farm. ROBERTA RIFLE AZZA
PRODUCIOS ROFFE S.A. Q. e.L.
Division: Quimica
DT & APODERADA LEGAL

Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit
Solución de proteinasa (PASE)	Buffer Tris, < 0,05 % de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8 % de proteinasa, glicerol EUH210: Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad. EUH208: Contiene subtilisina de <i>Bacillus subtilis</i> . Puede provocar una reacción alérgica.	22,3 ml
Diluyente de muestras genérico (GSD)	Buffer Tris, < 0,05 % de EDTA, < 0,001 % de constructo de ARN diferente de MTB, 0,002 % de ARN poli Ar (sintético), < 0,1 % de azida sódica	21,2 ml
Buffer de elución (EB)	Buffer Tris, 0,2 % de metil-4-hidroxibenzoato	21,2 ml
Reactivo 1 de Master Mix (MMX-R1)	Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1 % de azida sódica	7,5 ml
Reactivo 2 de Master Mix para MTB-RIF/INH (MTB-RIF/INH MMX-R2)	Buffer Tricina, acetato de potasio, EDTA, glicerol, 18 % de sulfóxido de dimetilo, < 0,12 % de dATP, dCTP, dGTP y dUTP, < 0,1 % de Tween 20, < 0,1 % de azida sódica, < 0,1 % de ADN polimerasa Z05, < 0,1 % de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,01 % de cebadores que van en un sentido y en sentido contrario, < 0,01 % de sondas oligonucleótidas con marcadores fluorescentes específicas para mutaciones asociadas con la resistencia a la rifampicina, mutaciones asociadas con la resistencia a la isoniazida y el complejo MTB, < 0,01 % de aptámero oligonucleótido	9,7 ml

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

Almacenar a 2-8 °C

Para uso en el sistema cobas® 5800 (P/N 09040625190)

Para uso en sistemas cobas® 6800/8800 (P/N 07833342190 o P/N 09040625190)


Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit
MTB-RIF/INH control positivo (MTB-RIF/INH (+) C)	Buffer Tris, < 0,05 % de azida sódica, < 0,05 % de EDTA, 0,002 % de poli Ar, < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencias genómicas de <i>M. tuberculosis</i> (16S, regiones promotoras de <i>rpoB</i> e <i>inhA</i> mutadas)	16 ml (16 × 1 ml)

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

Almacenar a 2-8 °C

Para uso en el sistema cobas® 5800 (P/N 09051953190)

Para uso en sistemas cobas® 6800/8800 (P/N 07002238190 o P/N 09051953190)




Farm. ROBERTA NELLE MOZZA
PRODUZIONI ROCCHE S.p.A. s.r.l.
DIVISIONE DIAGNOSTICA
DT & APODERADA LEGAL

Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit
Control negativo para el buffer de cobas® (BUF (-) C)	Buffer Tris, < 0,1 % de azida sódica, EDTA, 0,002 % de ARN poli Ar (sintético)	16 ml (16 × 1 ml)

Reactivos cobas omni para la preparación de muestras

Tabla 4 Reactivos **cobas omni** para la preparación de las muestras*

Reactivos	Composición del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997546190)	Partículas de vidrio magnéticas, buffer Tris, 0,1 % de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1 % de azida sódica	480 pruebas	No aplicable
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997511190)	Buffer Tris, 0,1 % de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1 % de azida sódica	4 × 875 ml	No aplicable
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997538190)	43 % (p/p) de tiocianato de guanidina***, 5 % (p/v) de polidocanol***, 2 % (p/v) de ditiotreitolo***, citrato de sodio dihidratado	4 × 875 ml	 <p>PELIGRO</p> <p>H302: Nocivo por ingestión. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. EUH071: Corrosivo para las vías respiratorias. P273: Evítese su liberación al medio ambiente. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección/protección para los oídos. P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P304 + P340 + P310: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P305 + P351 + P338 + P310: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P391 Recoger los derrames. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p>
cobas omni Wash Reagent (WASH) Almacenar a 15-30 °C (P/N: 06997503190)	Citrato de sodio dihidratado, 0,1 % de metil-4-hidroxibenzoato	4,2 l	No aplicable

* Estos reactivos no están incluidos en el kit **cobas®** MTB-RIF/INH. Consulte el listado de material adicional necesario (Tabla 8 a Tabla 10).

** Las etiquetas de seguridad del producto se basan fundamentalmente en la regulación GHS de la UE.

*** Sustancia peligrosa.

09348484001-01ES

Doc Rev. 1.0

10

Requisitos de almacenamiento y manipulación

Los reactivos deben almacenarse y manipularse según las indicaciones de la Tabla 5, la Tabla 6 y la Tabla 7.

Cuando los reactivos no están cargados en el cobas® 5800 o los cobas® 6800/8800 Systems, almacénelos a la temperatura correspondiente especificada en la Tabla 5.

Tabla 5 Almacenamiento de reactivos (cuando el reactivo no está cargado en el sistema)

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

Farm. ROBERTA MILE MAZZA
PRODUCOS ROCHE S.A. e. l.
Division Diagnostica
DT & APODERADA LEGAL

Requisitos para la manipulación de reactivos en el cobas® 5800 System

Los reactivos cargados en el cobas® 5800 System se almacenan a la temperatura correspondiente adecuada y el sistema controla su fecha de caducidad. El sistema solamente permite utilizar los reactivos cuando se cumplen todas las condiciones indicadas en la Tabla 6. El sistema evita automáticamente el uso de reactivos caducados. La Tabla 6 ayuda al usuario a entender las condiciones de manipulación de los reactivos del cobas® 5800 System.

Tabla 6 Condiciones de caducidad de los reactivos del cobas® 5800 System

Reactivo	Fecha de caducidad del kit	Estabilidad del kit abierto	Serie en las que se puede utilizar el kit	Periodo de estabilidad
cobas® MTB-RIF/INH	No caducado	90 días desde el primer uso	Máx. 40 series	Máx. 36 días ^b
cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit	No caducado	No aplicable ^a	No aplicable	Máx. 36 días ^b
cobas® Buffer Negative Control Kit	No caducado	No aplicable ^a	No aplicable	Máx. 36 días ^b
cobas omni Lysis Reagent	No caducado	30 días desde la carga ^b	No aplicable	No aplicable
cobas omni MGP Reagent	No caducado	30 días desde la carga ^b	No aplicable	No aplicable
cobas omni Specimen Diluent	No caducado	30 días desde la carga ^b	No aplicable	No aplicable
cobas omni Wash Reagent	No caducado	30 días desde la carga ^b	No aplicable	No aplicable

^a Reactivos de un solo uso.

^b El tiempo se calcula desde la primera vez que se carga el reactivo en el cobas® 5800 System.

Requisitos para la manipulación de reactivos en los **cobas**® 6800/8800 Systems

Los reactivos cargados en los **cobas**® 6800/8800 Systems se almacenan a la temperatura correspondiente adecuada y el sistema controla su fecha de caducidad. Los **cobas**® 6800/8800 Systems solamente permiten utilizar los reactivos cuando se cumplen todas las condiciones indicadas en la Tabla 7. El sistema evita automáticamente el uso de reactivos caducados. La Tabla 7 ayuda al usuario a entender las condiciones de manipulación de los reactivos de los **cobas**® 6800/8800 Systems.

Tabla 7 Condiciones de caducidad de los reactivos de los **cobas**® 6800/8800 Systems

Reactivo	Fecha de caducidad del kit	Estabilidad del kit abierto	Series en las que se puede utilizar el kit	Periodo de estabilidad (horas acumuladas de carga fuera de la nevera)
cobas ® MTB-RIF/INH	No caducado	90 días desde el primer uso	Máx. 40 series	Máx. 40 horas
cobas ® MTB-RIF/INH Positive Control Kit	No caducado	No aplicable ^a	No aplicable	Máx. 10 horas
cobas ® Buffer Negative Control Kit	No caducado	No aplicable ^a	No aplicable	Máx. 10 horas
cobas omni Lysis Reagent	No caducado	30 días desde la carga ^b	No aplicable	No aplicable
cobas omni MGP Reagent	No caducado	30 días desde la carga ^b	No aplicable	No aplicable
cobas omni Specimen Diluent	No caducado	30 días desde la carga ^b	No aplicable	No aplicable
cobas omni Wash Reagent	No caducado	30 días desde la carga ^b	No aplicable	No aplicable

^a Reactivos de un solo uso.

^b El tiempo se calcula desde la primera vez que se carga el reactivo en los **cobas**® 6800/8800 Systems.

Material adicional necesario para el cobas® 5800 System

Tabla 8 Material y fungibles para el uso en el cobas® 5800 System

Material	P/N
cobas omni Processing Plate 24	08413975001
cobas omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Punta CORE TIPS con filtro, 1 ml	04639642001
Punta CORE TIPS con filtro, 300 µl	07345607001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Bolsa para residuos sólidos	07435967001
o	o
Bolsa para residuos sólidos con complemento	08030073001

Material adicional necesario para los cobas® 6800/8800 Systems

Tabla 9 Materiales y fungibles para el uso en los cobas® 6800/8800 Systems

Material	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Bolsa para residuos sólidos y recipiente de residuos sólidos	07435967001 y 07094361001
o	o
Bolsa para residuos sólidos con complemento y actualización del kit del cajón de residuos sólidos	08030073001 y 08387281001

Tabla 10 Otros materiales y consumibles necesarios únicamente para el flujo de trabajo preanalítico

Materiales
cobas® Microbial Inactivation Solution (P/N 08185476001)
Sonicador de tubos TS 5 (Rinco Ultrasonics AG — P/N 46690)
Tubos de polipropileno de 5 ml con tapones de rosca de 75 × 13 mm, base redonda (Sarstedt — P/N de los tubos 60.504.010, P/N de los tapones 65.163)*
MPA RACK 13 MM LIGHT GREEN 7001-7050 (Roche — P/N 03118878001 o equivalente)**
Centrífuga (opción para limitar la FCR a un máximo de 3.000 × g, compatible con tubos con tapón de rosca de 75 × 13 mm)
Agitador vórtex
Etiquetas de código de barras termoestables (OPAL Associates AG, P/N 20300824 TTR PE-Folie Pharma o equivalente)***

- * Para utilizar tubos distintos a los recomendados más arriba el usuario debe verificarlos antes de su implementación en el flujo de trabajo de la prueba cobas® MTB-RIF/INH en el laboratorio.
- ** Se requieren racks MPA de 13 mm para utilizar el sonicador de tubos TS 5. Póngase en contacto con su representante local de Roche para obtener una lista de pedido detallada para racks de muestras equivalentes en otros colores o rangos numéricos. Tenga en cuenta que los racks RD5 no son compatibles con el sonicador de tubos TS 5.
- *** Para obtener más detalles sobre las especificaciones de los códigos de barras, consulte la Asistencia al usuario y/o la Guía del usuario de los cobas® 5800/6800/8800 Systems. Para utilizar etiquetas de código de barras distintas a las recomendadas más arriba, el usuario debe verificarlas antes de su implementación en el flujo de trabajo de la prueba cobas® MTB-RIF/INH en el laboratorio. Póngase en contacto con su representante local de Roche para obtener más información sobre las etiquetas de códigos de barras compatibles así como sugerencias para la comprobación de la compatibilidad. El uso de etiquetas de códigos de barras no compatibles puede provocar daños en los tubos durante el proceso de sonicación y contaminación en el instrumento.

Instrumentos y software necesarios

El software cobas® 5800 y el paquete de análisis cobas® MTB-RIF/INH para el cobas® 5800 System deben instalarse en el instrumento cobas® 5800. El software Data Manager y el PC para el cobas® 5800 System se suministran con el sistema.

El software cobas® 6800/8800 Systems y el paquete de análisis cobas® MTB-RIF/INH para los cobas® 6800/8800 Systems deben estar instalado en los instrumentos cobas® 6800/8800. El servidor IG (Instrument Gateway) se suministra con el sistema.

Tabla 11 Instrumentos

Equipo	P/N
cobas® 5800 System	08707464001
cobas® 6800 System (opción móvil)	06379672001
cobas® 6800 System (fijo)	05524245001
cobas® 8800 System	05412722001
Módulo de suministro de muestras	06301037001

Consulte la Asistencia al usuario y/o la Guía del usuario del cobas® 5800 System o los cobas® 6800/8800 Systems para obtener información adicional.

Precauciones y requisitos de manipulación

Farm. ROBERTA M.F.L. MAZZA
 PRODUCE LOS ROCHE S.A. de L.
 División Química
 DT & APODERADA LEGAL

Advertencias y precauciones

Como sucede con cualquier procedimiento analítico, resulta esencial seguir las buenas prácticas de laboratorio recomendadas para obtener un rendimiento correcto del ensayo. Debido a la elevada sensibilidad de esta prueba, deben extremarse las precauciones para evitar cualquier tipo de contaminación de los reactivos y las mezclas de amplificación.

- Para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.
- Todas las muestras de pacientes deben considerarse como potencialmente infecciosas. Por lo tanto, todas las muestras biológicas deben tratarse como si fueran infecciosas, utilizando los procedimientos de laboratorio recomendados y la evaluación de riesgos adecuada que se describen en la publicación Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, en el documento M29-A4 del CLSI y en el Manual de bioseguridad en el laboratorio de tuberculosis de la OMS.¹²⁻¹⁴ Solamente el personal competente en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba cobas® MTB-RIF/INH y los cobas® 5800/6800/8800 Systems deberían llevar a cabo este procedimiento.
- Todo el personal debe utilizar un equipo de protección individual que incluya bata de laboratorio, guantes desechables y protección ocular y respiratoria de acuerdo con los procedimientos y prácticas de seguridad del centro, así como seguir los procedimientos de seguridad del centro referentes al trabajo con sustancias químicas y muestras biológicas.
- La licuefacción de la muestra y la inactivación de micobacterias con MIS debería realizarse en una cabina de seguridad biológica (BSC) con un nivel de bioseguridad B3¹² de acuerdo con las directrices o regulaciones locales y del centro¹⁴ y según una evaluación de riesgos adecuada.
- El éxito de la inactivación de la TB depende del cumplimiento de los procedimientos descritos en este documento y en una mezcla total de la muestra con el reactivo MIS. El tratamiento preanalítico de las muestras de paciente mediante el MIS reduce, pero no elimina por completo, el riesgo de una infección por TB.
- Todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos y manipularse teniendo en cuenta las precauciones generales. En caso de que se produzca algún derrame, lleve a cabo una desinfección inmediata siguiendo los procedimientos apropiados del laboratorio.
- Si se produce un derrame de las muestras en el MIS (que contiene tiocianato de guanidina), no permita que entre en contacto con soluciones de hipoclorito de sodio que contengan desinfectantes como la lejía. Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad.
- Si se derraman muestras en el reactivo MIS, limpie PRIMERO con detergente apto para laboratorio y agua, y luego con etanol al 70 %.
- El reactivo MIS es sensible a la luz y se suministra en botellas con protección lumínica. El MIS debe almacenarse en posición vertical.
- Utilice solo el material fungible suministrado o que se requiera expresamente para garantizar el rendimiento establecido para la prueba.
- Siga al pie de la letra los procedimientos y las directrices que se suministran para garantizar la correcta realización de la prueba. Cualquier variación de dichos procedimientos y directrices podría afectar el rendimiento establecido para la prueba.
- Podrían producirse resultados falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.

09348484001-01ES

Doc Rev. 1.0

15

- Puede solicitar Hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) al representante local de Roche.
- Informe a la autoridad competente local de cualquier incidente grave que pueda tener lugar durante la realización del ensayo.

Manipulación de reactivos

- Manipule todos los reactivos, controles y muestras de acuerdo con las mejores prácticas de laboratorio para evitar la contaminación por arrastre de las muestras, los reactivos o los controles.
- Antes de utilizarlos, revise cada casete de reactivo, diluyente, reactivo de lisis y reactivo de lavado para asegurarse de que no hay signos de fugas. No utilice el material si hay alguna evidencia de fuga.
- El **cobas omni** Lysis Reagent y el reactivo MIS contienen tiocianato de guanidina, una sustancia química potencialmente peligrosa. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras.
- No permita que el **cobas omni** Lysis Reagent o el MIS, que contienen tiocianato de guanidina, entren en contacto con la solución de hipoclorito de sodio (lejía). Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad.
- Los kits de control usados contienen viales perforados con reactivo residual. Extreme la precaución durante su eliminación para evitar derrames y el contacto.
- La prueba **cobas**® MTB-RIF/INH, el **cobas**® MTB-RIF/INH Positive Control Kit, el **cobas**® Buffer Negative Control Kit, el **cobas omni** MGP Reagent y el **cobas omni** Specimen Diluent contienen azida sódica como conservante. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras. Si se producen salpicaduras de reactivos, diluya las manchas con agua antes de secarlas con un paño.
- Elimine todos los materiales que hayan estado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la reglamentación nacional, estatal y local.

Buenas prácticas de laboratorio

- No pipetee con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo.
- El proceso de inactivación de las muestras con el reactivo MIS debe realizarse dentro de una cabina de seguridad biológica (BSC) con un nivel de bioseguridad B3¹² u otro entorno con control de bioseguridad de acuerdo con las directrices o regulaciones locales y del centro y según una valoración de riesgos adecuada.
- Utilice guantes, bata de laboratorio y protección ocular y respiratoria cuando manipule las muestras y los reactivos de acuerdo con los procedimientos de seguridad de las instituciones. Evite la contaminación de los guantes durante la manipulación de las muestras y de los controles. Es necesario cambiarse los guantes entre la manipulación de las muestras y la prueba **cobas**® MTB-RIF/INH, el **cobas**® MTB-RIF/INH Positive Control Kit, el **cobas**® Buffer Negative Control Kit y los reactivos **cobas omni** para evitar la contaminación.
- Desinfectese y lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos, y al quitarse los guantes.
- Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies de trabajo del laboratorio usando una solución recién preparada de hipoclorito de sodio o potasio al 0,6 % en agua destilada o desionizada. A continuación, límpielas con un trapo impregnado en etanol al 70 %.
- Si el derrame se produce sobre los **cobas**® 5800/6800/8800 Systems, siga las instrucciones descritas en la Asistencia al usuario o las Guías del usuario de los **cobas**® Systems para limpiar y descontaminar correctamente la superficie de los instrumentos.

Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras

Nota: manipule todas las muestras y los controles como si pudieran transmitir agentes infecciosos.

Muestra

Para la prueba cobas® MTB-RIF/INH pueden utilizarse muestras de esputo sin procesar y sedimentos de esputo y LBA tratados con NALC-NaOH.

Transporte y almacenamiento de las muestras

Las muestras de esputo sin procesar pueden almacenarse y/o transportarse un máximo de 3 días a una temperatura de 2 °C a 35 °C, seguido de un periodo de hasta 7 días a una temperatura de 2 °C a 8 °C antes de los procesos de licuefacción e inactivación de la muestra mediante el reactivo MIS. Para el almacenamiento a largo plazo de muestras de esputo sin procesar no tratadas con MIS se recomiendan temperaturas ≤ -20 °C.

Las muestras de sedimento de esputo y de LBA tratadas con NALC-NaOH pueden almacenarse un máximo de 7 días a una temperatura de 2 °C a 8 °C antes de la inactivación de la muestra mediante el MIS. Para el almacenamiento a largo plazo de sedimentos de esputo y de LBA no tratados con MIS, las muestras pueden almacenarse congeladas a temperaturas ≤ -20 °C un máximo de 9 meses incluidos dos ciclos de congelación/descongelación.

Si las muestras se van a transportar, es recomendable empaquetarlas y etiquetarlas de acuerdo con la reglamentación estatal y/o internacional relativa al transporte de muestras y agentes etiológicos.

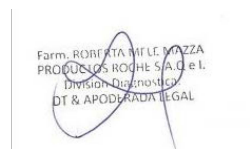
Almacenamiento de muestras inactivadas

Las muestras de esputo sin procesar y los sedimentos de esputo y de LBA tratados con NALC-NaOH que se hayan tratado con el reactivo MIS (inactivadas) pueden almacenarse un máximo de 12 horas a una temperatura de 15 °C a 35 °C, seguido de un periodo de hasta 7 días a una temperatura de 2 °C a 8 °C y 30 días a ≤ -20 °C incluidos dos ciclos de congelación/descongelación antes de procesarlas en los cobas® 5800/6800/8800 Systems.

Nota: es posible que las muestras tratadas con MIS no se congelen debido al elevado contenido de isopropanol.

Nota: la sonicación de las muestras puede realizarse en cualquier momento después de una incubación inicial con el reactivo MIS durante un mínimo de 60 minutos. Consulte el apartado “Sonicación de las muestras” para obtener información detallada.

Instrucciones de uso



Notas sobre el procedimiento

- No utilice la prueba **cobas**® MTB-RIF/INH, el **cobas**® MTB-RIF/INH Positive Control Kit, el **cobas**® Buffer Negative Control Kit, el reactivo MIS ni ningún reactivo **cobas** **omni** después de la fecha de caducidad.
- No reutilice el material fungible. Son de un solo uso.
- Asegúrese de que las etiquetas de código de barras termoestables de los tubos de muestras están orientadas hacia las ranuras situadas en la parte superior del lateral de los racks de muestras MPA y puedan verse a través de ellas. Consulte la Ilustración 1 y la Asistencia al usuario y/o las Guías del usuario de los **cobas**® 5800/6800/8800 Systems para conocer las especificaciones de códigos de barras adecuadas e información adicional sobre la carga de tubos de muestras.
- Cerciórese de destapar los tubos de muestras después de la sonicación y antes de cargarlos en los **cobas**® 5800/6800/8800 Systems.
- Consulte la Asistencia al usuario y/o la Guía del usuario de los **cobas**® 5800/6800/8800 Systems para obtener información sobre el correcto mantenimiento de los instrumentos.

Antes de realizar la prueba **cobas**® MTB-RIF/INH en los **cobas**® 5800/6800/8800 Systems, las muestras deben procesarse de acuerdo con los apartados siguientes: “Procesamiento de muestras de esputo sin procesar” o “Procesamiento de sedimentos de esputo y de LBA” y “Sonicación de las muestras”. Los flujos de trabajo representativos abreviados se resumen en la Tabla 12 para muestras de esputo sin procesar y en la Tabla 13 para muestras de sedimento. Para obtener más detalles, siga leyendo los apartados siguientes.

Nota: la inactivación de muestras con MIS debería realizarse en una cabina de seguridad biológica (BSC) con un nivel de bioseguridad B3¹² o en otro entorno con control de bioseguridad de acuerdo con las directrices o regulaciones locales y del centro¹⁴ y según una evaluación de riesgos adecuada.

Nota: la sonicación de las muestras tratadas con MIS puede llevarse a cabo en un laboratorio con nivel de bioseguridad 2 o en otro entorno con control de bioseguridad de acuerdo con las directrices o regulaciones locales y del centro.

Tabla 12 Resumen de flujos de trabajo — Muestra de esputo sin procesar




















BSL-3 (BSC)	1		2:1		Añadir 2 partes de MIS a 1 parte de esputo sin procesar
	2		30-60 segundos		Agite fuertemente o mezcle por vórtice durante 30-60 segundos
	3		≥ 60 minutos		Incubar la muestra como mínimo 60 min a 15-30 °C (temperatura ambiente)
	4		30-60 segundos		Agite fuertemente o mezcle por vórtice durante 30-60 segundos
	5		1,2 ml para 1 prueba 2,4 ml para 2 pruebas 3,6 ml para 3 pruebas		Transferir de 1,2 a 3,6 ml de muestra tratada con MIS a un tubo secundario con tapón de rosca
BSL-2	6		5 minutos		Sonicar la muestra tratada con MIS
	7		Máx. 1 minuto		Centrifugar la muestra como máximo 1 minuto a una FCR máxima de 3.000 × g
	8				Cargar la muestra sin tapar en el cobas ® 5800 o los cobas ® 6800/8800 Systems e iniciar la serie analítica con el tipo de muestra de esputo sin procesar

Tabla 13 Resumen de flujos de trabajo — Muestra de sedimento

BSL-3 (BSC)	1		0,2 ml para 1 prueba 0,4 ml para 2 pruebas 0,6 ml para 3 pruebas	Mezclar por vórtice y transferir de 0,2 a 0,6 ml de muestra de sedimento a un tubo secundario con tapón de rosca	
	2				<p>Añadir 5 partes de MIS a 1 parte de muestra de sedimento</p> <ul style="list-style-type: none"> • 1 ml de MIS para 1 prueba (0,2 ml de muestra de sedimento) • 2 ml de MIS para 2 pruebas (0,4 ml de muestra de sedimento) • 3 ml de MIS para 3 pruebas (0,6 ml de muestra de sedimento)
	3		30-60 segundos	Agite fuertemente o mezcle por vórtice durante 30-60 segundos	
	4		≥ 60 minutos	Incubar la muestra como mínimo 60 min a 15-30 °C (temperatura ambiente)	
	5		30-60 segundos	Agite fuertemente o mezcle por vórtice durante 30-60 segundos	
BSL-2	6		5 minutos	Sonicar la muestra tratada con MIS	
	7		Máx. 1 minuto	Centrifugar la muestra como máximo 1 minuto a una FCR máxima de 3.000 × g	
	8			Cargar la muestra sin tapar en el cobas ® 5800 o los cobas ® 6800/8800 Systems e iniciar la serie analítica con el tipo de muestra de sedimento	

Procesamiento de muestras de esputo sin procesar

- Confirme que el contenedor de esputo sin procesar está correctamente etiquetado y contiene un mínimo de 0,4 ml de esputo. Si se ha almacenado congelada, descongele y equilibre la muestra a temperatura ambiente.
- Invierta las botellas de MIS de dos a cuatro veces antes de su uso.
- Abra el contenedor de esputo y añada aproximadamente dos partes de MIS a una parte de muestra de esputo (p. ej., 2 ml de MIS a 1 ml de muestra de esputo) mediante una estimación de volumen visual y con una pipeta desechable. Cierre bien el contenedor de esputo.
- Cierre las botellas de MIS inmediatamente después de usarlas.
- Agite fuertemente o mezcle por vórtice durante 30-60 segundos.
Nota: asegúrese de que la muestra de esputo se mezcla completamente con el reactivo MIS.
- Incube la muestra como mínimo 60 minutos a 15-30 °C (temperatura ambiente).
Nota: consulte el apartado “Almacenamiento de muestras inactivadas” para conocer las condiciones de almacenamiento máximas.
- Agite fuertemente o mezcle por vórtice durante 30-60 segundos o hasta que la muestra esté completamente homogeneizada.
- Transfiera un mínimo de 1,2 ml y un máximo de 3,6 ml de muestra de esputo tratada con MIS a un tubo de polipropileno de 5 ml con tapón de rosca y código de barras termoestable de 75 × 13 mm y base redonda (Sarstedt — P/N del tubo 60.504.010, P/N del tapón 65.163). Cierre bien el tubo.
Nota: antes de transferir la muestra, confirme que la información del código de barras del contenedor de esputo coincide con la del tubo secundario de 5 ml.
Nota: consulte la Tabla 14.
- Lleve a cabo la sonicación de la muestra inactivada de acuerdo con el apartado “Sonicación de las muestras” antes de realizar la prueba cobas® MTB-RIF/INH.

Procesamiento de sedimentos de esputo y de LBA

- Confirme que el contenedor de sedimento de esputo y de LBA tratado con NALC-NaOH está correctamente etiquetado y contiene un mínimo de 0,2 ml de muestra. Si se ha almacenado congelada, descongele y equilibre la muestra a temperatura ambiente.
- Agite la muestra de sedimento durante un mínimo de 10 segundos.
- Transfiera un mínimo de 0,2 ml y un máximo de 0,6 ml de muestra de sedimento a un tubo de polipropileno de 5 ml con tapón de rosca y código de barras de 75 × 13 mm y base redonda (Sarstedt — P/N del tubo 60.504.010, P/N del tapón 65.163).
Nota: antes de transferir la muestra confirme que la información del código de barras del contenedor de muestra coincide con la del tubo secundario de 5 ml.
- Invierta las botellas de MIS de dos a cuatro veces antes de su uso.
- Añada cinco partes de MIS a una parte de muestra (p. ej., 1 ml de MIS a 0,2 ml de muestra). Cierre bien el tubo.
Nota: consulte la Tabla 14.
- Cierre las botellas de MIS inmediatamente después de usarlas.
- Agite fuertemente o mezcle por vórtice durante 30-60 segundos.
Nota: asegúrese de que la muestra se mezcla completamente con el reactivo MIS.
- Incube la muestra como mínimo 60 minutos a 15-30 °C (temperatura ambiente).

Nota: consulte el apartado “Almacenamiento de muestras inactivadas” para conocer las condiciones de almacenamiento máximas.

- Agite fuertemente o mezcle por vórtice durante 30-60 segundos.
- Lleve a cabo la sonicación de la muestra inactivada de acuerdo con el apartado “Sonicación de las muestras” antes de realizar la prueba cobas® MTB-RIF/INH.

Tabla 14 Requisitos de volumen de muestra tratada con cobas® Microbial Inactivation Solution para realizar la prueba cobas® MTB-RIF/INH

Pruebas que se realizarán desde tubo secundario	Volumen mínimo requerido de muestra tratada con MIS	Volumen máximo requerido de muestra tratada con MIS
1 petición de prueba	1,2 ml	3,6 ml
2 peticiones de pruebas*	2,4 ml	3,6 ml
3 peticiones de pruebas*	3,6 ml	3,6 ml

* Se puede usar para el procesamiento en un lote mixto con otros ensayos cobas® 5800/6800/8800 utilizando el mismo tipo de muestra o para una prueba de repetición.

Sonicación de las muestras

- El proceso de sonicación de las muestras para realizar la prueba cobas® MTB-RIF/INH debe llevarse a cabo en un dispositivo sonicador de tubos TS 5 de Rinco Ultrasonics AG (P/N 46690). El uso de otros dispositivos de sonicación puede generar resultados falsos positivos, falsos negativos y/o inválidos. El funcionamiento del sonicador se describe con detalle en la Guía del usuario del fabricante.
- Coloque cinco tubos con tapón de rosca cerrados y etiquetados con código de barras que contengan de 1,2 ml a 3,6 ml de muestra tratada con MIS en un rack MPA.

Nota: asegúrese de que las etiquetas de código de barras termoestables de los tubos de muestras están orientadas hacia las ranuras situadas en la parte superior del lateral de los racks de muestras MPA y puedan verse a través de ellas (consulte la Ilustración 1).

Nota: compruebe que cada tubo contiene una etiqueta de código de barras termoestable.

Nota: asegúrese de que están ocupadas las cinco posiciones de tubo del rack MPA. Si hay disponibles menos de cinco tubos con muestra tratada con MIS, las posiciones restantes deben ocuparse con tubos “comodín” llenos de agua o MIS del mismo tipo de tubo y con una etiqueta de código de barras termoestable.

Ilustración 1 Colocación correcta de los tubos de muestra en un rack MPA antes de la sonicación



- Inicie el sonicador de tubos.
- Seleccione el perfil de sonicación predefinido “Respiratory Samples” (Muestras respiratorias).
- Abra el dispositivo sonicador de tubos e inserte el rack MPA siguiendo las instrucciones del fabricante.
- Cierre el sonicador de tubos.
- Inicie la serie de sonicación.
- Confirme que la serie de sonicación ha finalizado correctamente y retire el rack MPA.
 - Nota:** los tubos de muestra se calientan durante la serie de sonicación. Preste atención cuando retire el rack MPA con los tubos de muestra.
 - Nota:** si la sonicación no se realiza correctamente, consulte las instrucciones del fabricante, corrija la causa del fallo y repita la serie de sonicación después de permitir el enfriamiento de las muestras durante 15 minutos como mínimo.
- Ahora, las muestras tratadas con MIS y sonicadas pueden ejecutarse con la prueba cobas® MTB-RIF/INH o bien almacenarse en las condiciones especificadas en el apartado “Almacenamiento de muestras inactivadas”.

Ejecución de la prueba cobas® MTB-RIF/INH en el cobas® 5800 System

La prueba cobas® MTB-RIF/INH puede realizarse con un volumen de muestra mínimo de 1,2 ml, de los cuales se procesan 850 µl. El procedimiento de la prueba se describe con detalle en la Asistencia al usuario y/o la Guía del usuario del cobas® 5800 System. En la Ilustración 2 se resume el procedimiento.

- Antes de destapar los tubos y cargar las muestras en el cobas® 5800 System, se recomienda sedimentar los restos celulares y de la matriz mediante centrifugación de la muestra durante 1 minuto como máximo a una FCR máxima de $3.000 \times g$.
- Una sola serie puede combinar varios tipos de muestras (esputo sin tratar, sedimento).

Nota: mezcle por vórtice las muestras un mínimo de 10 segundos si las muestras han estado almacenadas durante más de 1 hora después de la sonicación y antes de la centrifugación.

Nota: la omisión del paso de centrifugación puede resultar en un incremento de la tasa de coágulos en la muestra en el cobas® 5800 System.

Ilustración 2 Procedimiento de la prueba cobas® MTB-RIF/INH en el cobas® 5800 System

1	Inicie una sesión en el sistema.
2	<p>Cargue las muestras en el sistema.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Retire el tapón del tubo. • Transfiera el tubo directamente al rack. • Cargue los racks de muestras en el sistema. • El sistema se prepara automáticamente. • Solicite las pruebas. <ul style="list-style-type: none"> • Seleccione “Raw sputum” (Esputo sin procesar) para solicitar muestras de esputo sin procesar tratadas con MIS. • Seleccione “Sediment” (Sedimento) para solicitar muestras de sedimento de esputo/LBA tratadas con MIS.
3	<p>Cargue los reactivos y el material fungible según las indicaciones del sistema.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cargue el casete de reactivo específico de la prueba. • Cargue los miniracks de control. • Cargue las puntas de procesamiento. • Cargue las puntas de elución. • Cargue las placas de procesamiento. • Cargue las placas de residuos líquidos. • Cargue las placas de amplificación. • Cargue el casete de MGP. • Cargue el diluyente de muestras. • Cargue el reactivo de lisis. • Cargue el reactivo de lavado.
4	Seleccione el botón de inicio de procesamiento en la interfaz de usuario para iniciar la serie analítica. Las series siguientes se iniciarán de forma automática si no se posponen manualmente.
5	Revise y exporte los resultados.
6	<p>Retire y tape todos los tubos de muestra que cumplan los requisitos de volumen mínimo para utilizarlos en el futuro, en caso necesario.</p> <p>Limpie el instrumento.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Descargue los miniracks de control vacíos. • Descargue el casete de reactivo específico de la prueba vacío. • Vacíe el cajón de placas de amplificación. • Vacíe los residuos líquidos. • Vacíe los residuos sólidos.

Farm. ROBERTA M.F.L. MAZZA
 PRODUC. LOS ROCHE S.A. Q. de L.
 División Diagnóstico
 DT & APODERADA LEGAL

Ejecución de la prueba cobas® MTB-RIF/INH en los cobas® 6800/8800 Systems

La prueba cobas® MTB-RIF/INH puede realizarse con un volumen de muestra mínimo de 1,2 ml, de los cuales se procesan 850 µl. El funcionamiento del instrumento se describe con detalle en la Asistencia al usuario y/o la Guía del usuario de los cobas® 6800/8800 Systems. En la Ilustración 3 se resume el procedimiento.

- Antes de destapar los tubos y cargar las muestras en los cobas® 6800/8800 Systems, se recomienda sedimentar los restos celulares y de la matriz mediante centrifugación de la muestra durante 1 minuto como máximo a una FCR máxima de $3.000 \times g$.
- Una sola serie puede combinar varios tipos de muestras (esputo sin tratar, sedimento).

Nota: mezcle por vórtice las muestras un mínimo de 10 segundos si las muestras han estado almacenadas durante más de 1 hora después de la sonicación y antes de la centrifugación.

Nota: la omisión del paso de centrifugación puede resultar en un incremento de la tasa de coágulos en la muestra en los cobas® 6800/8800 Systems.



Ilustración 3 Procedimiento de la prueba cobas® MTB-RIF/INH en los cobas® 6800/8800 Systems

1	<p>Inicie una sesión en el sistema. Pulse el botón “Iniciar” para preparar el sistema. Solicite las pruebas.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Seleccione “Raw sputum” (Esputo sin procesar) para solicitar muestras de esputo sin procesar tratadas con MIS. • Seleccione “Sediment” (Sedimento) para solicitar muestras de sedimento de esputo/LBA tratadas con MIS.
2	<p>Cargue los reactivos y el material fungible según las indicaciones del sistema.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cargue el casete de reactivo específico de la prueba. • Cargue los casetes de control. • Cargue las puntas de pipeta. • Cargue las placas de procesamiento. • Cargue el reactivo MGP. • Cargue las placas de amplificación. • Cargue el diluyente de muestras. • Cargue el reactivo de lisis. • Cargue el reactivo de lavado.
3	<p>Cargue las muestras en el sistema.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Para cada muestra: <ul style="list-style-type: none"> ◦ Retire el tapón del tubo. ◦ Transfiera el tubo a un rack. • Cargue el rack de muestras y los racks para puntas obstruidas en el módulo de suministro de muestras. • Confirme que las muestras han sido aceptadas en el módulo de transferencia.
4	Inicie la serie.
5	Revise y exporte los resultados.
6	<p>Retire y tape todos los tubos de muestra que cumplan los requisitos de volumen mínimo para utilizarlos en el futuro, en caso necesario.</p> <p>Limpie el instrumento.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Descargue los casetes de control vacíos. • Vacíe el cajón de placas de amplificación. • Vacíe los residuos líquidos. • Vacíe los residuos sólidos.

Farm. ROBERTA RIFLE MAZZA
 PRODUTOS ROCHÉ S.A. Q. de L.
 División Diagnóstico
 DT & APODERADA LEGAL

Resultados

La prueba **cobas**® MTB-RIF/INH detecta automáticamente las mutaciones asociadas con la resistencia a la rifampicina y las mutaciones asociadas con la resistencia a la isoniazida en muestras y controles, además de mostrar la validez de la prueba y los resultados para cada una de las dianas.

Control de calidad y validez de los resultados en el **cobas**® 5800 System

- Se procesan un control negativo [(-) Ctrl] y un control positivo [MTB-RIF/INH (+) C] al menos cada 72 horas y con cada lote de kit nuevo. Los controles positivos y/o negativos pueden programarse con mayor frecuencia en función de los procedimientos de laboratorio y/o la reglamentación local.
- Compruebe los avisos y los resultados asociados tanto en el software del **cobas**® 5800 System como en el informe para garantizar la validez de los resultados.

El software **cobas**® 5800 invalida automáticamente los resultados cuando los controles positivos o negativos fallan.

NOTA: el **cobas**® 5800 System se suministra con la configuración estándar para el análisis de un conjunto de controles (positivo y negativo) con cada serie, pero se puede modificar por un programa menos frecuente de hasta cada 72 horas según los procedimientos de laboratorio y la reglamentación local. Póngase en contacto con su ingeniero técnico de Roche y/o con el representante del servicio técnico de Roche para obtener más información.

Resultados del control en el **cobas**® 5800 System

Los resultados de los controles se muestran en el software **cobas**® 5800, en la aplicación de controles.

- Los controles se marcan como “Valid” en la columna “Resultados de control” cuando todas las dianas del control se han notificado como válidas. Los controles se marcan como “Invalid” en la columna “Resultados de control” cuando todas o alguna de las dianas del control se han notificado como no válidas.
- Los controles marcados como “Invalid” muestran un aviso en la columna “Aviso”. En la vista de detalles podrá encontrar más información sobre el motivo por el que el control se ha notificado como no válido, además de información sobre el aviso.
- Si uno de los controles no es válido, repita el análisis de todos los controles y de todas las muestras asociadas.

Control de calidad y validez de los resultados en los **cobas**® 6800/8800 Systems

- En cada serie para un tipo de resultado solicitado se procesa un control negativo [(-) Ctrl] y un control positivo [MTB-RIF/INH (+) C].
- Compruebe los avisos y los resultados asociados tanto en el software **cobas**® 6800/8800 como en el informe para garantizar la validez de la serie.
- Todos los avisos están descritos en la Asistencia al usuario y/o la Guía del usuario de los **cobas**® 6800/8800 Systems.
- La serie se considera válida cuando no hay avisos para ninguno de los controles. Si la serie no es válida, repita las pruebas para toda la serie.

El software **cobas**® 6800/8800 Systems valida automáticamente los resultados según el resultado del control negativo y del control positivo.

Interpretación de los resultados

Tabla 15 Resultados e interpretación de la prueba cobas® MTB-RIF/INH

Diana 1	Diana 2	Diana 3	Diana 4	Interpretación
INH Negative	RIF1 Negative	RIF2 Negative	RIF3 Negative	El resultado para INH es válido. No se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. No se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Negative	RIF 1 Positive	RIF 2 Negative	RIF 3 Negative	El resultado para INH es válido. No se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Negative	RIF 1 Negative	RIF 2 Positive	RIF 3 Negative	El resultado para INH es válido. No se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Negative	RIF 1 Negative	RIF 2 Negative	RIF 3 Positive	El resultado para INH es válido. No se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Negative	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	RIF 3 Negative	El resultado para INH es válido. No se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Negative	RIF 1 Positive	RIF 2 Negative	RIF 3 Positive	El resultado para INH es válido. No se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Negative	RIF 1 Negative	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	El resultado para INH es válido. No se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Negative	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	El resultado para INH es válido. No se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Positive	RIF 1 Negative	RIF 2 Negative	RIF 3 Negative	El resultado para INH es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. No se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Positive	RIF 1 Positive	RIF 2 Negative	RIF 3 Negative	El resultado para INH es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Positive	RIF 1 Positive	Invalid	Invalid	El resultado para INH es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.

Diana 1	Diana 2	Diana 3	Diana 4	Interpretación
INH Positive	RIF 1 Negative	RIF 2 Positive	RIF 3 Negative	El resultado para INH es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Positive	Invalid	RIF 2 Positive	Invalid	El resultado para INH es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Positive	RIF 1 Negative	RIF 2 Negative	RIF 3 Positive	El resultado para INH es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Positive	Invalid	Invalid	RIF 3 Positive	El resultado para INH es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Positive	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	RIF 3 Negative	El resultado para INH es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Positive	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	Invalid	El resultado para INH es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Positive	RIF 1 Positive	RIF 2 Negative	RIF 3 Positive	El resultado para INH es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Positive	RIF 1 Positive	Invalid	RIF 3 Positive	El resultado para INH es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Positive	RIF 1 Negative	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	El resultado para INH es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Positive	Invalid	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	El resultado para INH es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Positive	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	El resultado para INH es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Positive	Invalid	Invalid	Invalid	El resultado para INH es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF no es válido. Consulte las instrucciones mencionadas más arriba.

Diana 1	Diana 2	Diana 3	Diana 4	Interpretación
Invalid	RIF 1 Positive	Invalid	Invalid	El resultado para INH no es válido. Consulte las instrucciones mencionadas más arriba. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
Invalid	Invalid	RIF 2 Positive	Invalid	El resultado para INH no es válido. Consulte las instrucciones mencionadas más arriba. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
Invalid	Invalid	Invalid	RIF 3 Positive	El resultado para INH no es válido. Consulte las instrucciones mencionadas más arriba. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
Invalid	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	Invalid	El resultado para INH no es válido. Consulte las instrucciones mencionadas más arriba. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
Invalid	RIF 1 Positive	Invalid	RIF 3 Positive	El resultado para INH no es válido. Consulte las instrucciones mencionadas más arriba. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
Invalid	Invalid	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	El resultado para INH no es válido. Consulte las instrucciones mencionadas más arriba. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
Invalid	RIF 1 Positive	RIF 2 Positive	RIF 3 Positive	El resultado para INH no es válido. Consulte las instrucciones mencionadas más arriba. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
INH Positive	RIF 1 Negative	Invalid	RIF 3 Positive	El resultado para INH es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a INH. El resultado para RIF es válido. Se detectan mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.
Invalid	Invalid	Invalid	Invalid	El resultado para INH no es válido. Consulte las instrucciones mencionadas más arriba. El resultado para RIF no es válido. Consulte las instrucciones mencionadas más arriba.

Interpretación de los resultados en el cobas® 5800 System

Los resultados de las muestras se muestran en el software del cobas® 5800, en la aplicación de resultados.

En las series de control válidas, compruebe cada muestra para detectar avisos en el software cobas® 5800 System y/o en el informe. La interpretación de resultados se debe realizar del siguiente modo:

- Las muestras asociadas con las series de control válidas se muestran como “Valid” en la columna “Resultados de control” cuando todos los resultados de las dianas del control se han notificado como válidos. Las muestras asociadas con las series de control erróneas se muestran como “Invalid” en la columna “Resultados de control” cuando todos los resultados de las dianas del control se han notificado como no válidos.
- Si los controles asociados al resultado de una muestra no son válidos, se añade un aviso específico al resultado de la muestra de la siguiente manera:
 - Q05D: fallo de validación del resultado por un control positivo no válido
 - Q06D: fallo de validación del resultado por un control negativo no válido
- Los valores en la columna “Resultados” para el resultado de la diana de la muestra individual deben interpretarse como se muestra en la Tabla 15 anterior.

Si una o más dianas de la muestra están marcadas como “Invalid”, el software cobas® 5800 muestra un aviso en la columna de avisos. En la vista de detalles podrá encontrar más información sobre el motivo por el que la(s) diana(s) de la muestra se ha notificado como no válidas, además de información sobre el aviso.

Ilustración 4 Ejemplo de resultados de cobas® MTB-RIF/INH en el cobas® 5800 System

ID muestra	Prueba	Resultado de control	Aviso	Estado	Resultado				Fecha/Hora creación
MRI_RS_inv-01	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Invalid	RIF1 Invalid	RIF2 Invalid	RIF3 Invalid	7/1/2022 11:45:19 AM
MRI_RS_neg-01	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Negative	RIF1 Negative	RIF2 Negative	RIF3 Negative	7/1/2022 11:45:20 AM
MRI_RS_neg-02	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Negative	RIF1 Negative	RIF2 Negative	RIF3 Negative	7/1/2022 11:45:20 AM
MRI_RS_pos-01	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Positive (Ct 41.56)	RIF1 Positive (Ct 40.12)	RIF2 Positive (Ct 41.08)	RIF3 Positive (Ct 40.38)	7/1/2022 11:45:18 AM
MRI_RS_pos-02	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Positive (Ct 40.22)	RIF1 Positive (Ct 42.00)	RIF2 Positive (Ct 42.78)	RIF3 Positive (Ct 42.77)	7/1/2022 11:45:19 AM
MRI_S_inv-01	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Invalid	RIF1 Invalid	RIF2 Invalid	RIF3 Invalid	7/1/2022 11:45:18 AM
MRI_S_neg-01	MTB-RIF/INH	Valid		Released	INH Negative	RIF1 Negative	RIF2 Negative	INH Negative	7/1/2022 11:45:18 AM

Interpretación de los resultados en los cobas® 6800/8800 Systems

En las series válidas, compruebe cada muestra para detectar avisos en el software **cobas® 6800/8800 Systems** y/o en el informe. La interpretación de resultados se debe realizar del siguiente modo:

- Una serie válida puede incluir resultados de muestras tanto válidos como no válidos.
- Las columnas “Válido” y “Resultado global” no son aplicables a los resultados de las muestras de la prueba **cobas® MTB-RIF/INH** y aparecen marcadas como “NA”. Los valores indicados en estas columnas no son aplicables y **no** influyen en la validez de los resultados comunicados en las columnas de resultados de diana individuales.
- Los resultados comunicados de las dianas para muestras individuales son válidos a no ser que se indiquen como “Invalid” en la columna de resultado de diana individual. Los resultados correspondientes a las mutaciones asociadas con la resistencia a la RIF pueden contener uno o dos resultados de diana individuales no válidos, tal como se indica en la Tabla 15.
- Podría existir más de una mutación asociada con la resistencia a la RIF que podría detectarse en uno de los canales de detección de RIF (diana 2, diana 3, diana 4). La prueba **cobas® MTB-RIF/INH** no diferencia las mutaciones asociadas con la resistencia específica a la RIF.
- Podría existir más de una mutación asociada con la resistencia a la INH que podría detectarse en el canal de detección de INH (diana 1). La prueba **cobas® MTB-RIF/INH** no diferencia las mutaciones asociadas con la resistencia específica a la INH.
- La prueba **cobas® MTB-RIF/INH** es una prueba confirmatoria de la prueba **cobas® MTB** y como tal utiliza la detección del ADN del complejo MTB no mutado para monitorizar la totalidad de los procesos de preparación de muestras y amplificación mediante PCR. La prueba **cobas® MTB** se diferencia de la prueba **cobas® MTB-RIF/INH** por su mayor sensibilidad de detección del ADN del complejo MTB gracias a su enfoque de diana doble, con una de las dianas presente en múltiples copias genómicas. Por este motivo, en algunos casos en los que no se detecta ni el complejo MTB ni las mutaciones asociadas con las resistencias respectivas, la prueba **cobas® MTB-RIF/INH** no es capaz de determinar la presencia o ausencia de mutaciones asociadas con las resistencias (resultado “Invalid” en la columna de resultados de la diana individual correspondiente, Tabla 15).

Cuando esto sucede:

- Revise los avisos relacionados. Los avisos “C02H1-H5” indican un volumen insuficiente de ADN del complejo MTB en ausencia de otros avisos.
- Vuelva a analizar la muestra inactivada siempre y cuando haya suficiente volumen de acuerdo con la Tabla 14 y si la muestra inactivada se ha almacenado según el apartado “Almacenamiento de muestras inactivadas”; también puede repetir el análisis con una muestra totalmente nueva.
- Plántese la opción de aumentar la carga bacteriana de *M. tuberculosis* mediante expansión del cultivo o el uso de métodos alternativos si se obtienen resultados no válidos de forma repetida para el mismo paciente.
- Los resultados de esta prueba solo deben interpretarse junto con la información disponible de la evaluación clínica del paciente y de su historial.

Los resultados y su interpretación para la detección de mutaciones asociadas con la resistencia a la rifampicina y a la isoniazida se muestran en la Tabla 15.

Ilustración 5 Ejemplo de resultados de **cobas®** MTB-RIF/INH en los **cobas®** 6800/8800 Systems

Prueba	ID muestra	Válido	Avisos	Tipo de muestra	Resultado general	Diana 1	Diana 2	Diana 3	Diana 4
MTB-RIF/INH 850 µL	MDR_Suspect_R_0001	NA		Raw Sputum	NA	INH Negative	RIF1 Negative	RIF2 Positive	RIF3 Negative
MTB-RIF/INH 850 µL	MDR_Suspect_R_0002	NA		Raw Sputum	NA	INH Positive	RIF1 Negative	RIF2 Negative	RIF3 Positive
MTB-RIF/INH 850 µL	MDR_Suspect_R_0003	NA	P02T	Raw Sputum	NA	Invalid	Invalid	Invalid	Invalid
MTB-RIF/INH 850 µL	MDR_Suspect_S_0001	NA		Sediment	NA	INH Negative	RIF1 Negative	RIF2 Positive	RIF3 Negative
MTB-RIF/INH 850 µL	MDR_Suspect_S_0002	NA		Sediment	NA	INH Positive	RIF1 Negative	RIF2 Negative	RIF3 Positive
MTB-RIF/INH 850 µL	MDR_Suspect_S_0003	NA	C02H1	Sediment	NA	Invalid	Invalid	Invalid	Invalid
MTB-RIF/INH 850 µL	C161420284090428828404	Yes		(-) Ctrl	Valid	Valid	Valid	Valid	Valid
MTB-RIF/INH 850 µL	C161420284093009580264	Yes		MTB-RIF/INH (+) C	Valid	Valid	Valid	Valid	Valid

Limitaciones del procedimiento

- La prueba **cobas®** MTB-RIF/INH debe realizarse siempre con pruebas de cultivo micobacteriano y farmacosen­sibilidad y como prueba confirmatoria de la prueba **cobas®** MTB (muestras positivas según **cobas®** MTB) para minimizar el riesgo de resultados falsos positivos, falsos negativos o no válidos. El rendimiento de la prueba **cobas®** MTB-RIF/INH ha sido validado para muestras de esputo sin procesar y para muestras de sedimento de esputo y de LBA que han sido licuadas, descontaminadas y concentradas con NALC-NaOH. El uso de otros tipos de muestras puede generar resultados falsos positivos, falsos negativos y/o inválidos. La digestión y la descontaminación deben realizarse mediante procedimientos con NALC-NaOH recomendados por el CDC.¹⁵ El uso de procedimientos preanalíticos alternativos para la preparación de las muestras puede generar resultados falsos positivos, falsos negativos y/o inválidos.
- La prueba **cobas®** MTB-RIF/INH se ha validado para su uso con muestras de esputo sin procesar y muestras de sedimento de esputo y de LBA tratadas con NALC-NaOH inactivadas químicamente con el reactivo MIS. No se ha evaluado la aplicación de otros procedimientos de inactivación y su uso puede generar resultados falsos positivos, falsos negativos y/o inválidos.
- El éxito de la inactivación de la TB depende del cumplimiento de los procedimientos descritos en este documento y en una mezcla total de la muestra con el reactivo MIS. El tratamiento preanalítico de las muestras de paciente mediante el MIS reduce, pero no elimina por completo, el riesgo de una infección por TB.
- Superar las limitaciones de volumen y/o desviarse de los pasos de procedimiento descritos en los apartados “Procesamiento de muestras de esputo sin procesar”, “Procesamiento de sedimentos de esputo y de LBA” y “Sonicación de las muestras” puede conducir a resultados falsos positivos, falsos negativos y/o inválidos.
- Los ensayos de amplificación de ácidos nucleicos no pueden determinar la viabilidad de un organismo.
- El éxito o fracaso terapéutico del tratamiento antituberculosis no pueden determinarse con esta prueba.
- El uso de este producto debe limitarse al personal con experiencia en el empleo de técnicas de PCR y la utilización de los **cobas®** 5800/6800/8800 Systems.

- La prueba **cobas**® MTB-RIF/INH se ha evaluado únicamente para su uso en combinación con el **cobas**® MTB-RIF/INH Positive Control Kit, el **cobas**® Buffer Negative Control Kit, el **cobas** **omni** MGP Reagent, el **cobas** **omni** Lysis Reagent, el **cobas** **omni** Specimen Diluent y el **cobas** **omni** Wash Reagent en los **cobas**® 5800/6800/8800 Systems, el MIS y el sonicador de tubos TS 5 de Rinco Ultrasonics AG.
- La obtención de resultados fiables depende de que los procedimientos de recogida, almacenamiento y manipulación de muestras sean adecuados.
- El uso de la prueba **cobas**® MTB-RIF/INH no se ha evaluado para pacientes menores de 18 años.
- La prueba **cobas**® MTB-RIF/INH no está indicada para su uso con muestras respiratorias como prueba de sanación.
- La prueba **cobas**® MTB-RIF/INH no distingue entre las distintas especies del complejo MTB.
- La detección de las mutaciones asociadas con la resistencia a la rifampicina y con la resistencia a la isoniazida depende del número de organismos del complejo MTB presentes en la muestra y puede verse afectada por los métodos de obtención de las muestras y factores propios del paciente (como la edad, la gravedad de la enfermedad y el estado de VIH).
- Los pacientes infectados tanto por MTB como por VIH tienen una mayor probabilidad de que las muestras sean negativas en frotis y de que, por lo tanto, presenten un nivel de complejo MTB inferior al límite de detección del ensayo.
- Los profesionales sanitarios deben interpretar los resultados en el contexto del historial del paciente, la presentación clínica y otros resultados de las pruebas de laboratorio y de radiología.
- Pueden obtenerse resultados falsos negativos o no válidos debido a la inhibición de la polimerasa. La detección del ADN del complejo MTB inherente a la muestra está incluido en el diseño de la prueba **cobas**® MTB-RIF/INH como control interno para garantizar que las muestras contengan suficiente ADN del complejo MTB.
- La incorporación de la enzima AmpErase al reactivo de Master Mix de la prueba **cobas**® MTB-RIF/INH permite realizar una amplificación selectiva del ADN diana; no obstante, es imprescindible emplear las mejores prácticas de laboratorio y cumplir estrictamente los procedimientos especificados en este documento de instrucciones de uso para evitar la contaminación de los reactivos.
- Aunque es poco frecuente, las mutaciones asociadas con las resistencias pueden no ser detectadas cuando existen otras mutaciones en regiones próximas.
- Debido a las diferencias específicas entre tecnologías, se recomienda a los usuarios que realicen estudios de correlación en el laboratorio para determinar las diferencias tecnológicas antes de cambiar de una a otra. No cabe esperar una concordancia de porcentaje del 100 % entre los resultados debido a las diferencias entre tecnologías indicadas anteriormente.
- Para utilizar tubos distintos a los recomendados en la Tabla 10, el usuario debe verificarlos antes de su implementación en el flujo de trabajo de la prueba **cobas**® MTB-RIF/INH en el laboratorio. El empleo de otros tipos de tubos puede dañar los tubos y contaminar las superficies del sonicador. También pueden obtenerse resultados falsos negativos debido a una transferencia de energía de sonicación insuficiente.
- Para utilizar códigos de barras distintos a los recomendados en la Tabla 10, el usuario debe verificarlos antes de su implementación en el flujo de trabajo de la prueba **cobas**® MTB-RIF/INH en el laboratorio. El empleo de otros tipos de códigos de barras puede dañar el código de barras.

Evaluación del rendimiento

Características clave de rendimiento de los cobas® 6800/8800 Systems

Inactivación de la muestra

La reducción del riesgo de infección por MTB gracias al tratamiento de las muestras con MIS ha sido evaluado mediante cultivos altamente positivos de dos cepas del complejo MTB (MTB CDC268 y MTB H37) en tres centros distintos y con tres lotes de reactivo MIS distintos. Para cada condición, se trataron cinco alícuotas de cultivo con niveles de concentración de hasta 5×10^7 UFC/ml con el reactivo MIS en una proporción de 1:2 durante 60 minutos a temperatura ambiente. A continuación, las muestras se centrifugaron durante 15 minutos a $3.000 \times g$, se lavaron dos veces con PBS estéril y finalmente se resuspendieron en 0,5 ml de PBS estéril. En dos de los centros se inoculó toda la muestra inactivada y se sometió a pruebas de crecimiento con el sistema de detección micobacteriana BACTEC™ MGIT™ 320 (Becton Dickinson). En el tercer centro se analizó la viabilidad de la bacteria MTB en un medio de Löwenstein-Jensen (LJ) sólido. Ninguna de las muestras inactivadas mostró crecimiento de las bacterias del complejo *M. tuberculosis* al final del periodo de incubación de 56 días.

Límite de detección (LoD)

El límite de detección de la prueba cobas® MTB-RIF/INH se ha determinado mediante el análisis de diluciones en serie de una cepa del complejo MTB mutado que contenía la mutación S531L asociada con la resistencia a la rifampicina más frecuente (gen *rpoB*) y la mutación S315T asociada con la resistencia a la isoniazida más frecuente (gen *katG*), en dos matrices clínicas de pools negativos: esputo sin procesar y sedimentos de esputo/LBA. Se analizaron paneles de diez a once niveles de concentración más un blanco con un total de 72 réplicas por nivel de concentración y tipo de muestra utilizando tres lotes de reactivo de la prueba cobas® MTB-RIF/INH, con múltiples series analíticas, días, operadores e instrumentos.

El LoD para la detección de *M. tuberculosis* resistente a RIF osciló entre 94,0 UFC/ml (sedimento de esputo/LBA) y 182 UFC/ml (esputo sin procesar).

El LoD para la detección de *M. tuberculosis* resistente a INH osciló entre 12,6 UFC/ml (sedimento de esputo/LBA) y 27,5 UFC/ml (esputo sin procesar).

Heterorresistencia

Se confirmó la capacidad de detectar MTB mutado en una infección mixta con MTB no mutado mediante el análisis de diferentes proporciones de mutación/no mutación. La prueba cobas® MTB-RIF/INH detecta niveles de baja concentración de aislados de MDR MTB en cultivo ($\sim 3 \times \text{LoD}$) en un fondo con hasta un 60 % de MTB no mutado en muestras de esputo sin tratar y de sedimento de esputo y sedimento de LBA.

Inclusividad para mutaciones asociadas con resistencias

La inclusividad para mutaciones en el gen *rpoB* asociado con la resistencia a la rifampicina y en la región promotora de los genes *katG* e *inhA* asociados con la resistencia a la isoniazida en organismos del complejo MTB se comprobó mediante el análisis de stocks de cultivo de cepas del complejo MTB resistentes a la rifampicina y/o isoniazida que contenían las siguientes 23 mutaciones:

- Mutaciones del *rpoB* asociadas con la resistencia fenotípica a la rifampicina:
 - L511P
 - Q513K, Q513L, Q513P
 - D516V, D516Y
 - S522L, S522Q
 - H526D, H526L, H526N, H526R, H526Y
 - S531L, S531W
 - L533P
- Mutaciones del gen *katG* y mutaciones de la región promotora del gen *inhA* asociadas con la resistencia fenotípica a la isoniazida:
 - Gen *katG*:
 - S315I, S315N, S315T, S315T2
 - Región promotora del gen *inhA*:
 - T-8A, T-8C
 - C-15T

Todas las mutaciones se detectaron con un nivel de 545 UFC/ml en esputo sin tratar y de 282 UFC/ml en muestras de esputo y de sedimento de LBA.

La inclusividad para dos mutaciones más del gen *rpoB* asociadas con la resistencia a la rifampicina (S522W y D516G) se comprobó mediante el análisis de plásmidos, ambos detectados con 77 copias/ml.

Especificidad para el complejo MTB no mutado

La especificidad analítica para el complejo MTB no mutado se verificó mediante el análisis de 13 cepas MTB con elevados niveles de concentración (~1,00E+04 UFC/ml) en muestras de esputo sin tratar y de sedimento de esputo y sedimento de LBA, mientras que para las siguientes cepas de complejo MTB se utilizaron bajos niveles de concentración (~3 × LoD) en muestras de sedimento:

- *M. tuberculosis* (H37 ATCC® 25177™)
- *M. bovis* BCG (subcepa Tokio 172 NIBSC 07/272 OMS y subcepa Moscú NIBSC 07/274 OMS)
- *M. africanum* (ATCC® 25420™)
- *M. bovis* subesp. *bovis* (ATCC® 19210™)
- *M. canetti* (NLA 000016778)
- *M. caprae* (ATCC® BAA-824™)
- *M. microti* (ATCC® 19422™)
- *M. orygis* (NLA 001300863)
- *M. pinnipedii* (ATCC® BAA-688™)

Todas las cepas no mutadas generaron resultados negativos válidos para RIF e INH.

09348484001-01ES

Doc Rev. 1.0

Precisión

La precisión interna se examinó mediante un panel compuesto por una cepa del complejo MTB mutado en cultivo que contenía la mutación S531L asociada con la resistencia a la rifampicina más frecuente (gen *rpoB*) y la mutación S315T asociada con la resistencia a la isoniazida más frecuente (gen *katG*), diluida en dos matrices clínicas de pools negativos: esputo sin procesar y sedimentos de esputo/LBA. Las fuentes de variación se examinaron con paneles compuestos de tres niveles de concentración (incluido el blanco), utilizando tres lotes de reactivos de la prueba cobas® MTB-RIF/INH y dos instrumentos durante un periodo de 12 días y con un total de 24 series. En la Tabla 16 figura una descripción de los paneles de precisión y de las tasas de positividad observadas. Todos los niveles de panel negativos resultaron negativos en todo el estudio. En el análisis de la desviación estándar y el porcentaje del coeficiente de variación de los valores de Ct de los ensayos realizados con los miembros del panel positivos (consulte la Tabla 17) se obtuvieron rangos de CV (%) globales comprendidos entre el 1,8 % y el 2,7 % para la detección de mutaciones asociadas con la resistencia a INH y entre el 1,5 % y el 2,1 % para la detección de mutaciones asociadas con la resistencia a RIF.

Tabla 16 Resumen de la precisión intralaboratorio

Concentración de diana	N pruebas	N Positivos	Tasa de positividad	Intervalo de confianza del 95 %	
				Límite inferior	Límite superior
<i>M. tuberculosis</i> — esputo sin procesar para diana RIF					
Negativa	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
182 UFC/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %
545 UFC/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %
<i>M. tuberculosis</i> — sedimento para diana RIF					
Negativa	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
94,0 UFC/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %
282 UFC/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %
<i>M. tuberculosis</i> — esputo sin procesar para diana INH					
Negativa	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
27,5 UFC/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %
82,5 UFC/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %
<i>M. tuberculosis</i> — sedimento para diana INH					
Negativa	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
12,6 UFC/ml	48	47	97,9 %	88,9 %	99,9 %
37,8 UFC/ml	48	48	100 %	92,6 %	100 %

Tabla 17 Media global, desviaciones estándar y coeficientes de variación (%) para el ciclo umbral, paneles de MTBC positivos

Concentración de diana	Tasa de positividad	Ct medio	Intraserias		Entre series		Entre días		Entre instrumentos		Entre lotes		Total	
			SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV	SD	% de CV
<i>M. tuberculosis</i> — esputo sin procesar para diana RIF														
182 UFC/ml	100 %	37,3	0,48	1,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,34	0,9	0,00	0,0	0,59	1,6
545 UFC/ml	100 %	35,6	0,40	1,1	0,00	0,0	0,29	0,8	0,00	0,0	0,24	0,7	0,55	1,5
<i>M. tuberculosis</i> — sedimento para diana RIF														
94,0 UFC/ml	100 %	39,3	0,36	0,9	0,14	0,3	0,45	1,1	0,00	0,0	0,42	1,1	0,72	1,8
282 UFC/ml	100 %	38,0	0,40	1,0	0,12	0,3	0,54	1,4	0,41	1,1	0,00	0,0	0,80	2,1
<i>M. tuberculosis</i> — esputo sin procesar para diana INH														
27,5 UFC/ml	100 %	37,5	0,74	2,0	0,00	0,0	0,31	0,8	0,17	0,5	0,00	0,0	0,82	2,2
82,5 UFC/ml	100 %	35,9	0,52	1,5	0,00	0,0	0,43	1,2	0,31	0,9	0,00	0,0	0,74	2,1
<i>M. tuberculosis</i> — sedimento para diana INH														
12,6 UFC/ml	97,9 %	39,4	0,75	1,9	0,66	1,7	0,00	0,0	0,34	0,9	0,00	0,0	1,06	2,7
37,8 UFC/ml	100 %	37,5	0,56	1,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,31	0,8	0,15	0,4	0,66	1,8

Especificidad analítica/reactividad cruzada

Se analizó un panel de 145 bacterias, hongos y virus, incluidos los de mayor presencia en el tracto respiratorio, con la prueba cobas® MTB-RIF/INH para valorar la especificidad analítica y la capacidad de detectar concentraciones bajas de MTB mutado y no mutado en presencia de otros organismos. Se añadieron los organismos indicados en la Tabla 18 con concentraciones de aproximadamente 1×10^6 unidades/ml para las bacterias y de aproximadamente 1×10^5 unidades/ml para los virus. Se analizaron todos los posibles organismos interferentes en ausencia y presencia de la diana del complejo MTB mutado (añadido a una concentración de 282 UFC/ml) y de la diana del complejo MTB no mutado (añadido a una concentración de 200 UFC/ml). Ninguno de los organismos interfirió con el rendimiento de la prueba generando resultados falsos positivos. La detección de concentraciones bajas de la diana del complejo MTB mutado no se vio afectada por los organismos analizados, excepto *M. asiaticum*, *M. fuerth*, *M. intermedium*, *M. marseillense*, *M. peregrinum* y *M. szulgai* con niveles de concentración $> 1 \times 10^5$ UFC/ml y *M. chubuense* con niveles de concentración $> 1 \times 10^4$ UFC/ml. La detección de concentraciones bajas del fragmento objetivo del complejo MTB no mutado no se vio afectado por los organismos analizados, excepto *M. avium* subesp. *hominissuis*, *M. avium* subesp. *silvaticum*, *M. colombiense*, *M. gastri*, *M. lentiflavum* y *M. marinum* con niveles de concentración $> 1 \times 10^5$ UFC/ml, y *M. avium* subesp. *paratuberculosis*, *M. bouchedurhonense* y *M. vulneris* con niveles de concentración $> 1 \times 10^4$ UFC/ml. La posible reactividad cruzada de *Histoplasma capsulatum*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium mantenii* y *Mycobacterium timonense* se evaluó *in silico*. Los resultados de los análisis *in silico* predicen una probabilidad muy reducida de amplificación y detección de estos organismos cuando se utiliza la prueba cobas® MTB-RIF/INH.

Tabla 18 Microorganismos analizados para la especificidad analítica/reactividad cruzada

Microorganismo	Concentración	Microorganismo	Concentración
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium gordonae</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium haemophilum</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Actinomyces israelii</i>	8,5E+05 UFC/ml	<i>Mycobacterium holsaticum</i>	1,0E+06 UFC/ml

09348484001-01ES

Doc Rev. 1.0

38

Microorganismo	Concentração	Microorganismo	Concentração
<i>Adenovirus</i>	1,0E+05 cp/ml	<i>Mycobacterium indicus pranii</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium intermedium</i>	1,0E+05 UFC/ml*
<i>Bacillus cereus</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Bacillus subtilis</i> subesp. <i>subtilis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium kansasii</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Bactericides fragilis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium kumamontense</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	1,0E+06 geq/ml	<i>Mycobacterium lentiflavum</i>	1,0E+05 UFC/ml*
<i>Burkholderia cepacia</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium malmoense</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Candida albicans</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium marinum</i>	1,0E+05 UFC/ml*
<i>Candida glabrata</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium marseillense</i>	1,0E+05 UFC/ml*
<i>Candida krusei</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium mucogenicum</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Candida parapsilosis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium neoaurum</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Candida tropicalis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium nonchromogeicum</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Chlamydomyces pneumoniae</i>	1,0E+06 UFI/ml	<i>Mycobacterium peregrinum</i>	1,0E+05 UFC/ml*
<i>Citrobacter freundii</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium simiae</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium szulgai</i>	1,0E+05 UFC/ml*
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium terrae</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Eikenella corrodens</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium triviale</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium vaccae</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Enterobacter cloacae</i> subesp. <i>cloacae</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium vulneris</i>	1,0E+04 UFC/ml*
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium xenopi</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Enterococcus faecium</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycobacterium yongonense</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Escherichia coli</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,0E+06 UCC/ml
<i>Escherichia coli</i> produtora de CTX-M-15 ESBL	1,0E+06 UFC/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Fusobacterium nucleatum</i> subesp. <i>nucleatum</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Neisseria lactamica</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Neisseria mucosa</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Neisseria sicca</i>	1,0E+06 UFC/ml
Virus de imunodeficiência humana	1,0E+05 cp/ml	<i>Nocardia brasiliensis</i>	1,0E+06 geq/ml
Virus de la gripe humana A	1,0E+05 U/ml	<i>Nocardia farcinica</i>	1,0E+06 UFC/ml
Virus de la gripe humana B	1,0E+05 U/ml	<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	1,0E+06 UFC/ml
Metapneumovirus humano	1,0E+05 U/ml	<i>Pediococcus acidilactici</i>	1,0E+06 geq/ml
Parainfluenza humana tipo 1	1,0E+05 U/ml	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	1,0E+06 UFC/ml
Parainfluenza humana tipo 2	1,0E+05 U/ml	<i>Penicillium</i> spp.	1,0E+06 UFC/ml
Parainfluenza humana tipo 3	1,0E+05 U/ml	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1,0E+06 UFC/ml
Parainfluenza humana tipo 4	1,0E+05 U/ml	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	1,0E+06 UFC/ml
Virus sincicial respiratorio humano tipo A	1,0E+05 U/ml	<i>Proteus mirabilis</i>	1,0E+06 UFC/ml
Virus sincicial respiratorio humano tipo B	1,0E+05 U/ml	<i>Proteus vulgaris</i>	1,0E+06 UFC/ml
Rinovirus humano	1,0E+05 U/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Kingella kingae</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Rhizopus</i> spp.	1,0E+06 UFC/ml
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Rhodococcus equi</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i> produtora de KPC-3 carbapenemase	1,0E+06 UFC/ml	<i>Virus del sarampión</i>	1,0E+05 U/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i> subesp. <i>pneumoniae</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Virus de la rubeola</i>	1,0E+05 U/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Rubulavirus</i>	1,0E+05 U/ml
<i>Lactobacillus casei</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Scedosporium</i> spp.	1,0E+06 UFC/ml

09348484001-01ES

Doc Rev. 1.0

39

Microorganismo	Concentración	Microorganismo	Concentración
<i>Legionella micdadei</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Serratia marcescens</i> subesp. <i>marcescens</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Legionella pneumophila</i> subesp. <i>pneumophila</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Staphylococcus aureus</i> subesp. <i>aureus</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subesp. <i>mesenteroides</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium abscessus</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium arosiense</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium asiaticum</i>	1,0E+05 UFC/ml*	<i>Streptococcus constellatus</i> subesp. <i>constellatus</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subesp. <i>avium</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Streptococcus equi</i> subesp. <i>equi</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subesp. <i>hominissuis</i>	1,0E+05 UFC/ml*	<i>Streptococcus mitis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subesp. <i>silvaticum</i>	1,0E+05 UFC/ml*	<i>Streptococcus mutans</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium avium</i> subesp. <i>paratuberculosis</i>	1,0E+04 UFC/ml*	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium bouchedurhonense</i>	1,0E+04 UFC/ml*	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium celatum</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium chelonae</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Streptococcus salivarius</i> subesp. <i>salivarius</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium chimaera</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Streptococcus sanguinis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium chubuense</i>	1,0E+04 UFC/ml*	<i>Streptococcus uberis</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium colombiense</i>	1,0E+05 UFC/ml*	<i>Streptomyces anulatus</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium confluentis</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Tsukamurella</i> spp.	1,0E+06 geq/ml
<i>Mycobacterium flavescens</i>	1,0E+06 UFC/ml	Virus de la varicela zóster	1,0E+05 cp/ml
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	1,0E+06 UFC/ml	<i>Veillonella atypica</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium fuerth</i>	1,0E+05 UFC/ml*	<i>Veillonella parvula</i>	1,0E+06 UFC/ml
<i>Mycobacterium gastri</i>	1,0E+05 UFC/ml*	-	-

* Nivel al que no se observó ninguna interferencia con la detección de *M. tuberculosis*, que sí mostró interferencia tras otro análisis con una concentración de 1,0E+06 UFC/ml.

Interferencia

Se evaluó el efecto de sustancias exógenas potencialmente secretadas en las muestras respiratorias (Tabla 19). Cada sustancia potencialmente interferente se analizó a niveles iguales o superiores a los clínicamente relevantes en muestras de esputo artificiales en ausencia y en presencia de la diana del complejo MTB mutado (añadido a 545 UFC/ml) y de la diana del complejo MTB no mutado (añadido a 200 UFC/ml).

Ninguna de las sustancias interfirió con el rendimiento de la prueba generando resultados falsos negativos o falsos positivos. Ninguna de las sustancias interfirió con el rendimiento de la prueba generando resultados no válidos/no notificables, excepto la petasita con niveles de concentración > 25 mg/ml.

Tabla 19 Lista de sustancias exógenas analizadas para determinar la interferencia

Sustancia	Concentración	Sustancia	Concentración
Sulfato de albuterol	0,5 µg/ml	Monosulfato de kanamicina	240 µg/ml
Amikacina	80,1 µg/ml	Levofloxacina	5 mg/ml
Amoxicilina	86,4 µg/ml	Lidocaína HCl	1,2% (p/v)
Beclometasona	3.459 pg/ml	Mentol	0,50 % (p/v)
Benzocaína	1,2 % (p/v)	Salicilato de metilo	0,06 % (v/v)
Budesónida	3 mg/ml	Mometasona	100 µg/ml
Extracto de petasita	25 mg/ml*	Moxifloxacina	15 µg/ml

09348484001-01ES

Doc Rev. 1.0

40

Sustancia	Concentración	Sustancia	Concentración
Capreomicina	80 µg/ml	Mupirocina	0,05 % (p/v)
Cloruro de cetilpiridinio	0,5 % (p/v)	NaCl	5 % (p/v)
Gluconato de clorhexidina	1 % (v/v)	Nicotina	1 µg/ml
Cicloserina	105 µg/ml	Nistatina	1 % (v/v)
Claritromicina	20 µg/ml	Oximetazolina	12 ng/ml
Dexametasona	601 ng/ml	Pentamidina	1.366 ng/ml
Hidrocloruro de efedrina	1 mg/ml	Fenilefrina	5 mg/ml
Epinefrina	100 pg/ml	Prednisolona	3 µg/ml
Etambutol	50 µg/ml	Pirazinamida	240 µg/ml
Etionamida	15 µg/ml	Rifampicina	25 µg/ml
Eucalipto	0,002 % (v/v)	Extracto de ortiga (500 mg)	5 mg/ml
Fluticasona	400 µg/ml	Estreptomina	240 µg/ml
Propionato de fluticasona	5 µg/ml	Azufre	0,01 % (p/v)
Formoterol fumarato	66 µg/ml	Aceite de árbol de té	0,50 % (v/v)
Raíz de sello de oro (cápsulas de 570 mg)	5,7 mg/ml	Teofilina	20 µg/ml
Guaifenesina	2,5 mg/ml	Tobramicina	24,1 µg/ml
Isoniazida	50 µg/ml	Zanamivir	0,1 mg/ml

* Nivel más alto en el que no se observó interferencia

Se analizaron sustancias endógenas que podrían estar presentes en muestras respiratorias a fin de determinar su interferencia (Tabla 20). Cada sustancia potencialmente interferente se analizó a niveles iguales o superiores a los clínicamente relevantes en muestras de esputo artificiales en ausencia y en presencia de la diana del complejo MTB mutado (añadido a una concentración de hasta 545 UFC/ml) y de la diana del complejo MTB no mutado (añadido a una concentración de 200 UFC/ml).

Ninguna de las sustancias interfirió con el rendimiento de la prueba generando resultados falsos negativos, falsos positivos o resultados no válidos/no notificables.

Tabla 20 Lista de sustancias endógenas analizadas para determinar su interferencia

Sustancia	Concentración	Sustancia	Concentración
Jugo gástrico	10 % (v/v)	Mucina	5 % (p/v)
Hemoglobina	2 g/l	Pus	5 % (v/v)
Sangre total humana	5 % (v/v)	Saliva	10 % (v/v)
ADN humano	4 mg/l	-	-

Fallo de todo el sistema

Las muestras analizadas en el estudio de fallo de todo el sistema fueron muestras de esputo y de sedimento de esputo artificiales a las que se añadió una cepa del complejo MTB mutado que contenían la mutación S531L asociada con la resistencia a la rifampicina más frecuente (gen *rpoB*) y la mutación S315T asociada con la resistencia a la isoniazida más frecuente (gen *katG*) con una concentración de aproximadamente $3 \times \text{LoD}$ de la prueba cobas® MTB-RIF/INH en la matriz respectiva. Las 100 réplicas analizadas por tipo de muestra fueron válidas y positivas para el complejo MTB, lo que representa una tasa de fallo de todo el sistema del 0,0 % con un intervalo de confianza unilateral superior del 95 % de 3,0 %.

09348484001-01ES

Doc Rev. 1.0

41

Contaminación por arrastre

La contaminación por arrastre entre muestras se ha determinado en 0,0 % (0/240) cuando se alternan muestras de MTB no mutado positivas muy altas con muestras negativas analizadas en varias series con la prueba **cobas**® MTB. Las pruebas se realizaron utilizando muestras de sedimento de esputo artificial a las que se añadió diana del complejo MTB a una concentración de 2×10^6 UFC/ml, una concentración de muestra que genera valores de Ct antes que en el 95 % de las muestras de pacientes infectados en la población objetivo.

Rendimiento con muestras clínicas

El rendimiento de la prueba **cobas**® MTB-RIF/INH utilizando muestras clínicas se evaluó mediante el análisis de muestras de recogida prospectiva y archivadas (esputo sin procesar y sedimentos de esputo tratados con NaOH-NALC) procedentes de sujetos con presunta TB obtenidas en Perú, Ucrania, Rusia, Sudáfrica y Uganda. Se realizaron unas pruebas de comparación en paralelo con el ensayo Abbott RealTime MTB RIF/INH Resistance.

Los resultados se muestran en la Tabla 21 y la Tabla 22.

Tabla 21 Sensibilidad y especificidad de la prueba **cobas®** MTB-RIF/INH con muestras clínicas — Resistencia a RIF

		Roche cobas® MTB-RIF/INH	Abbott RealTime MTB RIF/INH Resistance
Sensibilidad	Esputo sin procesar	116/120 96,7 % [91,7-99,1 %]	115/120 95,8 % [90,5-98,6 %]
Sensibilidad	Sedimento	23/23 100 % [85,2-100 %]	23/23 100 % [85,2-100 %]
Sensibilidad	Combinada	139/143 97,2 % [93,0-99,2 %]	138/143 96,5 % [92,0-98,9 %]
Especificidad	Esputo sin procesar	331/338 97,9 % [95,8-99,2 %]	329/338 97,3 % [95,0-98,8 %]
Especificidad	Sedimento	219/220 99,5 % [97,5-100 %]	219/220 99,5 % [97,5-100 %]
Especificidad	Combinada	550/558 98,6 % [97,2-99,4 %]	548/558 98,2 % [96,7-99,1 %]
Valor predictivo positivo	Esputo sin procesar	116/123 94,3 % [88,6-97,7%]	115/124 92,7 % [86,7-96,6 %]
Valor predictivo positivo	Sedimento	23/24 95,8 % [78,8-99,9 %]	23/24 95,8 % [78,8-99,9 %]
Valor predictivo positivo	Combinada	139/147 94,5 % [89,5-97,6 %]	138/148 93,2 % [87,9-96,7 %]
Valor predictivo negativo	Esputo sin procesar	331/335 98,8 % [97,0-99,7 %]	329/334 98,5 % [96,6-99,5 %]
Valor predictivo negativo	Sedimento	219/219 100 % [98,3-100 %]	219/219 100 % [98,3-100 %]
Valor predictivo negativo	Combinada	550/554 99,3 % [98,3-99,8 %]	548/553 99,1 % [97,9-99,7 %]

Tabla 22 Sensibilidad y especificidad de la prueba **cobas**® MTB-RIF/INH con muestras clínicas — Resistencia a INH

		Roche cobas ® MTB-RIF/INH	Abbott RealTime MTB RIF/INH Resistance
Sensibilidad	Espudo sin procesar	150/154 97,4 % [93,5-99,3%]	147/154 95,5 % [90,9-98,2 %]
Sensibilidad	Sedimento	35/37 94,6 % [81,8-99,3 %]	32/37 86,5 % [71,2-95,5 %]
Sensibilidad	Combinada	185/191 96,9 % [93,3-98,8 %]	179/191 93,7 % [89,3-96,7 %]
Especificidad	Espudo sin procesar	297/299 99,3 % [97,6-99,9%]	297/299 99,3 % [97,6-99,9 %]
Especificidad	Sedimento	206/207 99,5 % [97,3-100 %]	206/207 99,5 % [97,3-100 %]
Especificidad	Combinada	503/506 99,4 % [98,3-99,9 %]	503/506 99,4 % [98,3-99,9 %]
Valor predictivo positivo	Espudo sin procesar	150/152 98,7 % [95,3-99,8%]	147/149 98,7 % [95,2-99,8 %]
Valor predictivo positivo	Sedimento	35/36 97,2 % [85,5-99,9 %]	32/33 97,0 % [84,2-99,9 %]
Valor predictivo positivo	Combinada	185/188 98,4 % [95,4-99,7%]	179/182 98,4 % [95,3-99,7 %]
Valor predictivo negativo	Espudo sin procesar	297/301 98,7 % [96,6-99,7 %]	297/304 97,7 % [95,3-99,1 %]
Valor predictivo negativo	Sedimento	206/208 99,0 % [96,6-100 %]	206/211 97,6 % [94,6-99,2 %]
Valor predictivo negativo	Combinada	503/509 98,8 % [97,5-99,6 %]	503/515 97,7 % [96,0-98,9%]

Equivalencia entre sistemas/Comparación de sistemas

La equivalencia entre los **cobas**® 5800, **cobas**® 6800 y los **cobas**® 8800 Systems se demostró a partir de estudios de rendimiento. Los resultados incluidos en las Instrucciones de uso hacen patente la equivalencia de rendimiento entre todos los sistemas.

Información adicional

Características principales del ensayo

Tipos de muestras

- Esputo sin procesar
- Sedimentos de esputo y LBA tratados con NALC-NaOH

Cantidad de muestra procesada





















































- $\geq 0,4$ ml de muestra de paciente tratada con MIS en una concentración de 1:2 (volumen total $\geq 1,2$ ml) requerida en un tubo de muestra para esputo sin procesar; el instrumento procesa 0,85 ml
- $\geq 0,2$ ml de muestra de paciente tratada con MIS en una concentración de 1:5 (volumen total $\geq 1,2$ ml) requerida en un tubo de muestra para sedimento de esputo/LBA; el instrumento procesa 0,85 ml

Farm. BUNIFIA MITELI & AZZA
PROCESO S. HOJHE S.A. S. de I.
Division Diagnostica
DT & APODERADA LEGAL

Símbolos

Los símbolos siguientes se emplean en el rotulado de todos los productos de diagnóstico por PCR de Roche.

Tabla 23 Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos de PCR para diagnóstico de Roche

 Age/DOB Edad o fecha de nacimiento	 Dispositivo no apto para pruebas cerca del paciente	 QS IU/PCR UI de QS por reacción de PCR, utilice las unidades internacionales (UI) de QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados.
 SW Software auxiliar	 Dispositivo no apto para autoexamen	 SN Número de serie
 Assigned Range [copies/mL] Intervalo asignado (copias/ml)	 Distribuidor <i>(Nota: el país o la región se indicará debajo de este símbolo.)</i>	 Site Centro
 Assigned Range [IU/mL] Intervalo asignado (UI/ml)	 No deben reutilizarse	 Procedure Standard Procedimiento estándar
 EC REP Representante autorizado en la Comunidad Europea	 Mujeres	 STERILE EO Esterilizado con óxido de etileno
 BARCODE Hoja de datos del código de barras	 Para evaluación del rendimiento IVD únicamente	 Almacenar en la oscuridad
 LOT Código de serie	 GTIN Global Trade Item Number (número mundial de un artículo comercial)	 Límite de temperatura
 Riesgo biológico	 Importador	 TDF Archivo de definición de pruebas
 REF Número de catálogo	 IVD Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Este lado hacia arriba
 Marcado CE de conformidad; este dispositivo cumple con los requisitos aplicables para el marcado CE de un producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> .	 LLR Límite inferior del intervalo asignado	 Procedure UltraSensitive Procedimiento ultrasensible
 Collect Date Fecha de recogida	 Hombres	 UDI Identificación exclusiva del dispositivo
 Consulte las instrucciones de uso	 Fabricante	 ULR Límite superior del intervalo asignado
 Suficiente para <n> pruebas	 CONTROL - Control negativo	 Urine Fill Line Línea de llenado de orina
 CONTENT Contenido del kit	 Sin esterilizar	 Rx Only Solamente para EE. UU.: la ley federal de los Estados Unidos solo autoriza la venta de este dispositivo a través de un facultativo autorizado o bajo prescripción médica.
 CONTROL Control	 Nombre del paciente	 Fecha de caducidad
 Fecha de fabricación	 Número del paciente	
 Dispositivo para pruebas cerca del paciente	 Abrir aquí	
 Dispositivo para autoexamen	 CONTROL + Control positivo	
	 QS copies / PCR Copias QS por reacción de PCR, utilice copias QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados.	

Asistencia técnica

Para obtener asistencia técnica, póngase en contacto con su afiliada local:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Fabricante

Tabla 24 Fabricante

Fabricado en los Estados Unidos



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



Fabricado en los EE. UU.

Marcas registradas y patentes

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

Copyright

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Bibliografia

1. World Health Organization. *World Health Organization Global Tuberculosis Report 2021*. WHO: Geneva, Switzerland; 2021.
2. Sithidhet Tharinjaroen C, Intorasoot S, Anukool U, et al. Novel targeting of the *lepB* gene using PCR with confronting two-pair primers for simultaneous detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and *Mycobacterium bovis*. *J Med Microbiol*. 2016;65:36-43.
3. Alexander KA, Laver PN, Michel AL, et al. Novel *Mycobacterium tuberculosis* complex pathogen, *M. mungi*. *Emerg Infect Dis*. 2010;16:1296-9.
4. Novosad SA, Winthrop KL. Beyond tumor necrosis factor inhibition: the expanding pipeline of biologic therapies for inflammatory diseases and their associated infectious sequelae. *Clin Infect Dis*. 2014;58:1587-98.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *MMWR Recomm Rep*. 2000;49:1-51.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for use of an isoniazid-rifapentine regimen with direct observation to treat latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2011;60:1650-3.
7. Orenstein EW, Basu S, Shah NS, et al. Treatment outcomes among patients with multidrug-resistant tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2009;9:153-61.
8. Pai M, Schito M. Tuberculosis diagnostics in 2015: landscape, priorities, needs, and prospects. *J Infect Dis*. 2015;211 Suppl 2:S21-8.
9. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8.
10. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7.
11. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
12. Chosewood LC, Wilson DE, eds. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. US Department of Health and Human Services; 2009.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*. 4th ed. M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; 2014.
14. World Health Organization. *Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual*. WHO: Geneva, Switzerland; 2012.
15. Kent PT, Kubica GP. *Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory*. Centers for Disease Control: Atlanta, GA; 1985.

Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 1.0 10/2022	Primera publicación.

Puede consultar el resumen del informe de seguridad y rendimiento en el siguiente enlace:

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





República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: PRODUCTOS ROCHE S.A. rótulos e instrucciones de uso

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 53 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2023.06.29 09:29:14 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2023.06.29 09:29:15 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-000399-23-1

**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN
PRODUCTO MÉDICO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO**

Expediente N° 1-0047-3110-000399-23-1

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por Productos Roche S.A.Q. e I ; se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto con los siguientes datos identificatorios característicos:

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre Descriptivo: 1) cobas® MTB-RIF/INH y 2) cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit

Marca comercial: cobas®

Modelos:

1) cobas® MTB-RIF/INH (N° de catálogo: 09040617190)

2) cobas® MTB-RIF/INH Positive Control Kit (N° de catálogo: 09040625190)

Indicación/es de uso:

La prueba cobas® MTB-RIF/INH para uso en los cobas® 5800/6800/8800 Systems es una prueba de diagnóstico

in vitro cualitativa y automatizada que utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección directa de la resistencia a la rifampicina asociada con mutaciones del gen rpoB y de la resistencia a la isoniazida asociada con las mutaciones de los genes katG e inhA de Mycobacterium tuberculosis en muestras respiratorias humanas. La prueba se ha diseñado para su uso con muestras de esputo sin procesar, muestras de esputo y lavado broncoalveolar (LBA) digeridas y descontaminadas (tratadas con N-acetil-L-cisteína/NaOH) que han dado positivo para el complejo Mycobacterium tuberculosis (MTBC) con cobas® MTB. La prueba se ha diseñado para ser utilizada junto con otras pruebas de cultivo y farmacosenibilidad así como prueba confirmatoria de cobas® MTB para facilitar el diagnóstico de infecciones por M. tuberculosis (MDR-TB) multirresistente a fármacos.

Forma de presentación: 1) Envases por 192 determinaciones, conteniendo: Solución de proteinasa (PASE) x 22,3 ml, Diluyente de muestras genérico (GSD) x 21,2 ml, Buffer de elución (EB) x 21,2 ml, Reactivo 1 de Master Mix (MMX-R1) x 7,5 ml, Reactivo 2 de Master Mix para MTB-RIF/INH (MTB-RIF/INH MMX-R2) x 9,7 ml.
2) 16 viales x 1 ml, conteniendo: MTB-RIF/INH control positivo (MTB-RIF/INH (+) C).

Período de vida útil: 1) y 2) 24 (VEINTICUATRO) meses desde la fecha de elaboración conservado entre 2-8 °C.

Nombre del fabricante:

Roche Molecular System. Inc para Roche Diagnostics GmbH

Lugar de elaboración:

1080 US Highway 202 South Branchburg, New Jersey, 08876 (Estados Unidos) para Sandhofer Strasse 116, 68305 Mannheim (ALEMANIA).

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 740-678 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-000399-23-1

N° Identificadorio Trámite: 45668

AM

Digitally signed by Gestion Documental Electronica

Date: 2023.07.12 18:45:53 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica

Date: 2023.07.12 18:45:53 -03:00