

cobas[®] eplex
respiratory pathogen panel 2
(pannello per patogeni respiratori 2)
Foglio illustrativo

Per uso diagnostico *in vitro*
Solo per uso professionale in laboratorio

P/N: 09556486001

CE

IVD

UK
CA



GenMark Diagnostics, Inc.
5964 La Place Court
Carlsbad, CA 92008
USA
+1 760 448 4300

EC REP

EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
Paesi Bassi

Persona responsabile in UK
Emergo Consulting (UK) Limited
c/o Cr360 - UL International
Compass House, Vision Park Histon
Cambridge CB24 9BZ, Regno Unito

Sommario

Usò previsto	4
Sintesi e spiegazione del test	4
Riepilogo degli organismi rilevati	6
Principi della tecnologia	8
Materiali forniti	9
Composizione dei reagenti	9
Conservazione, stabilità e manipolazione dei reagenti	10
Materiali non forniti	10
Apparecchiature	10
Materiali di consumo	10
Avvertenze e precauzioni	10
Generali	10
Sicurezza	11
Laboratorio	12
Prelievo, manipolazione e conservazione dei campioni	12
Procedura	13
Note procedurali	13
Procedura dettagliata	14
Controllo qualità	14
Controlli interni	14
Controlli esterni	15
Risultati	16
Risultati dell'Influenza A	16
Report dei test	17
Report di rilevamento	17
Report del controllo esterno	18
Report di riepilogo	18
Limiti della procedura	18
CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE	20
Performance clinica del test SARS-CoV-2	20
Caratteristiche della performance analitica	21
Pannelli cobas® eplex RP e RP2	21
Limite di sensibilità per SARS-CoV-2	21

cobas® eplex respiratory pathogen panel 2 (pannello per patogeni respiratori 2)

Limite di sensibilità per tutti gli altri bersagli nel pannello RP2.....	21
Reattività analitica (inclusività).....	22
Specificità analitica (reattività crociata ed esclusività)	31
Analisi <i>in silico</i> dei test SARS-CoV-2 inclusi nel pannello cobas® eplex RP2.....	32
Specificità analitica (reattività crociata ed esclusività) di altri bersagli inclusi nel pannello RP2	33
Riproducibilità.....	35
Co-rilevazione di organismi nei campioni.....	39
Equivalenza della matrice campione.....	39
Sostanze interferenti	40
Test supplementari di altre potenziali sostanze interferenti.....	41
Carryover e contaminazione crociata	41
Risoluzione dei problemi	42
Assistenza tecnica	43
Glossario dei simboli.....	43
Bibliografia	44
Revisione del documento.....	47
Marchi.....	47
Informazioni sui brevetti	47

USO PREVISTO

Il **cobas® eplex** respiratory pathogen panel 2 (pannello per patogeni respiratori 2, RP2) è un test degli acidi nucleici di tipo multiplex per la diagnostica *in vitro*, destinato all'uso sul sistema **cobas® eplex** per la rilevazione qualitativa e la simultanea identificazione degli acidi nucleici di più patogeni respiratori virali e batterici, tra cui il coronavirus da sindrome respiratoria acuta grave 2 (SARS-CoV-2), nei campioni prelevati con tampone nasofaringeo (NPS) in terreno di trasporto, ottenuti da individui con sospetta malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) o altra infezione respiratoria a giudizio dell'operatore sanitario.

Il pannello **cobas® eplex** RP2 consente di identificare i tipi e i sottotipi di virus e batteri seguenti: adenovirus, coronavirus 229E, coronavirus HKU1, coronavirus NL63, coronavirus OC43, coronavirus da sindrome respiratoria acuta grave 2(SARS-CoV-2), coronavirus da sindrome respiratoria del Medio Oriente (MERS-CoV), bocavirus umano, metapneumovirus umano, rinovirus/enterovirus umano, influenzavirus A, influenzavirus A H1, influenzavirus A H1-2009, influenzavirus A H3, influenzavirus B, virus parainfluenzale 1, virus parainfluenzale 2, virus parainfluenzale 3, virus parainfluenzale 4, virus respiratorio sinciziale (RSV) A, virus respiratorio sinciziale (RSV) B, *Bordetella pertussis*, *Legionella pneumophila* e *Mycoplasma pneumoniae*.

La rilevazione e l'identificazione di acidi nucleici virali e batterici specifici nei campioni ottenuti da individui che presentano i sintomi di un'infezione delle vie respiratorie possono coadiuvare la diagnosi di infezione respiratoria, se utilizzate in combinazione con altre informazioni cliniche ed epidemiologiche.

I risultati consentono di identificare gli acidi nucleici di SARS-CoV-2 e degli altri patogeni respiratori che possono essere rilevati nei campioni NPS durante l'infezione. I risultati positivi sono indicativi di un'infezione attiva causata dal patogeno respiratorio identificato, tuttavia per determinare lo stato dell'infezione nel paziente è necessario stabilire una correlazione clinica con la storia del paziente e le altre informazioni diagnostiche. I risultati positivi non escludono un'infezione batterica o una co-infezione con altri virus. L'agente patogeno identificato potrebbe non essere la causa definitiva della malattia.

I risultati negativi non escludono un'infezione causata da altri organismi che non sono inclusi nel pannello, pertanto non possono essere l'unico parametro su cui basare la diagnosi, il trattamento o altre decisioni riguardanti la gestione del paziente. I risultati positivi non escludono una co-infezione con altri organismi. L'organismo (o gli organismi) identificati dal pannello **cobas® eplex** RP2 potrebbero non essere la causa definitiva della malattia. È necessario prendere in considerazione l'esecuzione di ulteriori test di laboratorio (ad es. coltura batterica e virale, immunofluorescenza e radiografia) e il quadro clinico prima di formulare una diagnosi finale di infezione delle vie respiratorie.

I risultati positivi non escludono una co-infezione con altri organismi. L'organismo (o gli organismi) identificati dal pannello **cobas® eplex** RP2 potrebbero non essere la causa definitiva della malattia. Durante la valutazione di un paziente con potenziale COVID-19 potrebbe essere necessario eseguire ulteriori test in laboratorio (ad es. coltura virale e batterica, immunofluorescenza e radiografia).

SINTESI E SPIEGAZIONE DEL TEST

Il pannello **cobas® eplex** RP2 è un test degli acidi nucleici qualitativo, multiplex, automatizzato per la diagnostica *in vitro*, destinato alla rilevazione e all'identificazione simultanee degli acidi nucleici di più patogeni respiratori virali e batterici utilizzando campioni prelevati con tampone nasofaringeo (NPS). Il test può rilevare 21 bersagli virali e 3 bersagli batterici respiratori, come indicato nella **Tabella 1**. Il test viene eseguito sul sistema **cobas® eplex**.

I virus e i batteri respiratori possono causare un'ampia gamma di infezioni delle vie respiratorie, tra le quali il raffreddore comune, l'influenza e la laringite (croup), e sono tra le cause più comuni delle malattie acute delle

vie respiratorie. Colpiscono con particolare gravità i bambini, gli individui immunodepressi e gli anziani. Le infezioni respiratorie sono la principale causa di visite mediche ambulatoriali e assenze dal lavoro e da scuola, più di qualsiasi altra malattia.¹ Si stima che ogni anno vengano contagiati dall'influenza tra il 10 e il 30% dei cittadini europei.² A livello globale, l'influenza stagionale causa tra 3 e 5 milioni di casi gravi e tra 250.000 e 500.000 decessi ogni anno.³ Negli ultimi mesi del 2019 venne identificato un nuovo coronavirus a Wuhan, in Cina. La malattia causata da questo nuovo coronavirus fu chiamata inizialmente “nuovo coronavirus 2019” o “2019-nCoV” e successivamente “malattia da coronavirus 2019” o COVID-19.⁴ Entro luglio 2020 il virus era stato identificato in 188 paesi del mondo e aveva causato più di 25 milioni di casi e 851.000 decessi.^{5, 6}

Le forme “simil-influenzali” sono malattie respiratorie aspecifiche caratterizzate da febbre, astenia, tosse e altri sintomi. Nella maggior parte dei casi, le forme simil-influenzali non sono causate dall'influenzavirus, ma da altri patogeni virali (ad es. rinovirus, virus respiratorio sinciziale, adenovirus e virus parainfluenzale).⁷ Meno comunemente alcune forme simil-influenzali possono essere causate da batteri come *Legionella pneumophila* e *Mycoplasma pneumoniae*.⁷

Tabella 1. Sequenze bersaglio identificate dal pannello cobas® eplex RP2

Bersaglio	Classificazione (tipo di genoma)	Prevalenza stagionale*	Categorie demografiche più colpite
Adenovirus	Adenovirus (DNA)	Da fine inverno a inizio estate ⁸	Tutte le fasce d'età, immunodepressi ⁹
Coronavirus 229E	Coronavirus (RNA)	Inverno, primavera ¹⁰	Tutte le fasce d'età ¹⁰
Coronavirus HKU1			
Coronavirus NL63			
Coronavirus OC43			
Coronavirus da sindrome respiratoria del Medio Oriente		Da aprile a giugno ¹¹	Tutte le fasce d'età ¹¹
SARS-CoV-2	Coronavirus (RNA)	Sconosciuta ¹²	Non definite ¹²
Bocavirus umano	Parvovirus (DNA)	Nessuna stagione di picco identificata ¹³	Neonati/bambini ¹³
Metapneumovirus umano	Paramixovirus (RNA)	Inverno ¹⁴	Bambini, anziani, immunodepressi ¹⁵
Rinovirus/enterovirus umano	Picornavirus (RNA)	Autunno, primavera ¹⁶ / estate ¹⁷	Tutte le fasce d'età, immunodepressi ¹⁶⁻¹⁸
Influenza A	Ortomixovirus (RNA)	Inverno ³	Tutte le fasce d'età ³
Influenza A H1			
Influenza A H1-2009			
Influenza A H3			
Influenza B			
Virus parainfluenzale 1	Paramixovirus (RNA)	Autunno ¹⁹	Tutte le fasce d'età ²⁰
Virus parainfluenzale 2		Autunno, inizio inverno ¹⁹	
Virus parainfluenzale 3		Primavera, estate ¹⁹	
Virus parainfluenzale 4		Autunno, inizio inverno ¹⁹	
Virus respiratorio sinciziale A	Paramixovirus (RNA)	Inverno ^{21, 22}	Neonati, bambini, anziani ^{21, 22}
Virus respiratorio sinciziale B			
<i>Bordetella pertussis</i>	Batterio (DNA)	Nessuna stagione di picco ²³	Tutte le fasce d'età ²³
<i>Legionella pneumophila</i>	Batterio (DNA)	Nessuna stagione di picco ^{24, 25}	Anziani, fumatori, immunodepressi ^{24, 25}
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Batterio (DNA)	Fine estate, autunno ²⁶	Bambini e giovani adulti ²⁶

* Dati basati sulle stagioni nell'emisfero settentrionale

RIEPILOGO DEGLI ORGANISMI RILEVATI

Adenovirus: gli adenovirus sono virus a DNA nudi (senza involucro) comprendenti 7 specie umane (A-G) e più di 60 sierotipi.²⁷ Le specie B, C ed E di adenovirus sono spesso associate alle infezioni delle vie respiratorie. Le infezioni colpiscono maggiormente i bambini e si diffondono più facilmente negli ambienti affollati, come le caserme militari.^{9, 28} Non è disponibile un vaccino per la collettività, tuttavia con la somministrazione di un vaccino orale vivo ai soldati dell'esercito USA nel 2011 fu osservata una riduzione dell'incidenza delle epidemie da adenovirus nella popolazione militare.^{9, 29} Le infezioni da adenovirus provocano sintomi generalmente lievi, ma possono manifestarsi con forme gravi nei neonati o negli individui immunodepressi, in particolare nei pazienti che hanno ricevuto un trapianto di cellule staminali ematopoietiche.^{9, 27} Oltre alle infezioni respiratorie, l'adenovirus è anche in grado di causare gastroenterite, congiuntivite e cistite.^{9, 27}

Coronavirus: sono stati identificati 6 coronavirus in grado di contagiare gli esseri umani: 229E e NL63 (coronavirus alfa), OC43, HKU1, SARS (coronavirus della sindrome respiratoria acuta grave) e MERS-CoV (coronavirus beta).³⁰ I coronavirus umani provocano un'infezione generalmente lieve delle alte vie respiratorie, ma possono manifestarsi con forme più gravi negli anziani, nei bambini piccoli e negli individui immunodepressi.³⁰⁻³² Le infezioni da coronavirus 229E, HKU1, NL63 e OC43 sono comuni in tutto il mondo, mentre le infezioni SARS e MERS-CoV sono più rare. Dal 2004 in poi non sono più stati segnalati casi di SARS (non presente nel pannello **cobas® eplex RP**).³³ Nel 2012 furono segnalati alcuni casi di infezione da MERS-CoV in Arabia Saudita, con forme gravi della malattia nei pazienti che presentavano condizioni cliniche preesistenti e un tasso di mortalità che raggiunse il 40%.³⁴

SARS-CoV-2: negli ultimi mesi del 2019 venne identificato un nuovo coronavirus a Wuhan, in Cina. La malattia causata da questo nuovo coronavirus fu chiamata inizialmente "nuovo coronavirus 2019" o "2019-nCoV" e successivamente "malattia da coronavirus 2019" o COVID-19.⁴ Il nuovo coronavirus è definito "Coronavirus da sindrome respiratoria acuta grave 2", o SARS-CoV-2, per la somiglianza genetica con il coronavirus che aveva causato un'epidemia nel 2003.⁴ Entro luglio 2020 il virus era stato identificato in 188 paesi del mondo e aveva causato più di 16 milioni di casi e 655.000 decessi.^{5, 6}

Bocavirus umano: il ruolo del bocavirus umano come patogeno all'origine delle infezioni respiratorie è controverso. Il bocavirus umano venne descritto per la prima volta in alcuni campioni respiratori nel 2005 in Svezia e si ritiene che possa essere implicato in alcune infezioni respiratorie, ma essendo spesso rilevato sia negli individui sintomatici che negli individui asintomatici, resta ancora dubbio il suo ruolo come agente responsabile.^{35, 36} In base agli studi, il bocavirus ha un'elevata prevalenza percentuale nei campioni respiratori dei bambini, ma poiché spesso viene co-rilevato con altri virus e viene rilevato per periodi prolungati e persistenti anche negli individui asintomatici, la ricerca della vera eziologia è complessa.^{13, 35} I casi sono perlopiù lievi, anche se sono state segnalate forme respiratorie gravi.¹³

Metapneumovirus umano: il metapneumovirus umano appartiene alla famiglia dei virus *Paramyxoviridae* ed è affine al virus RSV.¹⁵ Il metapneumovirus è considerato un importante patogeno respiratorio nei bambini piccoli ed è la seconda causa virale più comune di infezione delle vie respiratorie in età pediatrica.¹⁵ La malattia assume forme più gravi nei bambini immunodepressi (ad es. con co-infezione da virus dell'immunodeficienza umana, o HIV) o che presentano condizioni cliniche preesistenti (ad es. malattie cardiache). Può inoltre causare malattie più gravi negli adulti immunodepressi, specialmente se soffrono di malattia polmonare ostruttiva cronica (COPD), asma o cancro, e nei pazienti trapiantati.³⁷

Rinovirus e enterovirus umano: il rinovirus e l'enterovirus sono virus a RNA strettamente correlati e appartenenti alla famiglia dei *Picornaviridae*.¹⁸ Ne esistono più di 100 sierotipi diversi, tutti accomunati da un'elevata omologia della sequenza.³⁸ Il rinovirus è responsabile del raffreddore comune, con una percentuale che raggiunge l'80% in tutto il mondo, ed è più diffuso tra i bambini che tra gli adulti. È anche all'origine di un numero significativo di infezioni lievi delle alte vie respiratorie durante tutto l'arco dell'anno, ma in particolare in primavera e in autunno.^{16, 39} Le infezioni sono generalmente lievi, ma il rinovirus è stato associato a infezioni gravi nelle popolazioni a rischio, tra le quali bambini piccoli, anziani, pazienti immunodepressi e asmatici.^{16, 17}

Esistono 62 enterovirus non polio che causano malattie negli esseri umani.¹⁸ L'enterovirus infetta principalmente il tubo digerente. Può tuttavia causare malattie respiratorie generalmente lievi, come il raffreddore comune, che possono comunque portare complicazioni serie, in particolare nei neonati.¹⁸ Nel 2014 un'epidemia di enterovirus D68 (EV-D68) causò alcune infezioni respiratorie gravi, alcune delle quali con esito fatale.⁴⁰

Virus dell'influenza: esistono 3 tipi di influenzavirus: A, B e C.³ Nell'emisfero settentrionale l'influenzavirus A e l'influenzavirus B circolano nei mesi invernali, causando epidemie stagionali quasi tutti gli anni. Le infezioni da influenzavirus C sono meno diffuse e non si ritiene che possano causare epidemie.^{3, 41} Sia l'influenzavirus A che l'influenzavirus B mutano, pertanto l'impatto dell'influenza varia da un anno all'altro a seconda del grado di mutazione del virus e dell'efficacia dei vaccini antinfluenzali.⁴² I 2 sottotipi di influenzavirus A che contagiano più frequentemente gli esseri umani sono il sottotipo H1N1 (che include la variante pandemica 2009 H1N1) e il sottotipo H3N2. La loro prevalenza varia di anno in anno.⁴¹ Altri sottotipi rari di influenzavirus A in grado di contagiare gli esseri umani sono il sottotipo H5N1 (influenza aviaria) e il sottotipo H3N2v, che possono causare forme gravi della malattia e, in alcuni casi, anche il decesso.⁴³ L'influenza si diffonde facilmente da persona a persona, anche se i soggetti più a rischio di sviluppare complicazioni dall'infezione sono i neonati e i bambini, gli anziani, gli immunodepressi e i pazienti con condizioni cliniche preesistenti, come patologie polmonari o cardiache.⁴⁴

Influenza A 2009 H1N1: durante la stagione influenzale 2009-2010 emerse un nuovo ceppo di influenzavirus A, denominato 2009 H1N1, che divenne il virus circolante dominante causando circa il 95% delle infezioni segnalate.⁴⁵ Questo nuovo ceppo ha preso il posto del virus H1N1, che circolava in precedenza tra gli esseri umani, e ora è comunemente presente in Europa e negli USA.^{3, 41}

Virus parainfluenzale: i virus parainfluenzali appartengono alla famiglia dei paramixovirus, che sono responsabili di molte infezioni respiratorie nei bambini.⁴⁶ I virus parainfluenzali hanno una prevalenza stagionale che varia in base al tipo. Le infezioni sono generalmente lievi e auto-limitate, anche se i virus parainfluenzali possono causare polmoniti gravi con rischi per la sopravvivenza dei pazienti immunodepressi, ad es. affetti da fibrosi cistica o trapiantati.⁴⁷

Virus respiratorio sinciziale: il virus RSV è la più comune causa di infezione delle vie respiratorie in età pediatrica.¹⁵ L'infezione da RSV può colpire a qualsiasi età; ma i soggetti più a rischio di sviluppare complicazioni e di contrarre malattie più gravi sono i bambini molto piccoli, in particolare i neonati prematuri, gli anziani e chiunque abbia un sistema immunitario indebolito.⁴⁸ Esistono due tipi di virus respiratorio sinciziale: RSV A e B. Le infezioni da RSV A sono considerate più gravi delle infezioni da RSV B.^{22, 49}

Bordetella pertussis: la pertosse è una malattia respiratoria acuta molto contagiosa, causata dai batteri gram-negativi *Bordetella pertussis*.²³ Si manifesta con una tosse forte e incontrollabile e un respiro difficoltoso e, quando il malato prova a respirare, produce suoni convulsi.⁵⁰ Tra i neonati si registra il più alto tasso di mortalità da pertosse, mentre negli adulti l'infezione è generalmente lieve. C'è tuttavia il sospetto che spesso passi inosservata, in quanto gli adulti non sviluppano la tosse caratteristica della malattia.⁵¹ Di recente c'è stato un aumento dei casi di pertosse, in particolare tra i bambini piccoli e gli adolescenti. Si ritiene che ciò sia dovuto a una concomitanza di fattori, tra cui una migliore capacità diagnostica e un'immunità calante.⁵⁰ Nonostante la copertura vaccinale globale tra i neonati sia alta (82%), si stima che nel 2008 si siano verificati circa 16 milioni di casi di pertosse in tutto il mondo e che 195.000 bambini siano morti a causa di questa malattia.⁵² La *B. pertussis* è una malattia infettiva soggetta a obbligo di segnalazione negli USA e in tutti gli stati membri UE e SEE.^{53, 54}

Legionella pneumophila: la *Legionella pneumophila* è un batterio presente in natura nell'acqua dolce dei laghi, dei fiumi e delle sorgenti termali in tutto il mondo.^{24, 55} Prolifera facilmente anche nelle sorgenti d'acqua calda artificiali, come le vasche idromassaggio, le torri di raffreddamento e gli impianti idraulici.^{24, 55} Il contagio avviene per inalazione di piccole particelle di acqua contaminata da *L. pneumophila*, mentre la trasmissione da persona a persona è rara, ma possibile. La legionellosi, o infezione da *Legionella*, può causare la malattia dei legionari, una forma grave di polmonite, o la febbre di Pontiac, che è lieve.²⁴ La malattia dei legionari può avere un esito fatale nel 10% dei casi circa, ma risponde alla terapia antibiotica. Invece gli antibiotici non sono efficaci contro la febbre di Pontiac.^{24, 25} La malattia dei legionari presenta i seguenti fattori di rischio: malattia polmonare cronica, fumo, diabete, dipendenza da alcol o droghe, terapie farmacologiche che influenzano il sistema immunitario.⁵⁶ La *L. pneumophila* è una malattia infettiva soggetta a obbligo di segnalazione negli USA e in tutti gli stati membri UE e SEE.^{57, 58}

Mycoplasma pneumoniae: il *Mycoplasma pneumoniae* è un batterio privo di parete cellulare e una delle principali cause di malattie respiratorie.²⁶ Il *M. pneumoniae* si trasmette da persona a persona, attraverso l'inalazione delle goccioline respiratorie, ed è una causa comune delle polmoniti atipiche, anche dette ambulanti.⁵⁹ Il *M. pneumoniae* spesso non viene diagnosticato, ma si stima che sia responsabile quasi del 30% delle infezioni respiratorie.²⁶ Spesso causa una malattia lieve, come la tracheobronchite o la bronchite, ed è maggiormente prevalente nei giovani adulti e nei bambini in età scolare.^{26, 59} Il *M. pneumoniae* si diffonde facilmente negli ambienti affollati, come le scuole, i dormitori delle università, le caserme militari e le residenze per anziani.⁵⁹

PRINCIPI DELLA TECNOLOGIA

Il sistema **cobas® eplex** automatizza tutti gli aspetti dell'analisi degli acidi nucleici, tra cui l'estrazione, l'amplificazione e la rilevazione, unendo l'elettrowetting e la tecnologia eSensor in un'unica cartuccia monouso. La tecnologia eSensor si basa sui principi di ibridazione competitiva del DNA e sulla rilevazione elettrochimica, che è altamente specifica e non si basa sulla rilevazione ottica o fluorescente.

L'elettrowetting, o microfluidica digitale, utilizza campi elettrici per manipolare direttamente gocce discrete sulla superficie di un circuito stampato (PCB) dotato di rivestimento idrofobico. Il campione e i reagenti vengono movimentati in modo programmabile nella cartuccia eplex per completare tutte le parti del trattamento del campione, dall'estrazione dell'acido nucleico alla rilevazione.

Il campione viene caricato nella cartuccia **cobas® eplex**, dopodiché gli acidi nucleici vengono estratti dal campione e purificati tramite estrazione magnetica in fase solida. Se il bersaglio è un RNA, viene prima eseguito un passaggio di trascrizione inversa per generare il DNA complementare a partire dall'RNA, dopodiché viene eseguita la PCR per amplificare le sequenze bersaglio. Il trattamento con esonucleasi consente di creare un DNA a singolo filamento, che è funzionale alla rilevazione con la tecnologia eSensor.

cobas® eplex respiratory pathogen panel 2 (pannello per patogeni respiratori 2)

Il DNA bersaglio viene mescolato con le sonde di segnale marcate con ferrocene, che sono complementari ai bersagli specifici nel pannello. Il DNA bersaglio si ibrida alla sonda di segnale complementare e alle sonde di acquisizione, che sono legate a elettrodi placcati in oro (vedere la **Figura 1**). La presenza di ogni bersaglio è determinata mediante voltammetria, che genera specifici segnali elettrici dalla sonda di segnale marcata con ferrocene.

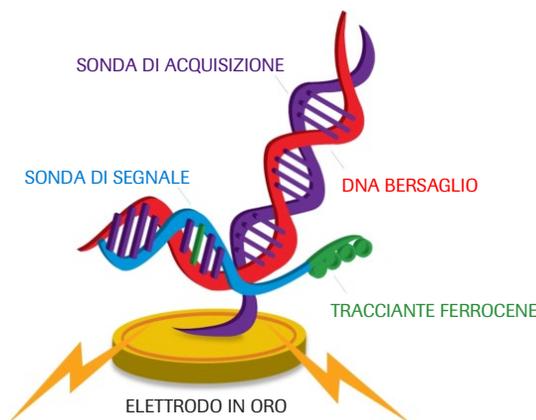


Figura 1. Complesso di ibridazione. Le sonde di acquisizione bersaglio-specifiche sono legate agli elettrodi in oro del microarray eSensor sulla cartuccia **cobas® eplex**. Il DNA bersaglio amplificato si ibrida alla sonda di acquisizione e a una sonda di segnale complementare marcata con ferrocene. L'analisi elettrochimica determina la presenza o l'assenza dei bersagli mediante voltammetria.

MATERIALI FORNITI

Tabella 2. Contenuto del kit del pannello **cobas® eplex** per patogeni respiratori 2

Prodotto	Numero del materiale	Componenti (quantità)	Conservazione
cobas® eplex respiratory pathogen panel 2 (pannello per patogeni respiratori 2)	9556486001	Cartuccia per pannello cobas® eplex respiratory pathogen panel 2 (12)	2-8°C (fino alla data di scadenza stampata) oppure 30 giorni a 25°C (le cartucce devono essere utilizzate entro 30 giorni dalla data di inizio conservazione a 25°C)

Le schede di sicurezza (SDS) di tutti i reagenti forniti in questo kit sono disponibili su: <https://navifyportal.roche.com>. Per le copie cartacee, contattare la nostra filiale locale: https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm.

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

Tabella 3. Composizione dei reagenti nelle cartucce del pannello **cobas® eplex RP2**

Composizione dei reagenti nelle cartucce del pannello cobas® eplex RP2	
Acido 2-(N-morfolino)etansolfonico (MES)	NaH ₂ PO ₄ /NaHPO ₄
6-mercapto-1-esanolo	NaN ₃
Acetonitrile	PEG 8000
Cloruro di calcio	Rosso fenolo

Composizione dei reagenti nelle cartucce del pannello cobas® eplex RP2	
Cisteamina HCl	Polidimetilsilossano, trimetil terminato, 5 cSt
Dynol-604	Inibitore di ribonucleasi
EDTA	SDS, pH corretto con HCl
EGTA	Perclorato di sodio
Etanolo	Trioleato di sorbitano
Glicerolo	Acqua Super Q
Cloridrato di guanidina	Trealosio
Litio dodecil solfato	Tris-HCl
Cloruro di magnesio (MgCl ₂)	Tween 20
MTG, pH corretto con idrossido di sodio + Tween 20	Urea
NaCl	

CONSERVAZIONE, STABILITÀ E MANIPOLAZIONE DEI REAGENTI

- Conservare i componenti del kit del pannello **cobas® eplex** RP2 a 2-8°C. In alternativa, le cartucce possono essere conservate a 25°C fino a 30 giorni. Le cartucce devono essere utilizzate entro 30 giorni dall'inizio della conservazione a 25°C e devono essere considerate scadute dopo 30 giorni a 25°C. Dopo la conservazione a 25°C non è possibile riporre di nuovo il kit in una cella frigorifera.
- Non utilizzare i componenti del kit del pannello **cobas® eplex** RP2 oltre la data di scadenza.
- Non aprire la busta contenente la cartuccia fino a quando non si è pronti ad eseguire il test.

MATERIALI NON FORNITI

Apparecchiature

- Sistema e software **cobas® eplex**
- Pipette calibrate per erogare 200 µl
- Miscelatore Vortex
- Stampante (opzionale): per le linee guida di compatibilità, vedere il Manuale dell'Assistenza Utente **cobas® eplex**

Materiali di consumo

- Puntali per pipette, resistenti all'aerosol, prive di RNasi/DNasi
- Guanti da laboratorio senza talco, monouso
- Candeggina al 10% per superfici idonee
- Etanolo o alcool isopropilico al 70%

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Generali

- Solo per uso diagnostico *in vitro* da parte di tecnici di laboratorio.
- Un professionista sanitario con adeguata formazione deve interpretare attentamente i risultati del pannello **cobas® eplex** RP2 insieme ai sintomi del paziente e ai risultati degli altri test diagnostici.

- I risultati positivi non escludono la co-infezione con altri virus o batteri. L'agente patogeno identificato potrebbe non essere la causa definitiva della malattia. È necessario prendere in considerazione l'esecuzione di ulteriori test di laboratorio (ad es. coltura batterica e virale, immunofluorescenza e radiografia) e il quadro clinico prima di formulare una diagnosi finale di infezione delle vie respiratorie.
- Non riutilizzare i componenti del kit del pannello **cobas® eplex** RP2.
- Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza stampata sull'etichetta.
- Non utilizzare un reagente se la confezione è danneggiata.
- Seguire la procedura descritta in questo foglio illustrativo. Leggere tutte le istruzioni prima di avviare il test. Qualunque deviazione dalle procedure e dalle linee guida approvate potrebbe compromettere le prestazioni del test.
- Tutti i materiali di origine umana devono essere considerati a rischio biologico e quindi manipolati adottando precauzioni universalmente valide.
- È consigliato l'uso di puntali di pipettamento privi di nucleasi, sterili e monouso. Per garantire prestazioni ottimali del test, utilizzare soltanto i materiali di consumo forniti o consigliati.
- In caso di incidenti gravi che dovessero verificarsi durante l'uso di questo test, inviare una segnalazione all'autorità competente locale e al produttore.

Sicurezza

- Manipolare tutti i campioni e i materiali di scarto come se fossero in grado di trasmettere agenti infettivi, attenendosi alle precauzioni universali. Osservare le linee guida di sicurezza, come quelle delineate in CDC/NIH *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, nel documento CLSI M29 *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections* o altre linee guida appropriate.
- Non mangiare, fumare, bere, applicare cosmetici o lenti a contatto nelle aree in cui vengono manipolati i reagenti o i campioni umani.
- Seguire le procedure di sicurezza di routine del laboratorio per la manipolazione dei reagenti (ad es. non pipettare con la bocca, indossare indumenti protettivi appropriati e protezione per gli occhi).
- Seguire le procedure di sicurezza stabilite dalla propria organizzazione per la manipolazione dei campioni biologici.
- Se si sospetta un'infezione causata da un nuovo influenzavirus A sulla base dei criteri di screening clinico ed epidemiologico raccomandati dalle autorità sanitarie pubbliche, procedere al prelievo dei campioni osservando le precauzioni per il controllo delle infezioni previste per i ceppi influenzali virulenti sconosciuti e inviare i campioni a un centro di analisi locale o nazionale specializzato. In questi casi si dovrebbe evitare la coltura virale in laboratorio, a meno che non ci sia una struttura a elevato contenimento (BSL 3+) pronta a ricevere e coltivare i campioni.
- Smaltire i materiali utilizzati durante il test, compresi i reagenti, i campioni e i flaconi usati, in conformità a tutte le normative locali, nazionali e internazionali.
- Non inserire le dita o altri oggetti all'interno dei vani del sistema **cobas® eplex**.
- Lavarsi accuratamente le mani con acqua e sapone dopo aver manipolato i reagenti. Lavare gli indumenti contaminati prima di riutilizzarli.
- Non bucare o perforare i blister dei reagenti sulla cartuccia **cobas® eplex**. I reagenti possono causare irritazione della pelle, degli occhi e delle vie respiratorie. Prodotto nocivo se ingerito o inalato. Contiene liquidi ossidanti.
- La cartuccia del pannello **cobas® eplex** RP2 contiene sostanze chimiche classificate come pericolose. Consultare la scheda di sicurezza (SDS) prima dell'uso e, in caso di esposizione, consultare la SDS per ulteriori informazioni. Le schede di sicurezza (SDS) sono disponibili su richiesta presso il rappresentante Roche locale o accedendo a eLabDoc.

- Osservare le linee guida sulla sicurezza, ad es. indossando dispositivi di protezione individuale appropriati come tute e camici da laboratorio, guanti da laboratorio e protezione per gli occhi, oltre a una cabina di biosicurezza, come descritto in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition* <https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>.
- Se si sospetta un'infezione da SARS-CoV-2 sulla base dei criteri di screening epidemiologici e clinici aggiornati e raccomandati dalle autorità sanitarie pubbliche, la raccolta dei campioni deve avvenire seguendo le precauzioni appropriate per il controllo dell'infezione.
- Decontaminare accuratamente il laboratorio e tutte le apparecchiature con candeggina al 10% e quindi con etanolo o alcool isopropilico al 70% (o equivalente) prima di analizzare un campione.
- In caso di fuoriuscita accidentale di materiale potenzialmente infettivo, pulire immediatamente l'area con una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5-1% (p/v) (candeggina al 20% v/v).
- Le caratteristiche della performance sono state determinate utilizzando campioni prelevati con tampone nasofaringeo da pazienti umani con sospetta malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) o altra infezione respiratoria a giudizio dell'operatore sanitario.
- Il trattamento dei campioni deve avvenire all'interno di una cabina di biosicurezza di Classe II (o superiore).
- Per ridurre il rischio di contaminazione da campione a campione, cambiare i guanti dopo aver dispensato il campione nella cartuccia.
- Potrebbe verificarsi una contaminazione se il campione viene caricato in un'area in cui vengono generati gli ampliconi della PCR per i patogeni respiratori. Evitare di caricare il campione in aree potenzialmente contaminate dagli ampliconi della PCR.

Laboratorio

- Potrebbe verificarsi una contaminazione del campione se il personale di laboratorio che si occupa del trattamento è portatore di infezioni da patogeni respiratori comuni. Per evitare che ciò accada, il trattamento dei campioni deve avvenire all'interno di una cabina di biosicurezza. Qualora la cabina di biosicurezza non fosse disponibile, indossare un paraspruzzi o una maschera facciale durante il trattamento dei campioni.
- Non utilizzare una cabina di biosicurezza impiegata per la coltura virale o batterica anche per la preparazione dei campioni.
- Per ridurre il rischio di contaminazione, cambiare spesso i guanti durante i test.
- Decontaminare accuratamente il laboratorio e tutte le apparecchiature con candeggina al 10% e quindi con etanolo o alcool isopropilico al 70% (o equivalente).
- Potrebbe verificarsi una contaminazione se il campione viene caricato in un'area in cui vengono generati gli ampliconi della PCR per i patogeni respiratori. Evitare di caricare il campione in aree potenzialmente contaminate dagli ampliconi della PCR.

PRELIEVO, MANIPOLAZIONE E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Per prelevare correttamente i campioni con tampone nasofaringeo, consultare le procedure ospedaliere e le istruzioni per l'uso del produttore del kit/tampone utilizzato per il prelievo.

L'Organizzazione Mondiale della Sanità suggerisce la seguente procedura per il prelievo di un campione con tampone nasofaringeo⁶⁰:

- Invitare il paziente a reclinare leggermente la testa indietro, quindi inserire il tampone orizzontalmente nella narice.

- Inserire il tampone seguendo il pavimento della coana nasale, a una profondità di almeno 5-6 cm negli adulti, fino a raggiungere il retro del rinofaringe. (NON utilizzare i tamponi con l'asta rigida per questo metodo di prelievo: è essenziale che l'asta sia flessibile.)
- Mantenere il tampone in situ per qualche secondo.
- Estrarre il tampone lentamente, ruotandolo.
- Trasferire il tampone nel terreno di trasporto virale (VTM) o in un terreno di trasporto idoneo all'uso per l'identificazione virale con metodi di diagnostica molecolare. Per sapere quali terreni di raccolta/trasporto e quali tamponi sono compatibili con il pannello **cobas® eplex** RP2, consultare la **Tabella 37**, Sostanze interferenti, e la **Tabella 38**, Terreni di raccolta e di trasporto testati ai fini dell'interferenza.
- **Nota:** il prelievo con tampone nasofaringeo è una procedura invasiva, che può mettere a disagio il paziente.

Per ulteriori istruzioni su come prelevare correttamente i campioni con il tampone nasofaringeo (immagini e video compresi), consultare i siti web dei produttori dei tamponi e dei kit più comunemente utilizzati per il prelievo, come BD, Remel e Copan.

Prelievo con tampone nasofaringeo: per prelevare il campione con un tampone nasofaringeo, osservare la tecnica di prelievo standard e trasferire i campioni in un terreno di trasporto virale.

Volume minimo di campione: per poter eseguire il test occorrono 200 µl di campione prelevato con tampone nasofaringeo in terreno di trasporto virale.

Trasporto e conservazione: dopo il trasferimento nel terreno di trasporto virale, i campioni clinici possono essere conservati a temperatura ambiente (15-30°C) fino a 12 ore o in una cella frigorifera a 2-8°C fino a 10 giorni. I campioni possono essere conservati anche a -20°C o a -80°C per 30 mesi, con massimo 2 cicli di congelamento/scongelo.

PROCEDURA

Note procedurali

- Tutti i campioni congelati devono essere completamente scongelati prima del test.
- I campioni devono essere prelevati con tampone nasofaringeo in terreno di trasporto.
- I reagenti e la cartuccia possono essere utilizzati immediatamente, una volta estratti dalla cella frigorifera a 2-8°C. Non è necessario equilibrarli a temperatura ambiente prima dell'uso.
- In alternativa, le cartucce possono essere conservate a 25°C fino a 30 giorni. Le cartucce devono essere utilizzate entro 30 giorni dall'inizio della conservazione a 25°C e devono essere considerate scadute dopo 30 giorni a 25°C. Dopo la conservazione a 25°C non è possibile riporre di nuovo il kit in una cella frigorifera.
- Una volta estratta dalla busta di alluminio, la cartuccia deve essere utilizzata entro 2 ore. Non aprire la busta contenente la cartuccia fino a quando il campione non è pronto per il test.
- Dopo aver caricato il campione sulla cartuccia del pannello **cobas® eplex** RP2, avviare il test il prima possibile, o comunque entro 2 ore.
- Non riutilizzare le cartucce.
- Utilizzare un puntale di pipettamento nuovo, sterile, per caricare ogni campione.
- Non inserire una cartuccia bagnata nel sistema **cobas® eplex**. Se la cartuccia è bagnata esternamente, asciugare il liquido con una salvietta Kimwipe™ prima di inserire la cartuccia nell'apposito vano del sistema **cobas® eplex**.
- I campioni devono essere caricati sulla cartuccia del pannello **cobas® eplex** RP2 in un ambiente pulito e privo di ampliconi.

- I campioni, i materiali di consumo e le aree del laboratorio devono essere protetti dall'aerosol o dalla contaminazione diretta con ampliconi. Decontaminare le aree del laboratorio e le apparecchiature interessate con candeggina al 10% e quindi con etanolo o alcool isopropilico al 70% (o equivalente).
- Per ridurre il rischio di contaminazione, cambiare spesso i guanti durante i test.
- Il trattamento dei campioni deve avvenire all'interno di una cabina di biosicurezza. Qualora la cabina di biosicurezza non fosse disponibile, indossare un paraspruzzi o una maschera facciale durante il trattamento dei campioni.
- Smaltire i materiali utilizzati durante il test, compresi i reagenti, i campioni e i flaconi usati, in conformità a tutte le normative pertinenti.

Procedura dettagliata

1. Decontaminare l'area utilizzata per allestire il pannello **cobas® eplex** RP2 con candeggina al 10% e subito dopo con etanolo o alcool isopropilico al 70% (o equivalente).
2. Estrarre una busta contenente una cartuccia del pannello **cobas® eplex** RP2 dalla confezione del kit.
3. Aprire la busta contenente la cartuccia del pannello RP2.
4. Scrivere l'ID campione o apporre un'etichetta barcode con l'ID campione sulla cartuccia del pannello RP2.
5. Agitare il campione sul vortex per 3-5 secondi.
6. Utilizzare una pipetta calibrata per aspirare 200 µl di campione e dispensarlo nell'ingresso campione della cartuccia del pannello **cobas® eplex** RP2.
7. Chiudere l'ingresso campione facendo scorrere il tappo sulla porta e spingendolo saldamente verso il basso per sigillare l'ingresso campione.
NOTA: possono essere presenti delle bolle quando si chiude il tappo.
8. Scansionare la cartuccia del pannello RP2 utilizzando il lettore barcode fornito con il sistema **cobas® eplex**.
NOTA: se non si utilizza un'etichetta barcode per l'ID campione, immettere manualmente l'ID campione utilizzando la tastiera sullo schermo e scansionare il barcode della cartuccia non appena il sistema **cobas® eplex** lo richiede.
NOTA: il lettore barcode leggerà sia il codice a barre dell'ID campione (se posizionato sulla cartuccia dall'operatore), sia il barcode 2D stampato sull'etichetta della cartuccia, ma emetterà un solo segnale acustico per indicare che entrambi i barcode sono stati letti.
9. Inserire la cartuccia del pannello RP2 in uno qualsiasi dei vani disponibili, indicati da una luce LED bianca lampeggiante. Il test si avvia automaticamente non appena la cartuccia viene inserita nel vano della cartuccia e il controllo pre-esecuzione (inizializzazione della cartuccia) è completato (indicato da una luce LED blu).

CONTROLLO QUALITÀ

Controlli interni

Ogni cartuccia include i controlli interni per monitorare la performance di ogni fase del processo di analisi. Un controllo DNA verifica l'estrazione, l'amplificazione e la rilevazione delle sequenze di DNA bersaglio, mentre i controlli RNA verificano l'amplificazione e la rilevazione delle sequenze di RNA bersaglio.

Ogni reazione di amplificazione sulla cartuccia ha almeno un controllo interno e, affinché il risultato del test sia valido, è necessario che in ogni reazione venga generato un segnale del controllo interno o di un bersaglio al di sopra della soglia impostata. I risultati del controllo interno vengono interpretati dal software **cobas® eplex** e sono visualizzati sui report del pannello RP2 come controllo interno PASS, FAIL o INVALID. Nella **Tabella 4** sono riportati i dettagli dell'interpretazione dei risultati del controllo interno.

Tabella 4. Risultati del controllo interno

Risultato del controllo Interno	Spiegazione	Azione
PASS	<p>In ogni reazione di amplificazione, un segnale dal controllo interno o un bersaglio ha generato una reazione al di sopra della soglia.</p> <p>Il test è stato completato e i controlli interni sono stati eseguiti correttamente, il che indica che sono stati generati risultati validi.</p>	<p>Nel report di rilevamento (Detection Report) del pannello RP2 vengono visualizzati tutti i risultati.</p> <p>Il test è valido e i risultati sono visualizzati in un report.</p>
FAIL	<p>In almeno una reazione di amplificazione, né il controllo interno, né uno dei bersagli hanno generato un segnale al di sopra della soglia.</p> <p>Il test è stato completato, ma almeno un controllo interno non è stato rilevato, il che indica che i risultati non sono validi.</p>	<p>Nel report di rilevamento (Detection Report) del pannello RP2 non viene visualizzato nessun risultato.</p> <p>Il test non è valido e deve essere ripetuto utilizzando una nuova cartuccia.</p>
N/A	<p>In ogni reazione di amplificazione, il controllo interno non ha generato un segnale al di sopra della soglia, mentre un bersaglio ha generato un segnale al di sopra della soglia.</p> <p>Il test è stato completato e i controlli interni non sono stati superati, ma la rilevazione del segnale al di sopra della soglia per un bersaglio in ogni reazione di amplificazione indica che sono stati generati dei risultati validi.</p>	<p>Nel report di rilevamento (Detection Report) del pannello RP2 vengono visualizzati tutti i risultati.</p> <p>Il test è valido e i risultati sono visualizzati in un report.</p>
INVALID	<p>Durante il processo si è verificato un errore che ha impedito l'analisi dei dati del segnale.</p> <p>Il test non è stato completato correttamente e i risultati non sono validi. La causa potrebbe essere un errore dello strumento o del software.</p>	<p>Nel report di rilevamento (Detection Report) del pannello RP2 non viene visualizzato nessun risultato.</p> <p>Il test non è valido e deve essere ripetuto utilizzando una nuova cartuccia.</p>

Controlli esterni

I controlli esterni positivi e negativi devono essere testati ogni volta che viene utilizzato un nuovo lotto di reagenti o mensilmente, a seconda di quale di queste condizioni si verifica prima. Il terreno di trasporto virale può essere utilizzato come controllo negativo. I campioni positivi precedentemente caratterizzati, oppure il terreno di trasporto virale a cui siano stati aggiunti organismi caratterizzati, possono essere utilizzati come controllo positivo esterno. I controlli esterni devono essere eseguiti in conformità con i protocolli di laboratorio e gli enti di accreditamento.

RISULTATI

Tabella 5. Interpretazione dei risultati nel report di rilevamento del pannello **cobas® eplex RP2**

Risultato del bersaglio	Spiegazione	Azione
Detected	Il test è stato completato con successo, il bersaglio ha generato un segnale al di sopra della soglia fissata e il controllo interno ha generato il risultato PASS.	Nel report di rilevamento (Detection Report) del pannello RP2 vengono visualizzati tutti i risultati. Il test è valido e i risultati sono visualizzati in un report.
Multiple Targets Detected	Il test è stato completato con successo, più bersagli hanno generato un segnale al di sopra della soglia fissata e il controllo interno ha generato il risultato PASS.	Nel report di rilevamento (Detection Report) del pannello RP2 vengono visualizzati tutti i risultati. Il test è valido e i risultati sono visualizzati in un report. La rilevazione di più di 3 patogeni potrebbe essere indicativa di una contaminazione. Per confermare i risultati, si consiglia di ripetere il test sul campione.
Not Detected	Il test è stato completato con successo, il bersaglio non ha generato un segnale al di sopra della soglia fissata e il controllo interno ha generato il risultato PASS.	Nel report di rilevamento (Detection Report) del pannello RP2 vengono visualizzati tutti i risultati. Il test è valido e i risultati sono visualizzati in un report.
Invalid	Il test non è stato completato correttamente e i risultati non sono validi. La causa potrebbe essere un errore dello strumento o del software, oppure un problema di un controllo interno.	Nel report di rilevamento (Detection Report) del pannello RP2 non viene visualizzato nessun risultato. Il test non è valido e deve essere ripetuto.

Risultati dell'Influenza A

Il pannello **cobas® eplex RP2** rileva l'influenzavirus A e i suoi sottotipi H1, H1-2009 e H3 grazie a un test specifico per ognuno. L'interpretazione dei risultati per l'Influenza A sono descritti nella **Tabella 6**.

Tabella 6. Risultati dell'Influenza A

Risultati dell'Influenza A e dei relativi sottotipi	Spiegazione	Risultati nel report	Azione consigliata
Rilevato Influenza A, almeno un sottotipo (H1, H1-2009 o H3) risulta rilevato	Questo è un risultato atteso.	Il risultato indica che è stato rilevato l'Influenzavirus A, oltre a un suo sottotipo.	Nessuna
Rilevato Influenza A, tutti i sottotipi (H1, H1-2009 o H3) risultano non rilevati	Titoli virali bassi possono causare la rilevazione dell'Influenza A senza un sottotipo. La rilevazione dell'Influenza A senza un sottotipo potrebbe indicare la presenza di un nuovo ceppo.	Il risultato indica che è stato rilevato l'Influenza A. Non è stato rilevato nessun sottotipo di Influenza A. Per confermare che si tratta di Influenza A (sottotipo), si consiglia di ripetere il test sul campione. Per ulteriori informazioni, consultare il foglio illustrativo.	Se è necessario identificare il sottotipo, ripetere il test.

Risultati dell'Influenza A e dei relativi sottotipi	Spiegazione	Risultati nel report	Azione consigliata
Rilevato Influenza A, sottotipi multipli (H1, H1-2009 o H3) risultano rilevati	<p>Il campione presenta una co-infezione con più sottotipi di influenza. L'infezione con più sottotipi di influenza è possibile, ma rara.</p> <p>Un vaccino antinfluenzale polivalente intranasale potrebbe causare risultati falsi positivi per Influenza A, A/H1, A/H3, A/H1-2009 e/o Influenza B.</p> <p>Si è verificata una contaminazione.</p>	Il risultato indica che è stato rilevato l'Influenzavirus A, oltre a vari sottotipi.	Per confermare il risultato, si consiglia di ripetere il test.
Influenza A non rilevato, almeno un sottotipo (H1, H1-2009 o H3) risulta rilevato	<p>Titoli virali bassi possono causare la rilevazione dell'Influenza A senza la matrice Influenza A.</p> <p>La rilevazione di un sottotipo di Influenza A senza la matrice Influenza A potrebbe indicare la presenza di un nuovo ceppo.</p>	Rilevato Influenza A (sottotipo). Per confermare che si tratta di Influenza A (sottotipo), si consiglia di ripetere il test sul campione. Per ulteriori informazioni, consultare il foglio illustrativo.	<p>Per confermare il risultato, ripetere il test.</p> <p>Se il risultato del test ripetuto conferma il risultato iniziale, il sottotipo di Influenza A viene considerato positivo.</p>

REPORT DEI TEST

Il sistema **cobas® eplex** può generare diversi report. I risultati vengono formattati per la stampa e possono essere visualizzati elettronicamente o esportati per eseguire ulteriori analisi. I report possono essere personalizzati con informazioni specifiche sul cliente, come indirizzo, logo e piè di pagina del laboratorio su ogni pagina. Per ulteriori informazioni sui report **cobas® eplex**, consultare il Manuale dell'Assistenza Utente **cobas® eplex**.

Report di rilevamento

Il report di rilevamento del pannello RP2 include i risultati per ogni singola seduta campione sul sistema **cobas® eplex**.

La sezione Summary indica il risultato complessivo del test ed elenca tutti i bersagli rilevati in quel campione. La sezione Results contiene un elenco di tutti i bersagli del pannello con il risultato corrispondente per ognuno. I risultati sono indicati come Detected, Not Detected o Invalid (con una **x** rossa). I risultati del controllo interno sono PASS, FAIL o INVALID.

Report del controllo esterno

Il report del controllo esterno del pannello **cobas® eplex** RP2 viene generato per un controllo esterno predefinito nel software del pannello **cobas® eplex** RP. Per ulteriori informazioni sulla definizione dei controlli esterni sul sistema **cobas® eplex**, consultare il Manuale dell'Assistenza Utente **cobas® eplex**.

La sezione Summary indica il risultato complessivo del test con lo stato Pass/Fail ed elenca tutti i bersagli rilevati per quel controllo esterno. La sezione Results contiene un elenco di tutti i bersagli del pannello con il risultato effettivo, il risultato atteso e lo stato Pass/Fail per ognuno. Gli stati dei risultati sono: Detected, Not Detected o Invalid (con una **x** rossa). Un risultato è indicato come Pass se il risultato effettivo corrisponde al risultato atteso (definito per quel controllo); Fail se il risultato effettivo non corrisponde al risultato atteso. Se il risultato effettivo per ogni bersaglio corrisponde al risultato atteso, ovvero tutti i bersagli sono indicati come Pass, il risultato complessivo del controllo esterno nella sezione Summary è indicato come Pass. Se il risultato effettivo per uno dei bersagli non corrisponde al risultato atteso, il risultato complessivo del controllo esterno nella sezione Summary è indicato come Fail.

Report di riepilogo

Il report di riepilogo consente all'operatore di utilizzare dei criteri di ricerca per creare report personalizzati basati su bersagli, date, intervalli di date, campioni, controlli esterni, vani o operatori specifici. Per ulteriori informazioni sui report di riepilogo, consultare il Manuale dell'Assistenza Utente **cobas® eplex**.

LIMITI DELLA PROCEDURA

- Questo prodotto può essere utilizzato esclusivamente con il sistema **cobas® eplex**.
- A causa della somiglianza genetica tra rinovirus/enterovirus e poliovirus umani, il pannello **cobas® eplex** RP2 non è in grado di differenziare in maniera affidabile tra questi virus. In caso di sospetta infezione da poliovirus, sarebbe opportuno confermare un eventuale risultato del pannello **cobas® eplex** RP2 positivo per rinovirus/enterovirus umano utilizzando un metodo alternativo (ad es coltura cellulare).
- A causa della somiglianza genetica tra rinovirus ed enterovirus umani, il pannello **cobas® eplex** RP2 non è in grado di differenziare in maniera affidabile tra questi virus. Qualora sia richiesta la differenziazione, sarebbe opportuno confermare un eventuale risultato positivo per rinovirus/enterovirus umano utilizzando un metodo alternativo.
- Durante l'uso del pannello **cobas® eplex** RP2 con campioni con titoli alti è stata osservata la reattività crociata con SARS-CoV-1.
- Questo è un test qualitativo e non fornisce un valore quantitativo dell'organismo rilevato.
- La performance del test è stata valutata esclusivamente per l'uso con materiale campione di origine umana.
- Questo test non è validato per l'analisi di campioni diversi dai campioni prelevati con tampone nasofaringeo.
- Non è stata valutata la performance di questo test per gli individui immunodepressi.
- Non è stata valutata la performance di questo test per i pazienti esenti da sospetta malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) o altra infezione respiratoria, a giudizio dell'operatore sanitario.
- I risultati di questo test devono essere correlati alla storia clinica, ai dati epidemiologici e ad altri dati a disposizione del medico che valuta il paziente.
- Non è stato valutato l'effetto delle terapie antibiotiche sulla performance del test.
- I bersagli (acidi nucleici virali e batterici) possono persistere *in vivo*, indipendentemente dalla vitalità del virus o del batterio. La rilevazione del bersaglio (o dei bersagli) non implica che i virus o i batteri corrispondenti siano infettivi o che siano gli agenti causali dei sintomi clinici.

- La rilevazione dell'acido nucleico virale o batterico è influenzata dal modo in cui il campione viene raccolto, manipolato, trasportato, conservato e preparato. Se non vengono rispettate le procedure corrette in uno qualsiasi dei passaggi, i risultati potrebbero essere errati. Esiste il rischio di risultati falsi positivi e falsi negativi dovuti a errori durante il prelievo, il trasporto o la manipolazione dei campioni.
- Esiste il rischio di risultati falsi negativi dovuti alla presenza di varianti delle sequenze dei bersagli virali o batterici ricercate dal test, alla presenza di inibitori, a errori tecnici, a scambi di campioni o a infezioni causate da un organismo che non viene rilevato dal pannello. I risultati del test possono essere influenzati da una terapia antibatterica o antivirale in corso o se i batteri o i virus sono presenti nel campione a livelli al di sotto del limite di sensibilità del test. Un risultato “No Targets Detected” del pannello **cobas® eplex** RP2 non può essere l'unico parametro su cui basare la diagnosi, il trattamento o altre decisioni riguardanti la gestione del paziente.
- Un risultato “No Targets Detected” del pannello **cobas® eplex** RP2 in un quadro di malattia respiratoria potrebbe essere dovuto a un'infezione con patogeni che non vengono rilevati da questo test, oppure a un livello più basso di infezione delle vie respiratorie che non è rilevabile dal campione prelevato con tampone nasofaringeo.
- Qualora vengano rilevati 4 o più organismi nel campione, si consiglia di ripetere il test per confermare il risultato polimicrobico.
- I reagenti dei sottotipi di Influenza A inclusi nel pannello **cobas® eplex** RP2 hanno come bersaglio soltanto il gene emoagglutinina dell'Influenza A. Il pannello **cobas® eplex** RP2 non rileva e non differenzia il gene neuraminidasi dell'Influenza A.
- Non è stata valutata la performance di questo test per il monitoraggio del trattamento dell'infezione con gli organismi del pannello.
- I valori predittivi positivi e negativi dipendono fortemente dalla prevalenza. Sono più probabili risultati del test falsi negativi durante il picco di attività, quando la prevalenza della malattia è alta. Sono più probabili risultati del test falsi positivi nei periodi in cui la prevalenza è tra moderata e bassa.
- La performance clinica è stata valutata in un momento in cui A H3 e A H1-2009 erano i sottotipi di influenzavirus A predominanti in circolazione. Quando emergono nuovi sottotipi di influenzavirus A, la performance può subire delle variazioni.
- Le caratteristiche di performance per l'Influenza A H1 sono state valutate utilizzando soltanto campioni clinici artefatti.
- È stato preso in considerazione soltanto l'effetto delle sostanze interferenti elencate nel foglio illustrativo. Un'eventuale interferenza causata da sostanze diverse da quelle indicate nel paragrafo “Sostanze interferenti” potrebbe causare risultati erranei.
- Si è osservato che la tobramicina, a concentrazioni superiori all'1,0% peso/volume del campione, può inibire la performance del test.
- Si è osservato che la fenilefrina cloridrato, a concentrazioni superiori all'1,0% volume/volume del campione, può inibire la performance del test.
- La performance di questo test non è stata valutata in modo specifico per i campioni di individui sottoposti di recente alla vaccinazione antinfluenzale. Un vaccino antinfluenzale polivalente intranasale vivo somministrato di recente può determinare risultati falsi positivi per l'Influenza A, A/H1, A/H3, A/H1-2009 e/o l'Influenza B.
- Il pannello **cobas® eplex** RP2 non consente la differenziazione tra varianti virali, come H3N2v, e influenzavirus A stagionali. I caso di sospetta infezione con una variante del virus, i medici sono tenuti a contattare l'autorità sanitaria pubblica locale o nazionale per organizzare il trasporto dei campioni e richiedere una diagnosi tempestiva presso un laboratorio della sanità pubblica.

CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE

Performance clinica del test SARS-CoV-2

Le caratteristiche di performance del pannello **cobas® eplex** RP2 per la rilevazione del virus SARS-CoV-2 sono state determinate utilizzando campioni clinici (prelevati con tampone nasofaringeo (NPS)) da pazienti negli USA e precedentemente congelati.

Nel primo braccio dello studio di valutazione clinica, il pannello **cobas® eplex** RP2 è stato utilizzato per testare complessivamente 189 campioni: 174 campioni NPS (60 noti positivi per SARS-CoV-2, 114 provenienti dallo studio clinico iniziale del pannello RP) e 15 campioni artefatti. Sono stati ritenuti valutabili i campioni per i quali erano disponibili risultati validi definitivi e un risultato con un metodo comparativo. Sono stati ritenuti non valutabili 4 campioni (1 noto positivo per SARS-CoV-2, 3 provenienti dallo studio clinico iniziale del pannello RP) in quanto non erano disponibili risultati validi definitivi ottenuti con il pannello **cobas® eplex** RP2. Questi campioni sono stati esclusi dall'analisi.

I metodi comparativi utilizzati per il bersaglio SARS-CoV-2 sono test molecolari per COVID-19 che hanno ricevuto l'autorizzazione all'uso di emergenza (EUA) dalla FDA negli USA. Con questi metodi sono stati analizzati soltanto 60 campioni NPS noti positivi per SARS-CoV-2. Non è stato utilizzato alcun metodo comparativo per il bersaglio SARS-CoV-2 nei restanti 114 campioni NPS provenienti dallo studio clinico iniziale. Questi campioni erano presunti negativi per SARS-CoV-2, sulla base del fatto che erano stati raccolti prima del 2017. Il metodo comparativo utilizzato per gli altri bersagli del pannello RP2 è il pannello **cobas® eplex** RP. Con questo metodo sono stati analizzati soltanto i 114 campioni NPS provenienti dallo studio clinico iniziale del pannello RP.

La concordanza percentuale positiva (*Positive Percent Agreement*, PPA) è stata calcolata dividendo il numero di risultati veri positivi (*True Positive*, TP) per la somma dei risultati TP e dei risultati falsi negativi (*False Negative*, FN), mentre la concordanza percentuale negativa (*Negative Percent Agreement*, NPA) è stata calcolata dividendo il numero di risultati veri negativi (*True Negative*, TN) per la somma dei risultati TN e dei risultati falsi positivi (*False Positive*, FP). Un vero positivo (TP) è un risultato dove il risultato positivo rilevato con il pannello **cobas® eplex** RP2 corrisponde al risultato positivo ottenuto con il metodo comparativo; un vero negativo (TN) è un risultato dove il risultato negativo rilevato con il pannello **cobas® eplex** RP2 corrisponde al risultato negativo ottenuto con il metodo comparativo. È stato anche calcolato l'intervallo di confidenza al 95% bilaterale. I risultati sono riportati nella **Tabella 7** in basso.

Tabella 7. Concordanza percentuale positiva (PPA) e concordanza percentuale negativa (NPA) per SARS-CoV-2 nello studio clinico del pannello **cobas® eplex** RP2

Organismo	Concordanza % positiva		Concordanza % negativa	
	TP/TP+FN	PPA (IC 95%)	TN/TN+FP	NPA (IC 95%)
SARS-CoV-2	59/59	100 (93,9-100)	111/111	100 (96,7-100)

IC = intervallo di confidenza, FN = falso negativo, FP = falso positivo, TN = vero negativo, TP = vero positivo

CARATTERISTICHE DELLA PERFORMANCE ANALITICA

Pannelli cobas® eplex RP e RP2

Il pannello **cobas® eplex** RP2 è stato sviluppato prendendo i reagenti richiesti per la rilevazione dei bersagli SARS-CoV-2 dal test SARS-CoV-2 e incorporandoli nel pannello esistente **cobas® eplex** per patogeni respiratori (pannello RP). I test per rilevare SARS-CoV-2 sono stati aggiunti ai pool per PCR contenenti ulteriori bersagli. I bersagli che vengono ora co-amplificati con SARS-CoV-2 sono Influenza A, Influenza A H1, Influenza A H1-2009, Influenza A H3, Influenza B e adenovirus; i test per tutti gli altri bersagli non hanno subito modifiche. In base agli studi svolti, le caratteristiche di performance del pannello RP non hanno risentito in alcun modo dell'aggiunta dei test SARS-CoV-2. Ulteriori studi a conferma dell'aggiunta di SARS-CoV-2 sono citati nei paragrafi che seguono. Gli studi originali per il pannello RP sono ancora validi per il pannello RP2.

Limite di sensibilità per SARS-CoV-2

Il limite di sensibilità o rilevabilità analitica (*Limit of Detection*, LoD) per SARS-CoV-2 è stato identificato e verificato utilizzando del materiale di riferimento quantificato. Lo studio prevedeva la preparazione di diluizioni seriali in una matrice clinica naturale (pool di campioni negativi prelevati con tampone nasofaringeo in VTM) e l'esecuzione del test su almeno 20 repliche per ogni livello di concentrazione. Il limite di sensibilità è definito come la concentrazione più bassa alla quale SARS-CoV-2 viene rilevato almeno nel 95% dei casi. Il LoD confermato per la rilevazione di SARS-CoV-2 è indicato nella **Tabella 8**.

Tabella 8. Riepilogo dei risultati LoD per SARS-CoV-2

Bersaglio	Ceppo	Concentrazione LoD
SARS-CoV-2	USA-WA1/2020	1×10^{-2} TCID ₅₀ /ml ^a

^a La concentrazione LoD per la rilevazione di SARS-CoV-2 è stata fissata a 0,01 TCID₅₀/ml, corrispondente a 250 copie genomiche per millilitro, sulla base dei calcoli Droplet Digital PCR.

Limite di sensibilità per tutti gli altri bersagli nel pannello RP2

Il limite di sensibilità o rilevabilità analitica (LoD) per ogni bersaglio virale e batterico incluso nel pannello **cobas® eplex** RP2 è stato identificato e verificato utilizzando ceppi di riferimento quantificati o trascrizioni sintetiche. Lo studio prevedeva la preparazione di diluizioni seriali in una matrice clinica naturale (pool di campioni negativi prelevati con tampone nasofaringeo in VTM) con uno o più organismi per serie e l'esecuzione del test su almeno 20 repliche per ogni bersaglio. Il limite di sensibilità è definito come la concentrazione più bassa alla quale ogni bersaglio viene rilevato nel $\geq 95\%$ dei casi. Il LoD confermato per ogni organismo incluso nel pannello **cobas® eplex** RP2 è indicato nella **Tabella 9**.

Tabella 9. Riepilogo dei risultati LoD

Bersaglio	Ceppo	Concentrazione LoD
Adenovirus	Tipo 1 (C)	1×10^3 TCID ₅₀ /ml
	Tipo 4 (E)	2×10^0 TCID ₅₀ /ml
	Tipo 7 (B)	2×10^0 TCID ₅₀ /ml
Coronavirus 229E	229E	1×10^0 TCID ₅₀ /ml
Coronavirus HKU1	HKU1 ^a	5×10^4 copie/ml
Coronavirus NL63	NL63	$7,5 \times 10^0$ TCID ₅₀ /ml
Coronavirus OC43	OC43	5×10^2 TCID ₅₀ /ml

Bersaglio	Ceppo	Concentrazione LoD
Coronavirus da sindrome respiratoria del Medio Oriente	MERS-CoV ^b	1 × 10 ⁴ copie/ml
Bocavirus umano	Bocavirus plasmidico ^c	1 × 10 ⁴ copie/ml
Metapneumovirus umano	A1 IA3-2002	2 × 10 ⁻¹ TCID ₅₀ /ml
	A2 IA14-2003 ^d	2 × 10 ³ TCID ₅₀ /ml
	B1 Peru2-2002	2 × 10 ² TCID ₅₀ /ml
	B2 Peru1-2002	2,25 × 10 ² TCID ₅₀ /ml
Rinovirus/enterovirus umano	Enterovirus tipo 68 (2007)	1 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml
	Rinovirus 1A	1,5 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml
	Rinovirus B14	1 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml
	Rinovirus C ^a	1 × 10 ⁵ copie/ml
Influenza A	H1N1 Brisbane/59/07	3 × 10 ⁻¹ TCID ₅₀ /ml
Influenza A H1	H1N1 Brisbane/59/07	3 × 10 ⁻¹ TCID ₅₀ /ml
Influenza A H1-2009	NY/01/2009	1 × 10 ⁻¹ TCID ₅₀ /ml
Influenza A H3	A/Perth/16/2009	1 × 10 ¹ TCID ₅₀ /ml
	A/Texas/50/2012	1 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml
	A/Victoria/361/2011	5 × 10 ⁻¹ TCID ₅₀ /ml
	H3N2 Brisbane/10/07	5 × 10 ¹ TCID ₅₀ /ml
Influenza B (lineage Victoria)	B/Brisbane/60/2008	1 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml
	B/Montana/5/2012	1 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml
	B/Nevada/03/2011	1 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml
Influenza B (lineage Yamagata)	B/Florida/02/06	1 × 10 ⁻¹ TCID ₅₀ /ml
	B/Massachusetts/02/2012	1 × 10 ² TCID ₅₀ /ml
	B/Texas/06/2011	1 × 10 ⁻¹ TCID ₅₀ /ml
	B/Wisconsin/01/2010	1 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml
Virus parainfluenzale 1	Isolato clinico	4 × 10 ⁻¹ TCID ₅₀ /ml
Virus parainfluenzale 2	Isolato clinico	5 × 10 ¹ TCID ₅₀ /ml
Virus parainfluenzale 3	Isolato clinico	5 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml
Virus parainfluenzale 4	Tipo 4a	3 × 10 ¹ TCID ₅₀ /ml
Virus respiratorio sinciziale A	Isolato 2006	1,5 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml
Virus respiratorio sinciziale B	CH93(18)-18	2 × 10 ⁻¹ TCID ₅₀ /ml
<i>Bordetella pertussis</i>	18323 [NCTC 10739]	5 × 10 ⁴ CFU/ml
<i>Legionella pneumophila</i>	Philadelphia-1	3 × 10 ¹ CFU/ml
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Ceppo FH di Eaton Agent [NCTC 10119]	3 × 10 ² CCU/ml

^a Per determinare il LoD sono stati utilizzati dei campioni clinici positivi per il coronavirus HKU1 e il rinovirus C umano, la cui positività è stata confermata tramite sequenziamento bidirezionale e la cui quantificazione è avvenuta con real-time RT-PCR.

^b Trascrizione sintetica di RNA utilizzata per la determinazione del LoD.

^c DNA plasmidico utilizzato per la determinazione del LoD.

^d Una comunicazione del cliente datata 9 luglio 2020 ha segnalato che il ceppo di metapneumovirus umano commercializzato come IA14-2003 era in realtà del tipo B.

Reattività analitica (inclusività)

Reattività dei test per SARS-CoV-2

È stata valutata l'inclusività utilizzando sequenze di RNA di SARS-CoV-2 (Hong Kong/VM20001061/2020) a 7,5 × 10² copie/ml. Sono state rilevate tutte le repliche, come previsto (vedere la **Tabella 10**).

Tabella 10. Risultati della reattività analitica (inclusività) per SARS-CoV-2

Bersaglio	Materiale del test	Concentrazione
SARS-CoV-2	Hong Kong/VM20001061/2020 (BEI Resource - RNA isolato)	7,5 × 10 ² copie/ml

Risultati della reattività (inclusività) prevista (*in silico*) per SARS-CoV-2

L'analisi *in silico* delle sequenze ottenute da GISAID viene eseguita di routine per poter valutare la capacità del pannello **cobas® eplex** RP2 di rilevare i ceppi di COVID-19 più recenti. I risultati di questa analisi dimostrano che le sequenze incluse nel pannello RP2 consentono di rilevare tutte le varianti in circolazione. Per informazioni aggiornate sulla rilevazione dei ceppi di SARS-CoV-2 attualmente in circolazione, contattare la filiale locale: https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm.

Inclusività per tutti gli altri bersagli RP2

Per dimostrare la reattività analitica è stato valutato un pannello di 115 ceppi/isolati rappresentativi della diversità genetica, temporale e geografica di ogni bersaglio incluso nel pannello **cobas® eplex** RP2. Ogni ceppo è stato testato in triplicato a 3 × LoD in una matrice clinica naturale (pool di campioni negativi prelevati con tampone nasofaringeo): se l'organismo non veniva rilevato a questa concentrazione, il test veniva eseguito con concentrazioni più alte. Un sottoinsieme di organismi del pannello **cobas® eplex** RP2 è stato sottoposto a un'ulteriore analisi *in silico*.

Tutti i 115 ceppi/isolati analizzati ai fini dell'inclusività sono stati rilevati dal pannello **cobas® eplex** RP2. I risultati della reattività analitica sono riportati nella **Tabella 11 - Tabella 24**.

Tabella 11. Risultati della reattività analitica (inclusività) per l'adenovirus

Nota: le specie B, C ed E di adenovirus sono tipicamente associate alle infezioni respiratorie, a differenza delle specie A, D e F.

Specie di adenovirus	Sierotipo	Concentrazione	Multiplo di LoD rilevato
A	Tipo 31	3 × 10 ³ TCID ₅₀ /ml	3×
B	Tipo 3	6 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml	3×
	Tipo 11	6 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml	3×
	De Wit Tipo 14	6 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml	3×
	Ch.79 Tipo 16	2 × 10 ² TCID ₅₀ /ml	100× ^a
	Tipo 21	6 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml	3×
	Compton Tipo 34	6 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml	3×
	Holden Tipo 35	6 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml	3×
	Wan Tipo 50	2 × 10 ¹ TCID ₅₀ /ml	10× ^b
C	Tipo 2	3 × 10 ³ TCID ₅₀ /ml	3×
	Tipo 5	3 × 10 ³ TCID ₅₀ /ml	3×
	Tipo 6	3 × 10 ³ TCID ₅₀ /ml	3×
D	Tipo 26	3 × 10 ³ TCID ₅₀ /ml	3×
	Tipo 37	3 × 10 ³ TCID ₅₀ /ml	3×
F	Dugan Tipo 40	3 × 10 ³ TCID ₅₀ /ml	3×
	Tipo 41/ ceppo Tak	3 × 10 ³ TCID ₅₀ /ml	3×

^a L'analisi *in silico* ha dimostrato una buona omologia con primer e sonde. La minore sensibilità deriva probabilmente da una stima errata del materiale genetico presente nella coltura di questo ceppo o del ceppo di riferimento (il valore TCID₅₀ è basato esclusivamente sulle particelle virali infettive).

^b L'analisi *in silico* ha dimostrato che la minore sensibilità potrebbe essere dovuta alla mancata corrispondenza con primer e/o sonde del test.

Tabella 12. Risultati della reattività analitica (inclusività) per il coronavirus

Sottotipo di coronavirus	Ceppo	Concentrazione	Multiplo di LoD rilevato
229E	229E	1×10^0 TCID ₅₀ /ml	1x
HKU1	Campione clinico ^a	5×10^4 copie/ml	1x
NL63	NL63	$7,5 \times 10^0$ TCID ₅₀ /ml	1x
OC43	OC43	5×10^2 TCID ₅₀ /ml	1x
MERS	MERS (IVT)	1×10^4 copie/ml	1x

^a Per determinare il LoD è stato utilizzato un campione clinico positivo per il coronavirus HKU1, confermato mediante sequenziamento bidirezionale e quantificato con real-time RT-PCR.

Tabella 13. Risultati della reattività analitica (inclusività) per il bocavirus umano

Sottotipo di bocavirus	Ceppo	Concentrazione	Multiplo di LoD rilevato
A1	Plasmide	1×10^4 copie/ml	1x

Tabella 14. Risultati della reattività analitica (inclusività) per il metapneumovirus umano

Sottotipo di metapneumovirus	Ceppo	Concentrazione	Multiplo di LoD rilevato
B2	Peru6-2003 G, B2	$6,75 \times 10^2$ TCID ₅₀ /ml	3x

Tabella 15. Risultati della reattività analitica (inclusività) per il rinovirus/enterovirus umano

Rinovirus/enterovirus	Ceppo	Concentrazione	Multiplo di LoD rilevato
Rinovirus umano	Tipo A2	$4,5 \times 10^0$ TCID ₅₀ /ml	3x
	Tipo A7	$1,5 \times 10^1$ TCID ₅₀ /ml	$10 \times^a$
	Tipo A16	$4,5 \times 10^0$ TCID ₅₀ /ml	3x
	Tipo A18	$1,5 \times 10^2$ TCID ₅₀ /ml	$100 \times^a$
	Tipo A34	$4,5 \times 10^0$ TCID ₅₀ /ml	3x
	Tipo A57	$4,5 \times 10^0$ TCID ₅₀ /ml	3x
	Tipo A77	$4,5 \times 10^0$ TCID ₅₀ /ml	3x
	277G	$4,5 \times 10^0$ TCID ₅₀ /ml	3x
	Tipo B3	$1,5 \times 10^1$ TCID ₅₀ /ml	$10 \times^a$
	Tipo B17	$1,5 \times 10^1$ TCID ₅₀ /ml	$10 \times^a$
	Tipo B42	$4,5 \times 10^0$ TCID ₅₀ /ml	3x
	Tipo B83	$4,5 \times 10^0$ TCID ₅₀ /ml	3x
	Tipo B84	$4,5 \times 10^0$ TCID ₅₀ /ml	3x
	FO2-2547	$4,5 \times 10^0$ TCID ₅₀ /ml	3x
Enterovirus	Tipo 71	3×10^0 TCID ₅₀ /ml	3x
Coxsackievirus	A9	3×10^0 TCID ₅₀ /ml	3x
	A10	3×10^0 TCID ₅₀ /ml	3x
	A21	3×10^0 TCID ₅₀ /ml	3x
	A24	3×10^0 TCID ₅₀ /ml	3x
	B2	1×10^2 TCID ₅₀ /ml	$100 \times^a$
	B3	3×10^0 TCID ₅₀ /ml	3x
	B4	3×10^0 TCID ₅₀ /ml	3x
	B5	1×10^1 TCID ₅₀ /ml	$10 \times^a$

Rinovirus/enterovirus	Ceppo	Concentrazione	Multiplo di LoD rilevato
Echovirus	9	3×10^0 TCID ₅₀ /ml	3×
	E6	1×10^1 TCID ₅₀ /ml	10× ^b
	25	1×10^1 TCID ₅₀ /ml	10× ^a
	30	3×10^0 TCID ₅₀ /ml	3×
Poliovirus	1	1×10^2 TCID ₅₀ /ml	100× ^a

^a L'analisi *in silico* ha dimostrato che la minore sensibilità potrebbe essere dovuta alla mancata corrispondenza con primer e/o sonde del test.

^b L'analisi *in silico* ha dimostrato una buona omologia con primer e sonde. La minore sensibilità deriva probabilmente da una stima errata del materiale genetico presente nella coltura di questo ceppo o del ceppo di riferimento (il valore TCID₅₀ è basato esclusivamente sulle particelle virali infettive).

Tabella 16. Risultati della reattività analitica (inclusività) per l'Influenza A

Nota: a causa di test differenti per la matrice Influenza A e i sottotipi di Influenza A nel pannello cobas® eplex RP, se si osservano LoD differenti per l'inclusività tra la matrice Influenza A e un sottotipo, tali differenze vengono riportate nella colonna Multiplo di LoD rilevato.

Sottotipo di Influenza A	Ceppo	Concentrazione	Multiplo di LoD rilevato
Influenza A H1	A/New Caledonia/20/1999	3×10^1 TCID ₅₀ /ml	100× ^b
	A/PR/8/34	9×10^{-1} TCID ₅₀ /ml	3× (matrice Influenza A) Sottotipo H1 non rilevato ^a
	A/Solomon Islands/3/2006	3×10^0 TCID ₅₀ /ml	10× ^b
	A/Taiwan/42/06	3×10^1 TCID ₅₀ /ml	100× ^b
Influenza A H3	A/Port Chalmers/1/73	$1,5 \times 10^2$ TCID ₅₀ /ml	3×
	A/Nanchang/933/95		
	A/Victoria/3/75		
	A/Wisconsin/67/05		
Influenza A 2009 H1N1	A/California/7/2009	3×10^{-1} TCID ₅₀ /ml	3×
	A/Mexico/4108/09	3×10^{-1} TCID ₅₀ /ml	3×
	A/NY/02/2009	3×10^{-1} TCID ₅₀ /ml	3×
	A/Swine NY/03/2009	3×10^{-1} TCID ₅₀ /ml	3×

^a L'analisi *in silico* ha dimostrato una bassa omologia tra questa sequenza di un ceppo non contemporaneo di influenza e le sequenze del primer H1.

^b Per la matrice Influenza A, l'analisi *in silico* ha dimostrato una buona omologia con primer e sonde. La minore sensibilità deriva probabilmente da una stima errata del materiale genetico presente nella coltura di questo ceppo o del ceppo di riferimento (il valore TCID₅₀ è basato esclusivamente sulle particelle virali infettive). Per il sottotipo H1, l'analisi *in silico* ha dimostrato che la minore sensibilità potrebbe essere dovuta alla mancata corrispondenza con primer e/o sonde del test.

Tabella 17. Risultati della reattività analitica (inclusività) per i ceppi di Influenza A titolati con metodi diversi dal ceppo di riferimento

Sottotipo di Influenza A	Ceppo	Concentrazione
Influenza A H1	A/FM/1/47	2,81 × 10 ⁴ CEID ₅₀ /ml
	A/NWS/33	7,40 × 10 ² CEID ₅₀ /ml (matrice Influenza A) Sottotipo H1 non rilevato ^c
Influenza A H3	A/Hong Kong/8/68	1,58 × 10 ² CEID ₅₀ /ml
Influenza A H1N1	A/Virginia/ATCC1/2009	2,90 × 10 ⁰ PFU/ml
	A/Virginia/ATCC2/2009	6,10 × 10 ² PFU/ml
	A/Virginia/ATCC3/2009	1,80 × 10 ³ PFU/ml
Influenza A H5N8	A/Gyrfalcon/Washington/41088-6/2014 BPL	1,58 × 10 ³ EID ₅₀ /ml (matrice Influenza A) Nessun sottotipo rilevato ^a
Influenza A H5N2	A/Northern Pintail/Washington/40964/ 2014 BPL	2,51 × 10 ³ EID ₅₀ /ml (matrice Influenza A) Nessun sottotipo rilevato ^a
Influenza A H7N9	A/ANHUI/1/2013	7,94 × 10 ³ EID ₅₀ /ml (matrice Influenza A) Nessun sottotipo rilevato ^b
Influenza A H3N2v	A/Indiana/21/2012	2,51 × 10 ⁴ EID ₅₀ /ml (matrice Influenza A e sottotipo H3)

^a Rilevazione del sottotipo H5 non attesa

^b Rilevazione del sottotipo H7 non attesa

^c L'analisi *in silico* ha rivelato una bassa omologia tra questa sequenza di un ceppo non contemporaneo di influenza e le sequenze della sonda di segnalazione/sonda di acquisizione H1.

NOTA: CEID₅₀/ml = Chicken Embryo Infectious Dose; EID₅₀/ml = Egg Infectious Dose; PFU/ml = quantificazione in Unità Formanti Placca

Reattività analitica (inclusività) supplementare per Influenza

Per i ceppi di influenza umana, aviaria e suina i cui test non sono disponibili nel pannello cobas® eplex RP, è stata eseguita l'analisi *in silico*. L'analisi bioinformatica è stata utilizzata per generare un risultato simulato in base al numero e alla posizione delle mancate corrispondenze, secondo l'allineamento delle sequenze GenBank rispetto ai primer, alle sonde di acquisizione e alle sonde di segnalazione incluse nel pannello cobas® eplex RP.

Tabella 18. Risultati simulati *in silico* della reattività analitica (inclusività) per Influenza A

Sottotipo di Influenza A	Host	Ceppo	ID GenBank	Risultato cobas® eplex simulato
H2N2	Umana	A/Albany/20/1957(H2N2)	CY022014	Influenza A
		Kilbourne F38: A/Korea/426/68 (HA, NA) x A/Puerto Rico/8/34	CY037296	Influenza A
	Aviaria	A/chicken/New York/13828-3/1995(H2N2)	CY014822	Influenza A
		A/Japan/305/1957(H2N2)	CY014977	Influenza A
		A/Korea/426/1968(H2N2)	CY031596	Influenza A

Sottotipo di Influenza A	Host	Ceppo	ID GenBank	Risultato cobas® eplex simulato
H4N6		A/Blue-winged teal/Minnesota/Sg-00043/2007(H4N6)	CY063978	Influenza A
H5N1	Aviaria	A/Peregrine falcon/Aomori/7/2011	AB629716	Influenza A
		A/Chicken/West Bengal/239022/2010	CY061305	Influenza A
		A/Chicken/West Bengal/193936/2009	GU272009	Influenza A
		A/Chicken/Hunan/1/2009	HM172150	Influenza A
		A/Chicken/Hunan/8/2008	GU182162	Influenza A
		A/Chicken/West Bengal/106181/2008	GU083632	Influenza A
		A/Chicken/Primorsky/85/2008	FJ654298	Influenza A
		A/Chicken/West Bengal/82613/2008	GU083648	Influenza A
		A/Duck/France/080036/2008	CY046185	Influenza A
		A/Duck/Vietnam/G12/2008	AB593450	Influenza A
		A/Chicken/Thailand/PC-340/2008	EU620664	Influenza A
		A/Great egret/Hong Kong/807/2008	CY036240	Influenza A
		A/Rook/Rostov-on-Don/26/2007(H5N1)	EU814504	Influenza A
		A/Turkey/VA/505477-18/2007(H5N1)	GU186510	Influenza A
	A/Chicken/Bangladesh/1151-10/2010(H5N1)	HQ156766	Influenza A	
	Umana	A/Bangladesh/3233/2011	CY088772	Influenza A
		A/Cambodia/R0405050/2007(H5N1)	HQ200572	Influenza A
		A/Cambodia/S1211394/2008	HQ200597	Influenza A
A/Hong Kong/486/97(H5N1)		AF255368	Influenza A	
Suina	A/Swine/East Java/UT6010/2007(H5N1)	HM440124	Influenza A	
H5N2	Aviaria	A/Duck/Pennsylvania/10218/1984(H5N2)	AB286120	Influenza A
		A/American black duck/Illinois/08OS2688/2008	CY079453	Influenza A
		A/American green-winged teal/California/HKWF609/2007	CY033447	Influenza A
		A/Canada goose/New York/475813-2/2007	GQ923358	Influenza A
		A/Blue-winged teal/Saskatchewan/22542/2007	CY047705	Influenza A
		A/Chicken/Taiwan/A703-1/2008	AB507267	Influenza A
		A/Duck/France/080032/2008	CY046177	Influenza A
		A/Duck/New York/481172/2007	GQ117202	Influenza A
		A/Gadwall/Altai/1202/2007	CY049759	Influenza A
		A/Mallard/Louisiana/476670-4/2007	GQ923390	Influenza A
A/Waterfowl/Colorado/476466-2/2007	GQ923374	Influenza A		
H5N3	Aviaria	A/Duck/Singapore/F119/3/1997(H5N3)	GU052803	Influenza A
H6N1		A/Duck/PA/486/1969(H6N1)	EU743287	Influenza A
H6N2		A/Mallard/Czech Republic/15902-17K/2009(H6N2)	HQ244433	Influenza A

Sottotipo di Influenza A	Host	Ceppo	ID GenBank	Risultato cobas® eplex simulato	
H7N2	Aviaria	A/Chicken/Hebei/1/2002	AY724263	Influenza A	
		A/Chicken/PA/149092-1/02	AY241609	Influenza A	
		A/Chicken/NJ/294508-12/2004	EU743254	Influenza A	
		A/Chicken/New York/23165-6/2005	CY031077	Influenza A	
		A/Muscovy duck/New York/23165-13/2005	CY033226	Influenza A	
		A/Muscovy duck/New York/87493-3/2005	CY034791	Influenza A	
		A/Mallard/Netherlands/29/2006	CY043833	Influenza A	
		A/Northern shoveler/California/JN1447/2007	CY076873	Influenza A	
H7N3	Umana	A/New York/107/2003(H7N2)	EU587373	Influenza A	
		A/Canada/rv504/2004(H7N3)	CY015007	Influenza A	
H7N7	Aviaria	A/American green-winged teal/Mississippi/09OS046/2009	CY079309	Influenza A	
		A/Chicken/Germany/R28/03	AJ619676	Influenza A	
		A/Chicken/Netherlands/1/03	AY340091	Influenza A	
		A/Mallard/California/HKWF1971/2007	CY033383	Influenza A	
		A/Mallard/Korea/GH171/2007	FJ959087	Influenza A	
		A/Mute swan/Hungary/5973/2007	GQ240816	Influenza A	
	A/Northern shoveler/Mississippi/ 09OS643/2009	CY079413	Influenza A		
	Umana	A/Netherlands/219/03(H7N7)	AY340089	Influenza A	
H7N9	Umana	A/Shanghai/1/2013(H7N9)	EPI439493	Influenza A	
	Aviaria	A/Northern shoveler/Mississippi/11OS145/2011(H7N9)	CY133650	Influenza A	
		A/Ruddy turnstone/Delaware Bay/220/1995(H7N9)	CY127254	Influenza A	
		A/Turkey/Minnesota/1/1988(H7N9)	CY014787	Influenza A	
		A/Blue-winged teal/Ohio/566/2006(H7N9)	CY024819	Influenza A	
H9N2	Umana	A/Hong Kong/1073/99(H9N2)	AJ278647	Influenza A	
H10N7	Aviaria	A/Turkey/Wisconsin/1/1966(H9N2)	CY014664	Influenza A	
H11N9		A/chicken/Germany/N/1949(H10N7)	GQ176135	Influenza A	
		A/Duck/Memphis/546/1974(H11N9)	GQ257441	Influenza A	
H1N1	Suina	A/Swine/Wisconsin/1/1971(H1N1)	CY022414	Influenza A	
	Umana	A/California/UR06-0393/2007(H1N1)	CY026540 CY026539	Influenza A H1	
A/New York/297/2003(H1N2)		CY002664 CY002665	Influenza A H1		
H1N1 (2009)		A/Aalborg/INS133/2009(H1N1)	CY063606 CY063607	Influenza A H1-2009	
		A/South Carolina/02/2010(H1N1)	KC781370 KC781372	Influenza A H1-2009	
H1N2		Suina	A/Swine/Hong Kong/NS857/2001(H1N2)	GQ229350	Influenza A
			A/Swine/Sweden/1021/2009(H1N2)	GQ495135	Influenza A
H3N1		Aviaria	A/Blue-winged teal/ALB/452/1983(H3N1)	CY004635	Influenza A

Sottotipo di Influenza A	Host	Ceppo	ID GenBank	Risultato cobas® eplex simulato
H3N2v	Umana	A/Iowa/07/2011(H3N2)	JQ070760	Influenza A H3
			JQ290177	
		A/Iowa/08/2011(H3N2)	JQ070768	Influenza A H3
			JQ290167	
		A/Iowa/09/2011(H3N2)	JQ070776	Influenza A H3
			JQ290183	
		A/Indiana/08/2011(H3N2)	JQ070800	Influenza A H3
			JQ070795	
		A/Maine/06/2011(H3N2)	JN866181	Influenza A H3
			JN866186	
		A/Maine/07/2011(H3N2)	JN992746	Influenza A
		A/Pennsylvania/09/2011(H3N2)	JN655534	Influenza A
		A/Pennsylvania/11/2011(H3N2)	JN655540	Influenza A
		A/Pennsylvania/10/2011(H3N2)	JN655550	Influenza A
	A/West Virginia/06/2011(H3N2)	JQ290159	Influenza A H3	
		JQ290164		
	A/West Virginia/07/2011(H3N2)	JQ348839	Influenza A	
A/Indiana/10/2011(H3N2)	KJ942592	Influenza A H3		
	JQ070787			
A/Boston/38/2008(H3N2)	CY044580	Influenza A H3		
	CY044581			
Suina	A/swine/NY/A01104005/2011(H3N2v)	JN940422	Influenza A H3	
		JN866181	Influenza A H3	
	A/Maine/06/2011(H3N2)	JN866186	Influenza A H3	
		JN655558	Influenza A H3	
A/Indiana/08/2011(H3N2)	JN638733			
H3N5	Aviaria	A/American black duck/North Carolina/675-075/2004(H3N2)	GU051135	Influenza A
			GU051136	Influenza A
A/Mallard/Netherlands/2/1999(H3N5)		CY060261	Influenza A	
		CY060264	Influenza A	
H3N6		A/American black duck/New Brunswick/25182/2007(H3N6)	CY047696	Influenza A
			CY047697	Influenza A
H3N7		A/Northern shoveler/California/HKWF1367/2007(H3N7)	CY033372	Influenza A
			CY033375	Influenza A
H3N8		A/American black duck/Washington/699/1978(H3N8)	GU052300	Influenza A H3
			GU052299	

Tabella 19. Risultati della reattività analitica (inclusività) per l'Influenza B

Sottotipo di Influenza B	Ceppo	Concentrazione	Multiplo di LoD rilevato
Influenza B (lineage Yamagata)	B/Lee/40	3×10^{-1} TCID ₅₀ /ml	3×
	B/Allen/45	1×10^0 TCID ₅₀ /ml	10× ^a
	B/Maryland/1/59	$3,38 \times 10^1$ CEID ₅₀ /ml	N/A (ceppo titolato in modo differente rispetto al ceppo di riferimento)
	B/Taiwan/2/62	1×10^2 TCID ₅₀ /ml	1000× ^a
Influenza B (lineage Victoria)	B/Hong Kong/5/72	1×10^1 TCID ₅₀ /ml	100× ^b
	B/Malaysia/2506/04	3×10^{-1} TCID ₅₀ /ml	3×
Influenza B (lineage sconosciuto)	B/GL/1739/54	3×10^{-1} TCID ₅₀ /ml	3×

^a Non sono disponibili dati sulla sequenza. La minore sensibilità potrebbe essere dovuta alla mancata corrispondenza con primer e/o sonde del test. Inoltre la minore sensibilità potrebbe derivare da una stima errata del materiale genetico presente nella coltura di questo ceppo o del ceppo di riferimento (il valore TCID₅₀/ml è basato esclusivamente sulle particelle virali infettive).

^b L'analisi *in silico* ha dimostrato che la minore sensibilità potrebbe essere dovuta alla mancata corrispondenza con primer e/o sonde del test.

Tabella 20. Risultati della reattività analitica (inclusività) per il virus parainfluenzale

Sottotipo di virus parainfluenzale	Ceppo	Concentrazione	Multiplo di LoD rilevato
Virus parainfluenzale 1	C35	$1,2 \times 10^0$ TCID ₅₀ /ml	3×
Virus parainfluenzale 2	Greer	$1,5 \times 10^2$ TCID ₅₀ /ml	3×
Virus parainfluenzale 3	C-243	5×10^1 TCID ₅₀ /ml	10× ^a
Virus parainfluenzale 4	4b	9×10^1 TCID ₅₀ /ml	3×

^a L'analisi *in silico* ha dimostrato che la minore sensibilità potrebbe essere dovuta alla mancata corrispondenza con primer e/o sonde del test.

Tabella 21. Risultati della reattività analitica (inclusività) per il virus respiratorio sinciziale

Sottotipo di RSV	Ceppo	Concentrazione	Multiplo di LoD rilevato
Virus respiratorio sinciziale A	A2	$4,5 \times 10^0$ TCID ₅₀ /ml	3×
	Long	$4,5 \times 10^0$ TCID ₅₀ /ml	3×
Virus respiratorio sinciziale B	9320	6×10^{-1} TCID ₅₀ /ml	3×
	Wash/18537/62	6×10^{-1} TCID ₅₀ /ml	3×
	WV/14617/85	6×10^{-1} TCID ₅₀ /ml	3×

Tabella 22. Risultati della reattività analitica (inclusività) per *Bordetella pertussis*

<i>Bordetella pertussis</i>	Ceppo	Concentrazione	Multiplo di LoD rilevato
<i>Bordetella pertussis</i>	5 [17921]	$1,5 \times 10^5$ CFU/ml	3×
	5374 [3747]		3×
	589		3×
	F		3×
	PT9/28G [W28]		3×
	Tohama I		3×

Tabella 23. Risultati della reattività analitica (inclusività) per *Legionella pneumophila*

<i>Legionella pneumophila</i>	Ceppo	Concentrazione	Multiplo di LoD rilevato
<i>Legionella pneumophila</i>	11EJ	3×10^3 CFU/ml	10×
	Chicago 8 [NCTC 11984]	3×10^5 CFU/ml	1000×
	FAUC 19	3×10^4 CFU/ml	100×
	Reims 97 II no. 1	3×10^4 CFU/ml	100×
	RIO	3×10^4 CFU/ml	100×

Tabella 24. Risultati della reattività analitica (inclusività) per *Mycoplasma pneumoniae*

<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Ceppo	Concentrazione	Multiplo di LoD rilevato
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	[Bru]	9×10^2 CCU/ml	3×
	M129-B170	9×10^2 CCU/ml	3×
	M129-B7	9×10^2 CCU/ml	3×
	[M52]	9×10^2 CCU/ml	3×
	[Mac]	9×10^2 CCU/ml	3×
	Mutante 22	3×10^4 CCU/ml	100× ^a
	PI 1428	3×10^4 CCU/ml	100× ^b

^a Non sono disponibili dati sulla sequenza. La minore sensibilità potrebbe essere dovuta alla mancata corrispondenza con primer e/o sonde del test. Inoltre la ridotta sensibilità potrebbe derivare da una stima errata del materiale genetico presente nella coltura di questo ceppo o del ceppo di riferimento (il valore CCU/ml è basato esclusivamente sui batteri vivi).

^b L'analisi *in silico* ha dimostrato una buona omologia con primer e sonde. La ridotta sensibilità deriva probabilmente da una stima errata del materiale genetico presente nella coltura di questo ceppo o del ceppo di riferimento (il valore CCU/ml è basato esclusivamente sui batteri vivi).

Specificità analitica (reattività crociata ed esclusività)

Reattività crociata dei test per SARS-CoV-2

È stata valutata la reattività crociata dei test per SARS-CoV-2 sia utilizzando l'analisi *in silico*, sia testando gli analiti quantificati di organismi comunemente in circolazione e di altri patogeni appartenenti alla stessa famiglia genetica. Sono stati utilizzati i costrutti sintetici degli analiti per i quali non erano disponibili colture con titolo alto (SARS-CoV-1, MERS-CoV, Bocavirus umano e Coronavirus HKU1). I pool costituiti da 2-4 analiti sono stati testati in triplicato. Gli analiti virali sono stati diluiti fino a concentrazioni del test di 1×10^4 - 1×10^6 TCID₅₀/ml. Gli analiti batterici e fungini sono stati diluiti a una concentrazione del test di 1×10^7 - 1×10^8 CFU/ml. I costrutti sintetici sono stati testati a una concentrazione del test di 1×10^5 - 1×10^6 copie/ml. Il virus parainfluenzale 3 era un campione clinico utilizzato come diluente per generare un pool virale, pertanto non viene fornita una concentrazione virale. Un riepilogo dei risultati della reattività crociata è riportato nella **Tabella 25** in basso. Durante l'uso del pannello **cobas® eplex RP2** con campioni con titoli alti è stata osservata la reattività crociata con SARS-CoV-1.

Tabella 25. Reattività crociata dei test SARS-CoV-2 con organismi inclusi e non inclusi nel pannello

Virus/batteri	Ceppo	Concentrazione	Reattività crociata
Adenovirus C	1	1×10^3 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Coronavirus	229E	1×10^4 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Coronavirus	HKU1 ^a	1×10^5 copie/ml	Non osservata
Coronavirus	NL63	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Coronavirus	OC43	1×10^6 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Coronavirus	MERS-CoV ^b	1×10^5 copie/ml	Non osservata

Virus/batteri	Ceppo	Concentrazione	Reattività crociata
Coronavirus	SARS-CoV-1 ^a	1 × 10 ⁶ copie/ml	Osservato
Bocavirus umano	HBoV1 ^b	1 × 10 ⁶ copie/ml	Non osservata
Echovirus	30	1 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Enterovirus	68	1 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Influenza A	H1N1/NY01/2009	1 × 10 ⁻¹ TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Influenza B	Yamagata B/Florida/02/06	1 × 10 ⁻¹ TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Metapneumovirus umano	B2 Peru1-2002	1 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Parainfluenza	1	1 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Parainfluenza	2	1 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Parainfluenza	3	N/A	Non osservata
Parainfluenza	4a	1 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Virus respiratorio sinciziale A	2006	1 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Rinovirus umano	B14	1 × 10 ⁶ TCID ₅₀ /ml	Non osservata
<i>Bordetella pertussis</i>	ATCC53894	1 × 10 ⁸ CFU/ml	Non osservata
<i>Candida albicans</i>	ATCC24433	1 × 10 ⁷ CFU/ml	Non osservata
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	ATCC53281	1 × 10 ⁷ CFU/ml	Non osservata
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC43065	1 × 10 ⁸ CFU/ml	Non osservata
<i>Legionella pneumophila</i>	ATCC35096	1 × 10 ⁸ CFU/ml	Non osservata
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	ATCC25177	1 × 10 ⁸ CFU/ml	Non osservata
<i>Moraxella catarrhalis</i>	ATCC23246	1 × 10 ⁷ CFU/ml	Non osservata
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	ATCC29085	1 × 10 ⁸ CFU/ml	Non osservata
<i>Neisseria meningitidis</i>	NCTC10026	1 × 10 ⁸ CFU/ml	Non osservata
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC BAA-1744	1 × 10 ⁸ CFU/ml	Non osservata
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923	1 × 10 ⁸ CFU/ml	Non osservata
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC700567	1 × 10 ⁸ CFU/ml	Non osservata
<i>Staphylococcus salivarius</i>	ATCC25975	1 × 10 ⁷ CFU/ml	Non osservata
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC49136	1 × 10 ⁸ CFU/ml	Non osservata
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC49399	1 × 10 ⁸ CFU/ml	Non osservata
Pool di tamponi nasali	Campione clinico umano	N/A	Non osservata

^a Trascrizione *in vitro*

^b Plasmide

Analisi *in silico* dei test SARS-CoV-2 inclusi nel pannello cobas® eplex RP2

Per valutare la reattività crociata, è stata eseguita l'analisi *in silico* per le regioni dei geni che costituiscono i bersagli del pannello cobas® eplex RP2. Roche ha svolto una ricerca primer-BLAST® del database NCBI rispetto a tutti i batteri, i virus a RNA a filamento negativo (*Negarnaviricota*), i picornavirus, gli adenovirus, i coronavirus umani comuni, MERS, *Candida albicans* e *Pneumocystis*. Le ricerche BLAST non hanno portato all'identificazione di nessuna reattività crociata, ad eccezione del coronavirus SARS che appartiene allo stesso sottogenere (*Sarbecovirus*) del SARS-CoV-2.

Specificità analitica (reattività crociata ed esclusività) di altri bersagli inclusi nel pannello RP2

I test per la rilevazione di SARS-CoV-2 sono stati incorporati nel pannello **cobas® eplex** RP2 senza alterare la struttura originale dei test del pannello **cobas® eplex** RP. I bersagli del pannello RP originale interessati dall'aggiunta dei test SARS-CoV-2 (Influenza A, Influenza A H1, Influenza A H1-2009, Influenza A H3, Influenza B e adenovirus) sono stati testati e non è stata osservata nessuna reattività crociata. Ne consegue che le dichiarazioni di reattività crociata valide per il pannello **cobas® eplex** RP si confermano valide anche per il pannello RP2.

La reattività crociata di ogni bersaglio virale e batterico incluso nel pannello **cobas® eplex** RP è stata valutata con concentrazioni elevate (1×10^5 TCID₅₀/ml per i virus, 1×10^6 CFU/ml o CCU/ml per i ceppi batterici o 1×10^6 copie/ml per le trascrizioni *in vitro*) diluendo i ceppi quantificati in un terreno di trasporto virale. Le trascrizioni *in vitro* per il coronavirus HKU1 sono state diluite in tampone PBS. Ulteriori ceppi di Influenza A sono stati testati alle seguenti concentrazioni: Influenza A H7N9 a $7,94 \times 10^5$ EID₅₀/ml, Influenza A H3N2v a $2,51 \times 10^5$ EID₅₀/ml, Influenza A H5N2 a $2,51 \times 10^5$ EID₅₀/ml, Influenza A H5N8 a $1,58 \times 10^5$ EID₅₀/ml. Nella **Tabella 26** sono riassunti i risultati per i ceppi virali e batterici testati. Non è stata osservata nessuna reattività crociata tra nessuno dei virus o dei batteri nel pannello.

Tabella 26. Reattività crociata con gli organismi bersaglio inclusi nel pannello **cobas® eplex** RP

Bersaglio	Ceppo	Concentrazione	Risultati della reattività crociata
Adenovirus A	Tipo 31	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Adenovirus B	Tipo 7A	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Adenovirus C	Tipo 1	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Adenovirus D	Tipo 9	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Adenovirus E	Tipo 4	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Adenovirus F	Tipo 41	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Coronavirus	229E	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Coronavirus	Trascrizione <i>in vitro</i> di HKU1	1×10^6 copie/ml	Non osservata
Coronavirus	NL63	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Coronavirus	Trascrizione <i>in vitro</i> di MERS	1×10^6 copie/ml	Non osservata
Coronavirus	OC43	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Enterovirus	Isolato Tipo 68 2007	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Bocavirus umano	Bocavirus plasmidico	1×10^6 copie/ml	Non osservata
Metapneumovirus umano	B1	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Rinovirus umano	1A	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Influenza A	A/Brisbane/59/07	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
H1	A/Brisbane/59/07	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
H1-2009	A/NY/01/2009	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
H3	A/Brisbane/10/07	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Influenza B	B/Florida/02/06	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Virus parainfluenzale 1	C35	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Virus parainfluenzale 2	Tipo 2	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Virus parainfluenzale 3	Tipo 3	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Virus parainfluenzale 4	Tipo 4a	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata
RSV A	Isolato 2006	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	Non osservata

Bersaglio	Ceppo	Concentrazione	Risultati della reattività crociata
RSV B	CH93(18)-18	1 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	Non osservata
<i>Bordetella pertussis</i>	18323 [NCTC 10739]	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Legionella pneumophila</i>	Philadelphia-1	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Ceppo FH di Eaton Agent [NCTC 10119]	1 × 10 ⁶ CCU/ml	Non osservata

La reattività crociata di ogni virus, batterio e fungo non incluso come bersaglio nel pannello **cobas® eplex RP** è stata valutata con concentrazioni elevate (1 × 10⁵ TCID₅₀/ml per i virus, 1 × 10⁶ CFU/ml per i batteri e gli isolati di lieviti) diluendo i ceppi quantificati in un terreno di trasporto virale. Il virus varicella Zoster non è stato diluito ed è stato testato con il titolo dello stock, ovvero 8,9 × 10³ TCID₅₀/ml. Nella **Tabella 27** sono riassunti i risultati dei ceppi testati. Non è stata osservata nessuna reattività crociata tra i virus, i batteri e i funghi fuori pannello e i bersagli inclusi nel pannello **cobas® eplex RP**.

Tabella 27. Reattività crociata con organismi non rilevati dal pannello **cobas® eplex RP** (esclusività)

Bersaglio	Ceppo	Concentrazione	Risultati della reattività crociata
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC® 19606	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Bordetella parapertussis</i>	ATCC 15311	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Burkholderia cepacia</i>	ATCC 25416	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Candida glabrata</i>	ATCC 15126	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	AR-39	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	ATCC 13812	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
Citomegalovirus	AD 169	1 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	Non osservata
Virus di Epstein-Barr	Ceppo B95-8	1 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	Non osservata
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 10279	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC 43065	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
Virus dell'herpes simplex	Isolato 2	1 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	Non osservata
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 51504	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	ATCC 314	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Lactobacillus plantarum</i>	ATCC 8014	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
Morbillo	N/A	1 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	Non osservata
<i>Moraxella catarrhalis</i>	ATCC 23246	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
Parotite	Isolato 2	1 × 10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	Non osservata
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	ATCC 25177	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Neisseria meningitidis</i>	ATCC 13077	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Neisseria sica</i>	ATCC 29193	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	ATCC 33277	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 33420	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15442	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 13880	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	NRS384	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	ATCC 25923	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (MRSE)	ATCC 35983	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (MSSE)	ATCC 49134	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	ATCC 29970	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata

Bersaglio	Ceppo	Concentrazione	Risultati della reattività crociata
<i>Streptococcus agalactiae</i>	ATCC 12401	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	ATCC 35666	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Streptococcus mitis</i>	ATCC 15914	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC 49619	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 12384	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
<i>Streptococcus salivarius</i>	ATCC 13419	1 × 10 ⁶ CFU/ml	Non osservata
Virus varicella-zoster	82	8,9 × 10 ³ TCID ₅₀ /ml	Non osservata

Riproducibilità

Uno studio multicentrico sulla riproducibilità del pannello **cobas® eplex** RP ha permesso di valutare la concordanza dei risultati attesi rispetto alle principali fonti di variabilità, ad esempio da centro a centro, da lotto a lotto, da giorno a giorno e da operatore a operatore. I test sono stati eseguiti presso 3 centri (2 esterni, 1 interno), utilizzando in ogni centro un sistema **cobas® eplex** con 3 o 4 torri. I test sono stati eseguiti da 2 operatori in ogni centro nell'arco di 6 giorni (5 giorni non consecutivi), utilizzando 3 lotti univoci di cartucce del pannello RP. Un pannello di riproducibilità costituito da 3 componenti del pannello e 7 organismi (rappresentativo di 8 bersagli del pannello RP) è stato testato in triplicato a 3 livelli di concentrazione (positivo moderato - 3 × LoD, positivo basso - 1 × LoD e negativo). Sono stati testati 7 organismi virali/batterici, tra cui adenovirus, coronavirus OC43, metapneumovirus umano, Influenza A H3, virus parainfluenzale 1, RSV A e *Bordetella pertussis*, diluiti in una matrice clinica naturale (pool di campioni negativi prelevati con tampone nasofaringeo). I campioni negativi erano costituiti soltanto dalla matrice clinica naturale. Ogni campione simulato è stato suddiviso in aliquote e congelato per essere conservato (-70°C) prima del test. Ogni operatore ha testato 9 campioni (3 componenti del pannello di riproducibilità, in triplicato) ogni giorno; ogni componente del pannello è stato testato 108 volte (3 repliche × 3 centri × 2 operatori × 3 lotti × 2 giorni di test/operatori/lotti) per un minimo di 324 test.

La percentuale di concordanza (IC al 95%) con i risultati attesi è stata del 100% per tutti gli 8 bersagli nel pannello positivo moderato e negativo; del 100% per 6 bersagli su 8 nel pannello positivo basso (coronavirus OC43, metapneumovirus umano, Influenza A, Influenza A H3, virus parainfluenzale 1 e RSV A). La percentuale di concordanza è stata del 91,6% per l'adenovirus e del 99,1% per *B. pertussis*. I risultati di riepilogo per gli 8 bersagli del pannello **cobas® eplex** RP, corrispondenti ai 7 organismi inclusi nel pannello di riproducibilità, sono riportati nella **Tabella 28 - Tabella 35** in basso.

Tabella 28. Percentuale di concordanza per adenovirus

Concentrazione adenovirus	Centro	Concordanza con i risultati attesi		
		Concordanza / N	%	IC 95%
Positivi moderati 3 × LoD 6 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	36/36	100	(90,4-100)
	Tutti	108/108	100	(96,6-100)
Positivi bassi 1 × LoD 2 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	34/36	94,4	(81,9-98,5)
	3	28/35	80,0	(64,1-90,0)
	Tutti	98/107	91,6	(84,8-95,5)

Concentrazione adenovirus	Centro	Concordanza con i risultati attesi		
		Concordanza / N	%	IC 95%
Negativi	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	36/36	100	(90,4-100)
	Tutti	108/108	100	(96,6-100)

IC = intervallo di confidenza

Tabella 29. Percentuale di concordanza per il coronavirus OC43 (CoV OC43)

Concentrazione CoV OC43	Centro	Concordanza con i risultati attesi		
		Concordanza / N	%	IC 95%
Positivi moderati 3 × LoD 1,5 × 10 ³ TCID ₅₀ /ml	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	36/36	100	(90,4-100)
	Tutti	108/108	100	(96,6-100)
Positivi bassi 1 × LoD 5 × 10 ² TCID ₅₀ /ml	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	35/35	100	(90,1-100)
	Tutti	107/107	100	(96,5-100)
Negativi	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	36/36	100	(90,4-100)
	Tutti	108/108	100	(96,6-100)

Tabella 30. Percentuale di concordanza per il metapneumovirus umano (hMPV)

Concentrazione hMPV	Centro	Concordanza con i risultati attesi		
		Concordanza / N	%	IC 95%
Positivi moderati 3 × LoD 6,75 × 10 ² TCID ₅₀ /ml	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	36/36	100	(90,4-100)
	Tutti	108/108	100	(96,6-100)
Positivi bassi 1 × LoD 2,25 × 10 ² TCID ₅₀ /ml	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	35/35	100	(90,1-100)
	Tutti	107/107	100	(96,5-100)
Negativi	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	36/36	100	(90,4-100)
	Tutti	108/108	100	(96,6-100)

Tabella 31. Percentuale di concordanza per l'Influenza A

Concentrazione Influenza A	Centro	Concordanza con i risultati attesi		
		Concordanza / N	%	IC 95%
Positivi moderati 3 × LoD 1,5 × 10 ² TCID ₅₀ /ml	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	36/36	100	(90,4-100)
	Tutti	108/108	100	(96,6-100)
Positivi bassi 1 × LoD 5 × 10 ¹ TCID ₅₀ /ml	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	35/35	100	(90,1-100)
	Tutti	107/107	100	(96,5-100)
Negativi	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	36/36	100	(90,4-100)
	Tutti	108/108	100	(96,6-100)

Tabella 32. Percentuale di concordanza per l'Influenza A H3

Concentrazione Influenza A H3	Centro	Concordanza con i risultati attesi		
		Concordanza / N	%	IC 95%
Positivi moderati 3 × LoD 1,5 × 10 ² TCID ₅₀ /ml	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	36/36	100	(90,4-100)
	Tutti	108/108	100	(96,6-100)
Positivi bassi 1 × LoD 5 × 10 ¹ TCID ₅₀ /ml	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	35/35	100	(90,1-100)
	Tutti	107/107	100	(96,5-100)
Negativi	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	36/36	100	(90,4-100)
	Tutti	108/108	100	(96,6-100)

Tabella 33. Percentuale di concordanza per il virus parainfluenzale (PIV) 1

Concentrazione PIV 1	Centro	Concordanza con i risultati attesi		
		Concordanza / N	%	IC 95%
Positivi moderati 3 × LoD 1,2 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	36/36	100	(90,4-100)
	Tutti	108/108	100	(96,6-100)
Positivi bassi 1 × LoD 4 × 10 ⁻¹ TCID ₅₀ /ml	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	35/35	100	(90,1-100)
	Tutti	107/107	100	(96,5-100)

Concentrazione PIV 1	Centro	Concordanza con i risultati attesi		
		Concordanza / N	%	IC 95%
Negativi	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	36/36	100	(90,4-100)
	Tutti	108/108	100	(96,6-100)

Tabella 34. Percentuale di concordanza per il virus respiratorio sinciziale (RSV) A

Concentrazione RSV A	Centro	Concordanza con i risultati attesi		
		Concordanza / N	%	IC 95%
Positivi moderati 3 × LoD 4,5 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	36/36	100	(90,4-100)
	Tutti	108/108	100	(96,6-100)
Positivi bassi 1 × LoD 1,5 × 10 ⁰ TCID ₅₀ /ml	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	35/35	100	(90,1-100)
	Tutti	107/107	100	(96,5-100)
Negativi	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	36/36	100	(90,4-100)
	Tutti	108/108	100	(96,6-100)

Tabella 35. Percentuale di concordanza per *Bordetella pertussis*

Concentrazione <i>B. pertussis</i>	Centro	Concordanza con i risultati attesi		
		Concordanza / N	%	IC 95%
Positivi moderati 3 × LoD 1,5 × 10 ⁵ CFU/ml	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	36/36	100	(90,4-100)
	Tutti	108/108	100	(96,6-100)
Positivi bassi 1 × LoD 5 × 10 ⁴ CFU/ml	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	35/36	97,2	(85,8-99,5)
	3	35/35	100	(90,1-100)
	Tutti	106/107	99,1	(94,9-99,8)
Negativi	1	36/36	100	(90,4-100)
	2	36/36	100	(90,4-100)
	3	36/36	100	(90,4-100)
	Tutti	108/108	100	(96,6-100)

Co-rilevazione di organismi nei campioni

La rilevazione di più di un organismo virale o batterico clinicamente significativo in uno stesso campione è stata valutata con il pannello **cobas® eplex RP** utilizzando una matrice clinica naturale (pool di campioni negativi prelevati con tampone nasofaringeo) addizionata con gli organismi inclusi nel pannello RP: un primo organismo a una concentrazione bassa ($1-3 \times \text{LoD}$) e un secondo organismo a una concentrazione alta ($1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$ per i virus; $1 \times 10^6 \text{ CFU}/\text{ml}$ per i batteri). Nella **Tabella 36** sono riportati i risultati dei test di co-rilevazione, che dimostrano la capacità del pannello **cobas® eplex RP** di rilevare 2 organismi in un campione, a concentrazioni sia basse che alte, come indicato nella tabella.

Tabella 36. Rilevazione di co-infezioni

Organismo 1	Titolo alto	Organismo 2	Titolo basso	Multiplo di LoD
Influenza A H3	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	Adenovirus B	$2 \times 10^0 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	1x
Adenovirus	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	Influenza A H3	$5 \times 10^1 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	1x
Influenza A H3	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	RSV A	$1,5 \times 10^0 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	1x
RSV A	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	Influenza A H3	$5 \times 10^1 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	1x
Influenza A H1-2009	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	RSV B	$6 \times 10^{-1} \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	3x
RSV B	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	Influenza A H1-2009	$1 \times 10^{-1} \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	1x
Influenza A H1-2009	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	Rinovirus	$1,5 \times 10^0 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	1x
Rinovirus	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	Influenza A H1-2009	$3 \times 10^{-1} \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	3x
Influenza A H1-2009	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	Virus parainfluenzale 3	$5 \times 10^0 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	1x
Virus parainfluenzale 3	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	Influenza A H1-2009	$1 \times 10^{-1} \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	1x
Influenza A H1-2009	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	<i>Bordetella pertussis</i>	$1,5 \times 10^5 \text{ CFU}/\text{ml}$	3x
<i>B. pertussis</i>	$1 \times 10^6 \text{ CFU}/\text{ml}$	Influenza A H1-2009	$1 \times 10^{-1} \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	1x
Rinovirus	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	RSV A	$1,5 \times 10^0 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	1x
RSV A	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	Rinovirus	$1,5 \times 10^0 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	1x
Coronavirus NL63	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	RSV A	$1,5 \times 10^0 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	1x
RSV A	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	Coronavirus NL63	$7,5 \times 10^0 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	1x
Metapneumovirus umano	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	Adenovirus	$2 \times 10^0 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	1x
Adenovirus	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	Metapneumovirus umano	$2,25 \times 10^2 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	1x
Adenovirus	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	RSV A	$1,5 \times 10^0 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	1x
RSV A	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	Adenovirus	$2 \times 10^0 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	1x
<i>B. pertussis</i>	$1 \times 10^6 \text{ CFU}/\text{ml}$	RSV A	$1,5 \times 10^0 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	1x
RSV A	$1 \times 10^5 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$	<i>B. pertussis</i>	$5 \times 10^4 \text{ CFU}/\text{ml}$	1x

Equivalenza della matrice campione

Tutti gli studi analitici che hanno utilizzato colture virali e batteriche prossime al LoD sono stati eseguiti partendo da una matrice campione costituita da un pool di NPS negativi addizionati con colture virali e batteriche. Nel caso degli studi analitici riguardanti le colture virali e batteriche a una concentrazione minima di $10 \times \text{LoD}$, o superiore, per ragioni di praticità al posto del pool di NPS negativi è stato utilizzato un terreno di trasporto MicroTest™ M5® di Remel addizionato con colture virali e batteriche. È stato svolto uno studio dell'equivalenza della matrice campione per dimostrare l'equivalenza tra la matrice clinica naturale (pool di campioni negativi prelevati con tampone nasofaringeo) e i campioni nasofaringei prelevati in ambiente clinico in terreno di trasporto virale, per quanto riguarda i bersagli addizionati a una concentrazione di circa $10 \times \text{LoD}$. I ceppi virali e batterici rappresentativi, quantificati, sono stati diluiti in una matrice clinica naturale (pool di campioni negativi prelevati con tampone nasofaringeo) e nel terreno di trasporto virale. Ai fini della rilevazione dei bersagli non sono state osservate differenze tra la matrice clinica naturale e il terreno di trasporto virale.

Sostanze interferenti

Sono state valutate individualmente le sostanze comunemente presenti nei campioni respiratori, che possono essere introdotte durante il prelievo del campione o attraverso l'assunzione di decongestionanti nasali o medicinali contro le allergie o l'asma e che potrebbero interferire con il pannello **cobas® eplex RP**. Per simulare i campioni clinici, i ceppi virali e batterici rappresentativi, quantificati, sono stati diluiti fino a una concentrazione $1 \times \text{LoD}$ in una matrice clinica naturale (pool di campioni negativi prelevati con tampone nasofaringeo) e nel terreno di trasporto virale. Come controllo è stata utilizzata una matrice clinica naturale (pool di campioni negativi prelevati con tampone nasofaringeo) non contenente organismi. Tutte le sostanze e gli organismi testati ai fini dell'interferenza sono risultati compatibili con il pannello **cobas® eplex RP**. Nessuna potenziale sostanza interferente ha inibito il pannello **cobas® eplex RP** alle concentrazioni indicate nella **Tabella 37**.

Tabella 37. Elenco delle sostanze testate

Potenziale sostanza interferente	Principio attivo	Concentrazione analizzata
Matrice del campione di controllo ^a	Becton Dickinson UVT	N/A
Terreno di trasporto ^a	Copan eSwab (liquido di trasporto Amies)	N/A
Terreno di trasporto virale ^a	MicroTest M4	N/A
	MicroTest M4-RT	N/A
	MicroTest M5	N/A
	MicroTest M6	N/A
Tamponi floccati	Copan Minitip in UVT	N/A
	Copan Regular Tip in UVT	N/A
Sangue (umano)	Sangue	2% v/v
	gDNA umano	50 ng/rxn
Pastiglie per la gola, anestetici e analgesici orali	Benzocaina, mentolo	26% p/v
Mucina	Proteina mucina purificata	1% p/v
Spray o gocce nasali	Fenilefrina HCl (Neo-Syneprine [®]) ^b	1,0% v/v
	Ossimetazolina cloridrato (Afrin [®])	1% v/v
	Cloruro di sodio	0,8% p/v
Antibatterico, sistemico	Tobramicina ^c	1% p/v
Antibiotico, unguento nasale	Mupirocina	2% p/v
Corticosteroidi nasali	Beclometasone	1,5% p/v
	Dexametasone	1,5% p/v
	Flunisolide	1,5% p/v
	Budesonide (Rhinocort [®])	0,9% v/v
	Triamcinolone (Nasacort [®])	1,5% p/v
	Fluticasone (Flonase [®])	1,5% p/v
ZICAM [®] gel nasale omeopatico per allergie	<i>Luffa operculata</i>	1% v/v
	Zolfo	
	<i>Galphimia glauca</i>	
	<i>Histaminum hydrochloricum</i>	
Farmaci antivirali	Zanamivir	550 ng/ml
	Oseltamivir	142 ng/ml
Virus	Citomegalovirus	1×10^5 TCID ₅₀ /ml

Potenziale sostanza interferente	Principio attivo	Concentrazione analizzata
Batteri	<i>Bordetella parapertussis</i>	1 × 10 ⁶ CFU/ml
	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	
	<i>Haemophilus influenzae</i>	
	<i>Neisseria meningitidis</i>	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	

^a I test sul terreno è stato eseguito aggiungendo un campione NPS negativo nel terreno specificato e diluendolo nella matrice clinica naturale.

^b A concentrazioni superiori all'1,0% volume/volume nel campione, la fenilefrina cloridrato può inibire la performance del test.

^c A concentrazioni superiori all'1% peso/volume del campione, la tobramicina può inibire la performance del test.

Test supplementari di altre potenziali sostanze interferenti

Sono stati eseguiti ulteriori test di performance su potenziali sostanze interferenti comunemente utilizzate per il prelievo e il trasporto dei campioni. Per simulare i campioni clinici, i ceppi virali e batterici rappresentativi, quantificati, sono stati diluiti fino a una concentrazione prossima al LoD in una matrice clinica naturale (pool di campioni negativi prelevati con tampone nasofaringeo) e, per ogni sostanza, sono state testate 20 repliche. Come controllo sono stati utilizzati gli organismi in una matrice clinica naturale, preparata nel terreno di trasporto virale. Tutti i terreni di raccolta/trasporto testati ai fini dell'interferenza, elencati nella **Tabella 38**, sono risultati compatibili con il pannello **cobas® eplex RP**.

Tabella 38. Terreni di raccolta/trasporto testati ai fini dell'interferenza

Potenziale sostanza interferente	Risultato
1 × PBS	Nessuna interferenza osservata
Soluzione salina 0,9%	Nessuna interferenza osservata
PrimeStore® Molecular Transport Media	Nessuna interferenza osservata

Carryover e contaminazione crociata

È stato analizzato il tasso di carryover/contaminazione crociata del pannello **cobas® eplex RP** e del sistema **cobas® eplex** utilizzando una configurazione a scacchiera, con campioni positivi alti e campioni negativi alternati in tutti i vani del sistema **cobas® eplex** a 4 torri, eseguendo 5 sedute distinte su 5 giorni distinti. Il virus parainfluenzale 3 quantificato è stato preparato nel terreno di trasporto virale a una concentrazione alta (1 × 10⁵ TCID₅₀/ml, 20.000 × LoD) per simulare un campione positivo alto clinicamente significativo, dopodiché è stato testato come organismo bersaglio rappresentativo. Il terreno di trasporto è stato utilizzato per rappresentare i campioni negativi. A ogni ciclo di test sono state valutate 24 cartucce del pannello **cobas® eplex RP**. Il 100% dei campioni positivi per il virus parainfluenzale 3 ha generato un risultato "Detected" e il 100% dei campioni negativi per il virus parainfluenzale 3 ha generato un risultato "No Target Detected" con il pannello **cobas® eplex RP**. Ciò significa che non sono stati osservati carryover e contaminazione crociata nei vani o tra i vani del sistema quando sono stati testati vani consecutivi o adiacenti.

RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

Tabella 39. Tabella di risoluzione dei problemi

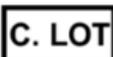
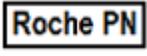
Per un elenco completo di tutti i messaggi di errore del sistema **cobas® eplex**, consultare il Manuale dell'Assistenza Utente **cobas® eplex**.

Errore	Messaggi di errore	Descrizione	Consigli per la ripetizione del test
Il test non si è avviato	Cartridge failure The cartridge initialization test failed Cartridge not present Bay heater failure Unknown error Bay main / fluid motor failure Bay over pressured Bay temperature out of range The system was unable to read the cartridge Cartridge inserted doesn't match the serial number of the cartridge scanned The system is not ready to accept the cartridge The system failed to prepare the cartridge for processing	<p>Errore che si verifica nella fase dei pre-controlli (inizializzazione della cartuccia), al momento dell'inserimento della cartuccia nel vano. L'inizializzazione della cartuccia viene eseguita quando la cartuccia viene inserita per la prima volta nel vano e richiede circa 90 secondi.</p> <p>Al completamento dell'inizializzazione della cartuccia, quest'ultima non può essere testata nuovamente, ma fino a quel momento si.</p> <p>Per verificare se l'inizializzazione della cartuccia è stata completata, esaminare l'etichetta della cartuccia al momento dell'estrazione. Se l'etichetta della cartuccia RP è stata forata, l'inizializzazione è stata avviata e la cartuccia non può essere testata nuovamente. Se l'etichetta non è stata forata, seguire le indicazioni fornite.</p>	<ol style="list-style-type: none"> Estrarre la cartuccia dal vano. <ol style="list-style-type: none"> Ripristinare il vano per cancellare l'errore. Reinserire la cartuccia in qualsiasi vano disponibile. Se il sistema non riesce a eseguire la cartuccia al secondo tentativo e genera nuovamente un errore durante la pre-inizializzazione, significa che la cartuccia è difettosa. Questa cartuccia deve essere smaltita secondo le procedure del laboratorio e il test sul campione deve essere ripetuto con una nuova cartuccia. Ripristinare il vano (o i vani) per cancellare gli errori. Contattare l'assistenza tecnica per segnalare il problema. <p>Se il vano rimane nello stato di errore (rosso lampeggiante) dopo che la cartuccia è stata estratta, è necessario eseguire il ripristino tramite il menu Bay Configuration prima di poter usare il vano per eseguire le cartucce.</p>
Il test non è terminato	Bay heater failure Bay main / fluid motor failure Bay voltage failure Bay sub-system communication timeout Cartridge failure Bay over pressured Bay auto-calibration failure Bay temperature out of range The system was unable to eject the cartridge from the bay	<p>Questo tipo di errore si verifica durante la seduta, dopo che sono stati completati i controlli pre-seduta (inizializzazione della cartuccia), e impedisce che la cartuccia vengano elaborata fino al completamento.</p>	<p>I reagenti sono stati consumati e la cartuccia non può essere riutilizzata. Contattare l'assistenza tecnica e ripetere i test sul campione utilizzando una nuova cartuccia.</p> <p>Se il vano rimane nello stato di errore (rosso lampeggiante) dopo che la cartuccia è stata estratta, è necessario eseguire il ripristino tramite il menu Bay Configuration prima di poter usare il vano per eseguire le cartucce.</p>
Non valido		<p>Questo errore impedisce che vengano generati risultati validi. Verrà generato un report dei test, ma tutti i bersagli e il controllo interno saranno considerati non validi.</p>	<p>I reagenti sono stati consumati e la cartuccia non può essere riutilizzata. Contattare l'assistenza tecnica e ripetere il test sul campione utilizzando una nuova cartuccia.</p>

Assistenza tecnica

Per richiedere assistenza tecnica, contattare la nostra filiale locale:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm.

GLOSSARIO DEI SIMBOLI

Simbolo	Descrizione	Simbolo	Descrizione
	Codice del batch		Utilizzare entro la data AAAA-MM-GG
	Attenzione		Numero di serie
	Contenuto sufficiente per <n> test		Numero di catalogo
	Marcatura CE, indica la conformità nell'Unione Europea		Rischio biologico
	Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>		Limite superiore di temperatura
	Consultare le istruzioni per l'uso		Limite inferiore di temperatura
	Mandatario nella Comunità Europea		Limiti di temperatura
	Produttore		Irritante, sensibilizzante dermico, tossicità acuta (nociva), effetti narcotici, irritazione delle vie respiratorie
	Lotto della cartuccia		Ossidanti
	Marcatura UKCA, indica la conformità nel Regno Unito		Non riutilizzare
	Identificativo unico del dispositivo		Global Trade Item Number
	Importatore		Numero di parte Roche

BIBLIOGRAFIA

1. John Hopkins Medicine. Upper respiratory infection (URI or common cold). Accessed: 27 Aug 2024. <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/upper-respiratory-infection-uri-or-common-cold>.
2. European Centre for Disease Prevention and Control. Seasonal influenza. Accessed: 27 Aug 2024. <https://www.ecdc.europa.eu/en/seasonal-influenza>.
3. World Health Organization. Influenza (seasonal). Published: 3 Oct 2023; Accessed: 27 Aug 2024. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal)).
4. World Health Organization. Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it. Accessed: 6 Sept 2024. [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it).
5. John Hopkins University. COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU). Last updated: 10 Mar 2023; Accessed: 6 Sept 2024. <https://gisanddata.maps.arcgis.com/apps/dashboards/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6>.
6. Worldometer. COVID-19 Coronavirus Pandemic [coronavirus tracker]. Last updated: 13 Apr 2024; Accessed: 6 Sept 2024. <https://www.worldometers.info/coronavirus/>.
7. Mossad SB. Upper respiratory tract infections. Published: Aug 2013; Accessed: 27 Aug 2024. <https://teachmemedicine.org/cleveland-clinic-upper-respiratory-tract-infections/>.
8. University of Rochester Medical Center. Adenovirus infections in children. Accessed: 27 Aug 2024. <https://www.urmc.rochester.edu/encyclopedia/content.aspx?contenttypeid=90&contentid=p02508>.
9. Centers for Disease Control and Prevention. About adenovirus. Updated: 14 May 2024; Accessed: 27 Aug 2024. <https://www.cdc.gov/adenovirus/about/index.html>.
10. Gaunt ER, Hardie A, Claas EC, Simmonds P, Templeton KE. Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method. *J Clin Microbiol*. 2010;48:2940-7. PMID: 20554810.
11. Sharif-Yakan A, Kanj SS. Emergence of MERS-CoV in the Middle East: Origins, transmission, treatment, and perspectives. *PLoS Pathog*. 2014;10:e1004457. PMID: 25474536.
12. Centers for Disease Control and Prevention. About COVID-19. Reviewed: 13 Jun 2024; Accessed: 6 Sept 2024. <https://www.cdc.gov/covid/about/index.html>.
13. Meriluoto M, Hedman L, Tanner L, et al. Association of human bocavirus 1 infection with respiratory disease in childhood follow-up study, Finland. *Emerg Infect Dis*. 2012;18:264-71. PMID: 22305021.
14. Centers for Disease Control and Prevention. About human metapneumovirus. Updated: 11 Apr 2024; Accessed: 27 Aug 2024. <https://www.cdc.gov/human-metapneumovirus/about/index.html>.
15. Fabre V, Auwaerter PG. Human metapneumovirus. Last updated: 8 Mar 2020; Accessed: 27 Aug 2024. https://www.hopkinsguides.com/hopkins/view/Johns_Hopkins_ABX_Guide/540614/all/Metapneumovirus.
16. Anzueto A, Niederman MS. Diagnosis and treatment of rhinovirus respiratory infections. *Chest*. 2003;123:1664-72. PMID: 12740288.
17. Auwaerter P. Rhinovirus. Last updated: 18 Mar 2023; Accessed: 27 Aug 2024. https://www.hopkinsguides.com/hopkins/view/Johns_Hopkins_ABX_Guide/540476/all/Rhinovirus?q=rhinovirus&ti=0#0.
18. Fabre V, Auwaerter P. Enterovirus. Last updated: 5 Sept 2020; Accessed: 27 Aug 2024. https://www.hopkinsguides.com/hopkins/view/Johns_Hopkins_ABX_Guide/540204/all/Enterovirus?q=enterovirus&ti=0#0.
19. Henrickson KJ. Parainfluenza viruses. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16:242-64. PMID: 12692097.
20. Schomacker H, Schaap-Nutt A, Collins PL, Schmidt AC. Pathogenesis of acute respiratory illness caused by human parainfluenza viruses. *Curr Opin Virol*. 2012;2:294-9. PMID: 22709516.
21. Mahony JB. Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev*. 2008;21:716-47. PMID: 18854489.
22. Resch B, Kurath S, Manzoni P. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in preterm infants. *Open Microbiol J*. 2011;5:135-43. PMID: 22262986.
23. Havers FP, Moro PL, Hariri S, Skoff T. Chapter 16: Pertussis [14th edition of Pink Book published Aug 2021]. Reviewed: 12 Apr 2024; Accessed: 27 Aug 2024. <https://www.cdc.gov/pinkbook/hcp/table-of-contents/chapter-16-pertussis.html>.
24. World Health Organization. Legionellosis. Published: 6 Sept 2022; Accessed: 27 Aug 2024. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/legionellosis>.
25. Centers for Disease Control and Prevention. About Legionnaires' disease. Updated: 29 Jan 2024; Accessed: 27 Aug 2024. <https://www.cdc.gov/legionella/about/index.html>.

26. Auwaerter P. *Mycoplasma pneumoniae*. Last updated: 13 Jun 2024; Accessed: 27 Aug 2024. https://www.hopkinsguides.com/hopkins/view/Johns_Hopkins_ABX_Guide/540373/all/Mycoplasma%20pneumoniae.
27. Spacek LA. Adenovirus. Updated: 5 Feb 2023; Accessed: 28 Aug 2024. https://www.hopkinsguides.com/hopkins/view/Johns_Hopkins_ABX_Guide/540009/all/Adenovirus?q=adenovirus&ti=0#0.
28. Scott MK, Chommanard C, Lu X, et al. Human adenovirus associated with severe respiratory infection, Oregon, USA, 2013-2014. *Emerg Infect Dis*. 2016;22:1044-51. PMID: 27191834.
29. Radin JM, Hawksworth AW, Blair PJ, et al. Dramatic decline of respiratory illness among US military recruits after the renewed use of adenovirus vaccines. *Clin Infect Dis*. 2014;59:962-8. PMID: 24991024.
30. Centers for Disease Control and Prevention. Human coronavirus types. Last updated: 15 Feb 2020; Accessed: 28 Aug 2024. https://archive.cdc.gov/www_cdc_gov/coronavirus/types.html.
31. European Centre for Disease Prevention and Control. Coronaviruses. Accessed: 28 Aug 2024. <https://www.ecdc.europa.eu/en/coronaviruses>.
32. Liu DX, Liang JQ, Fung TS. Human coronavirus-229E, -OC43, -NL63, and -HKU1 (*Coronaviridae*). *Encyclopedia of Virology*. 2021:428-40.
33. Centers for Disease Control and Prevention. Archived SARS-CoV page. Last reviewed: 6 Dec 2017; Accessed: 29 Aug 2024. https://archive.cdc.gov/www_cdc_gov/sars/index.html.
34. European Centre for Disease Prevention and Control. Factsheet about Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). Accessed: 28 Aug 2024. <https://www.ecdc.europa.eu/en/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus/factsheet>.
35. Hustedt JW, Vazquez M. The changing face of pediatric respiratory tract infections: How human metapneumovirus and human bocavirus fit into the overall etiology of respiratory tract infections in young children. *Yale J Biol Med*. 2010;83:193-200. PMID: 21165338.
36. Milder E, Arnold JC. Human metapneumovirus and human bocavirus in children. *Pediatr Res*. 2009;65:78R-83R. PMID: 19190535.
37. Hermos CR, Vargas SO, McAdam AJ. Human metapneumovirus. *Clin Lab Med*. 2010;30:131-48. PMID: 20513544.
38. Tapparel C, Junier T, Gerlach D, et al. New respiratory enterovirus and recombinant rhinoviruses among circulating picornaviruses. *Emerg Infect Dis*. 2009;15:719-26. PMID: 19402957.
39. Jacobs SE, Lamson DM, St George K, Walsh TJ. Human rhinoviruses. *Clin Microbiol Rev*. 2013;26:135-62. PMID: 23297263.
40. European Centre for Disease Prevention and Control. Enterovirus 68 detected in the USA, Canada and Europe – Second update 25 November 2014. Stockholm: ECDC; 2014.
41. Centers for Disease Control and Prevention. Types of influenza viruses. Last reviewed: 30 Mar 2023; Accessed: 28 Aug 2024. <http://www.cdc.gov/flu/about/viruses/types.htm>.
42. European Centre for Disease Prevention and Control. Factsheet about seasonal influenza. Last updated: 12 Apr 2022; Accessed: 28 Aug 2024. <https://www.ecdc.europa.eu/en/seasonal-influenza/facts/factsheet>.
43. Short KR, Richard M, Verhagen JH, et al. One health, multiple challenges: The inter-species transmission of influenza A virus. *One Health*. 2015;1:1-13. PMID: 26309905.
44. Auwaerter PG. Influenza. Last updated: 10 Sept 2023; Accessed: 28 Aug 2024. https://www.hopkinsguides.com/hopkins/view/Johns_Hopkins_ABX_Guide/540285/all/Influenza?q=influenza&ti=0#0.
45. Centers for Disease Control and Prevention. Update: influenza activity - United States, 2009-10 season. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2010;59:901-8. PMID: 20671661.
46. Centers for Disease Control and Prevention. About human parainfluenza viruses (HPIVs). Reviewed: 5 Jun 2024; Accessed: 28 Aug 2024. <https://www.cdc.gov/parainfluenza/about/index.html>.
47. Auwaerter PG. Parainfluenza virus. Last updated: 8 Aug 2022; Accessed: 28 Aug 2024. https://www.hopkinsguides.com/hopkins/view/Johns_Hopkins_ABX_Guide/540415/all/Parainfluenza_virus?q=parainfluenza&ti=0#0.
48. Centers for Disease Control and Prevention. Clinical overview of RSV. Reviewed: 3 Jul 2024; Accessed: 29 Aug 2024. <https://www.cdc.gov/rsv/hcp/clinical-overview/index.html>.
49. Walsh EE, McConnochie KM, Long CE, Hall CB. Severity of respiratory syncytial virus infection is related to virus strain. *J Infect Dis*. 1997;175:814-20. PMID: 9086135.
50. Centers for Disease Control and Prevention. Symptoms of whooping cough. Reviewed: 2 Apr 2024; Accessed: 29 Aug 2024. <https://www.cdc.gov/pertussis/signs-symptoms/index.html>.
51. Auwaerter P. *Bordetella* species. Last updated: 8 May 2023; Accessed: 28 Aug 2024. https://www.hopkinsguides.com/hopkins/view/Johns_Hopkins_ABX_Guide/540061/all/Bordetella_species.
52. European Centre for Disease Prevention and Control. Expert consultation on pertussis. Published: 12 May 2014; Accessed 29 Aug 2024. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/expert-consultation-pertussis>.

53. Centers for Disease Control and Prevention. Pertussis surveillance and trends. Reviewed: 28 Aug 2024; Accessed: 29 Aug 2024. <https://www.cdc.gov/pertussis/php/surveillance/index.html>
54. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance and disease data for pertussis. Accessed 29 Aug 2024. <https://www.ecdc.europa.eu/en/pertussis/surveillance-and-disease-data>.
55. European Centre for Disease Prevention and Control. Facts about Legionnaires' disease. Accessed: 28 Aug 2024. <https://www.ecdc.europa.eu/en/legionnaires-disease/facts>.
56. Centers for Disease Control and Prevention. How *Legionella* spreads. Reviewed: 29 Jan 2024; Accessed: 28 Aug 2024. <https://www.cdc.gov/legionella/causes/index.html>.
57. Centers for Disease Control and Prevention. Legionellosis surveillance and trends. Reviewed: 31 Jan 2024; Accessed: 28 Aug 2024. <https://www.cdc.gov/legionella/php/surveillance/index.html>.
58. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance reports on Legionnaires' disease. Accessed: 29 Aug 2024. <https://www.ecdc.europa.eu/en/legionnaires-disease/surveillance-and-disease-data/surveillance>.
59. Centers for Disease Control and Prevention. *Mycoplasma pneumoniae* infection: Causes and how it spreads. Reviewed: 27 Dec 2023; Accessed: 29 Aug 2024. <https://www.cdc.gov/mycoplasma/causes/index.html>.
60. World Health Organization. Collecting, preserving and shipping specimens for the diagnosis of avian influenza A(H5N1) virus infection: Guide for field operations. Published: Oct 2006; Accessed: 6 Sept 2024. <https://iris.who.int/handle/10665/69392>.

REVISIONE DEL DOCUMENTO

Informazioni sulla revisione del documento	
Doc Rev. 1.0 09/2024	Prima pubblicazione per Branchburg basata su IFU PI121-F. Aggiornamento delle informazioni sul sito web per le schede di sicurezza (SDS) nel paragrafo Sicurezza . Aggiornamento dei riferimenti bibliografici. Rimozione della frase "Tutti i diritti riservati" dalla dichiarazione relativa al copyright. Per ulteriori domande e chiarimenti, è possibile rivolgersi al rappresentante Roche locale.

MARCHI

COBAS e EPLEX sono marchi di Roche.

Kimwipes™ è un marchio di Kimberly-Clark Corporation.

Flonase® è un marchio registrato di GlaxoSmithKline, plc.

Nasacort® è un marchio registrato di Sanofi-Aventis Pharmaceuticals.

Rhinocort® è un marchio registrato di AstraZeneca AB.

Afrin® è un marchio registrato di Bayer.

MicroTest™ M4®, M4RT®, M5® e M6® sono marchi registrati di Thermo Fisher Scientific.

Neo-Syneprine® è un marchio registrato di Foundation Consumer Healthcare, LLC.

Zicam® è un marchio registrato di Matrixx Initiatives, Inc.

ATCC® è un marchio registrato di American Type Culture Collection.

FluMist® è un marchio registrato del gruppo di società AstraZeneca.

INFORMAZIONI SUI BREVETTI

Il pannello per patogeni respiratori **cobas® eplex** respiratory pathogen panel e/o il suo utilizzo si basa su una tecnologia coperta da uno o più brevetti statunitensi elencati di seguito, di proprietà di, o concessi in licenza da, GenMark Diagnostics Inc. o dalle sue consociate, con numerosi altri brevetti internazionali e nazionali in corso di registrazione: numeri di brevetto USA 7,820,391, 8,486,247, 9,222,623, 9,410,663, 9,453,613, 9,498,778, 9,500,663, 9,598,722, 9,957,553, 10,001,476, 10,391,489, 10,495,656, 10,106,847, 10,273,535, 10,352,983, 10,564,211, 10,669,592, 10,670,591, 10,753,986, 10,807,090, 10,864,522, 11,156,605, D881,409 e D900,330, e altri brevetti o altre richieste di brevetto internazionali.

Se non diversamente concordato per iscritto, utilizzando una cartuccia il destinatario conferma di aver letto e accettato i termini e le condizioni generali di vendita riportati sul sito web di Roche. Accetta altresì di essere vincolato e di rimanere conforme a tali termini e condizioni, che potranno essere modificati di volta in volta da parte di Roche senza il consenso del destinatario. Se non accetta i termini e le condizioni generali di vendita e non acconsente a esservi vincolato, il destinatario dovrà cessare immediatamente qualsiasi ulteriore utilizzo della cartuccia.

Questo prodotto è soggetto a una licenza limitata per il suo utilizzo nel campo della diagnostica umana *in vitro* e della ricerca ragionevolmente correlata. Agli utenti è proibito utilizzare questo prodotto per altre applicazioni, anche nel campo della medicina legale (compresi i test di identificazione umana).

Data di entrata in vigore: Settembre 2024

© 2024 Roche Molecular Systems, Inc.

GenMark Diagnostics, Inc. Un membro del Gruppo Roche

5964 La Place Court, Carlsbad, CA 92008

+1 800 428 5076

<https://diagnostics.roche.com>